

Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Задорожная Людмила Ивановна
Должность: Проректор по учебной работе
Дата подписания: 05.09.2022 16:47:20
Уникальный программный ключ:
faa404d1aeb2a023b5f4a331ee5ddc540496512d

Н.С. ХИШТОВА

Лекции по частной медицинской микробиологии

Майкоп
2012

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ АДЫГЕЯ
ГОУ ВПО «МАЙКОПСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕЧЕБНЫЙ ФАКУЛЬТЕТ**

Хиштова Н.С.

**Лекции
по частной медицинской
микробиологии**

Майкоп
2012

УДК 579 (075. 8)

ББК 52. 64

X 53

*Утверждено на совместном заседании учебно- методического совета
медицинского института ГОУ ВПО «Майкопский государственный
технологический университет» и Минздравсоцразвития РА
(протокол № 5 от 14 мая 2012 года)*

Р е ц е н з е н т ы : **Лысенков С.П.**, д.м.н., профессор, директор
Медицинского института Майкопского
государственного технологического университета.
Агиров А.Х., д.м.н., профессор, руководитель
Управления Федеральной службы по надзору в сфере
защиты прав потребителей и благополучия человека
по Республике Адыгея.

Хиштова Н.С.

Лекции по частной микробиологии / Н.С. Хиштова.- Майкоп:
ИП Магарин О.Г., 2012.- 126 с.

Лекции по частной медицинской микробиологии рекомендуется для
подготовки к практическим занятиям студентов медицинских вузов. Сборник
включает в себя наиболее современные сведения по патогенным и условно-
патогенным микроорганизмам, их идентификации, а также заболеваниям,
которые они вызывают. Состоит из 20 лекций, объединенных в 3 главы,
приведены контрольные вопросы для подготовки к итоговым занятиям. Даны
современные методы диагностики многих инфекций.

Сборник предназначен для студентов медицинских вузов,
преподавателей и практикующих специалистов.

УДК 579 (075. 8)
ББК 52. 64

Хиштова Н.С., оформление, 2012

Содержание:

Список сокращений		6
Глава I. Кокковые и анаэробные инфекции, ГВЗ		7
1.	Стафилококки	7
2.	Стрептококки, пневмококки, менингококки	13
2.1.	Род <i>Streptococcus</i>	13
2.2.	Микробиология менингококковой инфекции. <i>Neisseria meningitidis</i>	18
3.	Анаэробные инфекции	20
3.1.	Микробиология газовой гангрены. <i>Clostridium perfringens</i>	22
3.2.	Микробиология столбняка. <i>Clostridium tetani</i>	24
3.3.	Микробиология ботулизма. <i>Clostridium botulinum</i>	26
3.4.	Бактероиды	28
4.	Гнойно-воспалительные заболевания, вызываемые грамотрицательными палочками. Внутрибольничные инфекции	30
4.1.	Микробиология эшерихиозов. <i>Esherichia coli</i>	32
4.2.	Микробиология клебсиеллезов. <i>Klebsiella pneumonia</i>	33
4.3.	Микробиология протейной инфекции. <i>Proteus vulgaris</i>	34
4.5.	Микробиология синегнойной инфекции. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
5.	Заболевания, передающиеся половым путем	38
5.1.	Микробиология гонореи. <i>Neiseria gonorrhoe</i>	38
5.2.	Микробиология сифилиса. <i>Treponema pallidum</i>	42
Контрольные вопросы к итоговому занятию по теме «Кокковые и анаэробные инфекции»		46
Глава 2. Кишечные инфекции.		49
6.	Диареегенные эшерихии. Дисбактериоз	49
7.	Микробиология дизентерии, иерсиниозов	54
7.1.	Микробиология дизентерии. Род <i>Shigella</i>	54
7.2.	Микробиология иерсиниозов. Род <i>Yersinia</i>	58
8.	Род <i>Salmonella</i>. Возбудители брюшного тифа и паратифов	61
9.	Пищевые отравления. Сальмонеллезы	64
10.	Род <i>Vibrio</i>	68
10.1.	Микробиология холеры. <i>Vibrio cholerae</i>	68
10.2.	Вибриозы. Прочие патогенные виды <i>Vibrio</i>	75
11.	Микроаэрофильные грамотрицательные палочки	76
11.1.	Микробиология кампилобактериозов. Род <i>Campylobacter</i>	76
11.2.	Микробиология хеликобактериозов. Род <i>Helicobacter</i>	78
Контрольные вопросы к итоговому занятию по теме «Кишечные инфекции»		79
Глава 3. Факультативно- анаэробные грамположительные палочки, особо опасные инфекции		82
12.1	Микробиология дифтерии. Род <i>Corynebacterium</i>	82

12.2	Микробиология коклюша. Род Bordetella.	87
13.	Микобактерии	88
13.1.	Микробиология туберкулеза. <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	88
13.2.	Микобактериозы	94
13.3	Микробиология лепры. <i>Mycobacterium leprae</i> .	95
14.	ООИ. Микробиология сибирской язвы. <i>Bacillus anthracis</i>	96
15.	Особо опасные инфекции	101
15.1.	Микробиология бруцеллеза. Род <i>Brucella</i>	101
15.2.	Микробиология туляремии. <i>Francisella tularensis</i>	106
16.	Микробиология чумы. <i>Yersinia pestis</i>	109
17.	Микробиология риккетсиозов	113
Контрольные вопросы к итоговому занятию по теме «Факультативно - анаэробные грамположительные палочки, особо опасные инфекции»		118
18.	Патогенные грибы	121
Литература		126

Список сокращений

АГ	- антиген
АТ	- антитело
Б/В	- биовар
ГВЗ	- гнойно- воспалительные заболевания
ГЗТ	- гиперчувствительность замедленного типа
ГНТ	- гиперчувствительность немедленного типа
ГЭБ	- гематоэнцефалический барьер
ИФА	- иммуноферментный анализ
КОА	- ко- агглютинация
ЛПС	- липополисахарид
Л/У	- лимфотический узел
М/О	- микроорганизм
МПА	- мясопептонный агар
МПБ	- мясопептонный бульон
МПК	- минимальная подавляющая концентрация
МФА	- метод флуоресцирующих антител
ОКИ	- острая кишечная инфекция
ООИ	- особо-опасные инфекции
ОФР	- опсоно – фагоцитарная реакция
ПЦР	- полимеразная цепная реакция
РА	- реакция агглютинации
РАГА	- реакция агрегатгемагглютинации
РИФ	- реакция иммунофлуоресцирующих антител
РЛА	- реакция латекс- агглютинации
РН	- реакция нейтрализации
РН _{аг}	- реакция нейтрализации антигена
РН _{ат}	- реакция нейтрализации антитела
РНГА (РПГА)	- реакция непрямой (пассивной) гемагглютинации
РНИФ	- реакция непрямой иммунофлуоресценции
РНК	- рибонуклеиновая кислота
РСК	- реакция связывания компонента
СМЖ	- спинномозговая жидкость
цАМФ	- циклический аденозинмонофосфат
ЦИК	- циркулирующие иммунные комплексы

Глава № 1. Кокковые, анаэробные инфекции, ГВЗ.

Лекция № 1. Стафилококки.

Семейство - Micrococcaceae

род - Staphylococcus

- Micrococcus

- Stomatococcus

Морфология: Гр (+) кокки; споры, жгутики отсутствуют, в организме образуют капсулу (особенно *St. aureus*).

В мазках:

- из исследуемого материала – в виде единичных клеток,

- из чистой культуры - гроздь винограда (т.к. делятся во взаимно перпендикулярных плоскостях).

Факультативные анаэробы (есть строгие- *S. anaerobius*), хемоорганотрофы, каталаза - положительны, оксидаза - отрицательны, чувствительны к действию лизостафина (но не лизоцима).

Культивирование:

Хорошо растут на простых питательных средах.

на МПБ - равномерное помутнение, со временем образуется осадок.

на МПА - круглые, выпуклые, непрозрачные, колонии с ровными краями. Пигмент - золотистый, желтый, белый, оранжевый (водонерастворимый липохромный, образуется только в присутствии кислорода и на средах, содержащих кровь, углеводы, молоко).

Элективные среды – желточно - солевой агар, молочно- солевой агар с 5-10 % NaCl. Колонии вырастают через 2 суток, Т оптимум- 35-37°C, Т диапазон- 10-45°C.

Классификация.

Стафилококки включают в себя 31 вид бактерий, подразделяются на 2 группы: КПС и КОС. Наибольшее медицинское значение имеют золотистый (*S. aureus*- КПС), эпидермальный (*S.epidermidis*-КОС) и сапрофитический (*S.saprophiticus*-КОС) стафилококки. В последнее время возрастает роль КОС в мед. патологии (*S. caritis*, *S. hominis*, *S. haemoliticus*, *S.xylosus*, *S.warneri* и др.). У *S.saprophiticus* отмечен тропизм к слизистым МВП и сосудов. Внутрибольничные инфекции обусловлены метициллинрезистентными *S. aureus* (MRSA), имеющими высокую вирулентность и устойчивость ко многим АБ. Полусинтетический антибиотик метициллин устойчив к действию β-лактамазы.

Обнаружено у стафилококков более 50 АГ, многие обладают аллергенными свойствами. АГ подразделяют на: родовые, перекрестно-реагирующие (общие с изоантигенами эритроцитов, кожи и почек человека), видовые, типоспецифические (по РА разделяют более 30 серовариантов). АГ являются: капсульный ПС, ПГ, белок А, протективный АГ КС, тейхоевые кислоты.

Факторы патогенности.

1. Факторы адгезии: гидрофобность, капсульные ПС (адгезия к эндопротеазам), тейхоевые кислоты (адгезия на эпителиальных клетках, в т. ч. к слизистым оболочкам носовых ходов), белок А (связывается с

фибронектином базальных мембран клеток, соединительной ткани и с циркулирующим в крови; фибриногеном - внутрисосудистые повреждения, эндокардит; коллагеном).

Белок А располагается поверхностно, тесно связан с ПГ, термолабилен, не разрушается трипсином, способен связываться с Fc- фрагментом Ig G, M, A, что нарушает функцию системы комплемента и фагоцитов. Обладает АГ, аллергенными свойствами, индуцирует размножение Т- и В-лимфоцитов.

КОС (*S. epidermidis*)- гомогликан- адгезия к синтетическим полимерам, образование на их поверхности биопленок с антифагоцитарными свойствами, *S. saprophyticus*- поверхностные полипептиды – адгезия к эпителию мочевого тракта.

2. Факторы инвазии - ферменты «агрессии»: гиалуронидаза, нейроминидаза, фибринолизин, ДНК-аза, лецитиназа, протеиназа, фосфотаза, лизоцимоподобный фермент.

Лецитиназа растворяет лецитин клеточной оболочки, что способствует распространению стафилококка; наличие фермента изучают на ЖСА по мутным зонам продуктов расщепления лецитина куриного желтка вокруг колоний.

Фибринолизин – расщепляет слой фибрина вокруг микробного очага, что способствует распространению м/о в организме.

Гиалуронидаза расщепляет гиалуроновую кислоту, что способствуют прохождению микроорганизма через соединительно- тканые барьеры

Липазы – облегчают адгезию и проникновение в ткани.

Нейроминидаза разрушает нейраминную кислоту - способствует проникновению внутрь эпителиальных клеток и длительному сохранению на слизистой оболочке передних отделов ВДП. Отмечено длительное внутриклеточное нахождение в непрофессиональных фагоцитах (эпителий протока молочных желёз. почечной ткани).

Для *S. aureus* характерными ферментами являются плазмакоагулаза и ДНК-аза, остальные ферменты непостоянны.

3. Факторы защиты:

а) *микрокапсула* (защита от фагоцитоза).

б) *фермент «защиты»- плазмакоагулаза*. Существует в 2 видах:

-свободно отделяется от клетки и циркулирует в крови

-адсорбируется на поверхности микробной клетки и переводит фибриноген в фибрин, образуя белковую капсулу - защита от фагоцитоза.

↑ концентрации коагулазы снижает свертываемость крови, нарушает гемодинамику, что ведет к гипоксии.

РПК положительна только у *St. aureus* (видовой признак).

в) *β- лактомазы* (пеницилиназы), разрушают β- лактамазное кольцо пенициллинов и цефалоспоринов, АБ теряет свою активность. Синтез контролируется R- плазмидой.

г) АЛА. *S. aureus* устойчив к действию лизоцима. У *S. aureus* имеется мощный слой ПГ, но разрушения не происходит, т.к. действует фермент, разрушающий лизоцим.

д) *каталаза*- защита от кислородзависимых механизмов фагоцитоза.

4. Факторы, подавляющие иммунитет

а) белок А - связывается с Ig G и комплементом, блокирует их, уменьшает силу гуморального иммунитета.

б) ПГ - мощный и поверхностно расположенный слой. Функции:

- сильный АГ

- вызывает пирогенную реакцию (меньше, чем эндотоксин в 100 раз)

- антифагоцитарное действие.

в) тейхоевые кислоты Функции:

- АГ

- инактивирует комплемент

- обнаруживается в крови больных с тяжелыми септическими формами стафилококковой инфекции.

г) капсульные ПС. Функции:

- индуцируют синтез цитокинов, что ведет к образованию очагов воспаления и абсцессов

- подавляют активность фагоцитоза.

5. Факторы, повреждающие организм: токсины и ферменты.

Экзотоксины - белки, свободно выделяется из м/о во внешнюю среду. Характерна органоспецифичность.

а) мембраноповреждающие (гемолизины) – $\alpha, \gamma, \beta, \delta$. Разрушают эритроциты, лейкоциты, макрофаги, тромбоциты, мастоциты. Обладают свойствами:

- гемолитическим (гемолиз эритроцитов)- α - токсин вызывает изменение ионного состава, осмотическое набухание, лизис клетки и выход гемоглобина.

Мембрана клетки - мишени не повреждается.

- некротическим (в/к - некроз)

- летальным (в/в- letalis)- α - токсин действует на миокард и эндотелий коронарных сосудов, что ведет к отеку легких.

- нейротоксическим

- кардиотоксическим

- лейкоцидин (разрушение лейкоцитов).

Из гемотоксина готовят анатоксин, его используют для лечения и профилактики.

б) эксфолиативные токсины А (синтез контролируется хромосомами) и В (плазмидами). Продуцируют S. aureus. Вызывает пузырьковое воспаление кожи новорожденных, буллезное импетиго (отслаивание- эксфолиация – эпителия кожи). Механизм- нарушение межклеточных контактов в эпителии

в) истинный лейкоцидин - избирательно действует на лейкоциты, отличается от гемолизина по АГ свойствам.

г) экзотоксин, вызывающий синдром токсического шока (СТШ) - $\uparrow T$, \downarrow АД, сыпания, лимфоцитопения, диарея, поражение печени, почек. Штаммы S. aureus, вызывающие СТШ, имеют слабую гемолитическую и высокую протеолитическую активность, вырабатывают особый экзотоксин. Различают менструальный (использования адсорбирующих тампонов) и не менструальный (раневая, ЛОР - инфекция). Носители S. aureus – 50-60% женщин. Заселение м/о происходит в 10-12 лет, когда защитные силы

организма не сформированы.

- способность стафилококка синтезировать этот тип токсина;

- СТШ проявляется у людей с ↓ иммунитетом и с ↓ содержанием Ig As (в 10-20 раз ниже нормы).

- механизм: «цитокиновый взрыв» - гиперпродукция ИЛ-1, ИЛ- 2, ФНО (фактор некроза опухоли)- сильный аллерген.

д) *энтеротоксины А, В, С1, С2, С3, D, E (7 типов)*. Вызывают пищевые интоксикации, чаще всего типы А и D. Не все штаммы *S. aureus* и *S. intermedius* вырабатывают этот токсин, синтез его кодируется плазмидой Ent. Ведет к накоплению внутриклеточной цАМФ. Клиника: тошнота, рвота, диарея развиваются при малых дозах токсина (от 1мкг). Энтеротоксины обладают следующими свойствами:

- термостабильны

- устойчивы к действию формалина (не превращаются в анатоксин)

- устойчивы к действию пищевых ферментов (не разрушается в ЖКТ)

- устойчивы в диапазоне рН 4-10

- низкомолекулярные белки

- суперантигены (индуцируют избыточный синтез ИЛ-2, который вызывает интоксикацию)

- накапливаются в продуктах богатых углеводами, в атмосфере повышенного CO₂.

Обнаружение энтеротоксина *S. aureus*:

- непрямой бактериологический метод- выделение из подозрительного продукта чистой культуры *S. aureus*;

- биологический - в/в введение бульонной культуры выделенного стафилококка или скармливание подозрительного продукта котят. Наблюдается понос, рвота, letalis.

- серологический - в реакции преципитации в геле с помощью специфических антитоксических сывороток. Можно определить тип энтеротоксина.

- ПЦР.

6. Факторы межмикробного взаимодействия.

а) бактериолизины

- лизостафин (глицилглициновая эндопептидаза)- разрушает КС других стафилококков. Продуцент- *S. simulans*.

- муромидаза (лизоцим), продуцент *S. aureus*, действует на гр (+) м/о кожных покровов и слизистых оболочек.

б) бактериоцины (бактериоцидное действие на родственные бактерии).

- лантибиотики (эпидермин)- повреждают ЦПМ клеток- мишеней.

в) феромоны- ↓-молекулярные вещества, участвуют в обмене информацией регуляторного типа (изменение скорости роста, выработка ферментов, токсинов, контроль плотности бактериальной популяции).

Иммунитет:

- антимикробный (против белка А, тейхоевых кислот)

- антитоксический (на экзотоксины)

- антиферментный (т.к. ферменты обладают АГ свойствами).

Пути передачи:

- аутоинфекции – т.к. являются обитателями кожи и слизистых
- экзоинфекции
 - контактно-бытовой
 - воздушно-капельный
 - воздушно-пылевой
 - алиментарный
 - вертикальный (во время родов)

Источник инфекции:

а) здоровых носители - причина стафилококковых инфекции в медицинских учреждениях. Носители временные и резидентные. Стафилококки персистируют на слизистых зева и носа, причем у медперсонала обычно выделяются стафилококки устойчивые к большинству АБ.

б) больные.

Резистентность.

Устойчивы во внешней среде несколько месяцев, не утрачивая патогенности. Устойчивы к ↑ Т: 80 °С- 30 мин., сухой жар 110°С – 2 часа;

Чувствительны к дез. средствам: 1% р-р хлорамина -2-5 минут.

Чувствительность к АБ и SA нужно определять для каждого штамма. Большинство штаммов *S. aureus* устойчивы к АБ, это связано с R-плазмидой. Высокая устойчивость связана с высокой вирулентностью. Устойчивость к АБ формируется постепенно, когда назначаются дозы АБ, при которых погибают не все штаммы, остаются единичные, не чувствительные к АБ. Происходит селекция м/о руками врача. Нужно применять МПК, вызывающую 100% гибель м/о и постоянно контролировать чувствительность к АБ.

Госпитальные штаммы: устойчивы к АБ и антисептикам, способны длительно выживать во внешней среде и постоянно циркулируют в стационаре.

Заболевания у человека (классификация по Дерябину):

1. Стаф. бактерионосительство
2. Стаф. инфекции кожи
3. ГВЗ мягких тканей
4. Стаф. инфекции внутренних органов
5. Состояния присутствия стафилококков в системном кровотоке:
 - бактериемия первичная
 - вторичная бактериемия (наличие в/сосудистых и в/сердечных очагов стаф. инфекции).
- стаф. сепсис и септический шок
6. Синдромы токсического действия:
 - пищевые токсикоинфекции
 - синдром токсического шока

Более 150 нозологических форм заболеваний.

Лабораторная диагностика.

Исследуемый материал зависит от локализации очага (гной, мазки со слизистых, мокрота, кровь).

1. Бактериологический метод.

2. При сепсисе - посев крови больного (5-10мл) с соблюдением правил

асептики у постели больного на сахарный МПБ в соотношении 1:10. На 2 день при наличии роста пересев на КА, далее выделение чистой культуры и т. д. Посев крови инкубируют 10 суток.

3. При затяжных и хронических процессах определяют в сыворотке больных титры *агглютининов и антигемолизинов*.

4. Для установления источника инфекции выделенные культуры от больных и персонала (предполагаемого источника) подвергают **фаготипированию** с помощью 23 типовых стаф. бактериофагов, разделенных на 4 группы. К госпитальным штаммам относят фаговары 77 и 80, часто встречаются нетипируемые штаммы стафилококков.

Лечение и профилактика.

1. АГ препараты используют для:

- профилактики стаф. инфекций у новорожденных (проводят активную иммунизацию беременных), контингента с повышенным риском заболевания, доноров – применяют стафилококковый анатоксин.

- для лечения хронических стаф. инфекций - применяют стафилококковую вакцину (жидкая, сухая, антифагин - комплекс растворимых термостабильных АГ) и анатоксин стафилококковый (на гемолизин) при острой, хр. инфекции в стадии обострения.

На введение АГ: АГ накапливаются к концу 2 нед., продолжительность их жизни несколько месяцев.

2. При острых процессах, бактериемии, сепсисе используют препараты, содержащие **готовые АТ**: антистафилококковый иммуноглобулин, Ig человека нормальный. Иммунитет на конце иглы, продолжительность 2-3 нед.

3. Бактериофаги: местно, внутривполостно, per os, per rectum.

Препараты для лечения и профилактики: бактериофаг стафилококковый, анатоксин стафилококковый, вакцина стафилококковая, иммуноглобулин человека нормальный, иммуноглобулин антистафилококковый (ИБП пп. 2.35, 2.36, 2.37, 2.41, 2.42).

Лекция № 2. Стрептококки, пневмококки, менингококки.

Лекция № 2.1. Род *Streptococcus*.

Семейство *Streptococcaceae*, содержит 7 родов. Значение имеют

род *Streptococcus*

род *Enterococcus*

Морфология: Гр (+) кокки, споры и жгутики отсутствуют. В организме образуют капсулу из гиалуроновой кислоты.

В мазках:

- из исследуемого материала: единичные клетки;
- из чистой культуры- цепочки.

Форма - шаровидная, ланцетовидная, овальная.

Хемоорганотрофы, каталаза - отрицательны, факультативные анаэробы, некоторые микроаэрофилы. Т интервал- 25-45 °С, Т оптимум 37°С. Способны образовывать L- формы. Типовой вид- *S. pyogenes*.

Культуральные свойства:

Не растут на простых питательных средах, требуют добавления крови.

КА - мелкие, плоские, мутные, сероватого цвета колонии, гемолиз +.

Сахарный МПБ - придонно- пристеночный рост, бульон остается прозрачным.

Классификация:

1) По Ленсфилд выделяют 20 серогрупп, обозначаются заглавными латинскими буквами А, В, С, Д, и т. д. до V (по группоспецифическим ПС в КС).

Наиболее важны: гр. А – β – гемолитический стрептококк
гр. D– энтерококки.

2) По Брауну выделяют α –β –γ –стрептококки (рост на КА):

-α- частичный гемолиз и позеленение среды (*S. viridans*).

-β- полный гемолиз и просветление среды вокруг колоний (*S. pyogenes*, *S. haemolyticus*).

-γ- визуально невидимый гемолиз (*S. anhaemolyticus*).

Для человека патогенными являются пиогенный (группа А), в меньшей степени - зеленающий стрептококки (группа D).

3) Имеются типоспецифические АГ:

- белок М – обуславливает антигенность и иммуногенность; . По М – АГ стрептококки группы А подразделяют на 100 серовариантов.

- протеиновый Т- АГ

- R – Аг- нуклеопротеидная фракция, сходная со стафилококковым АГ.

4) перекрестно- реагирующие АГ (с эпителиальными клетками кожи и тимуса).

5) АГ - рецептор II – взаимодействует с Fc- фрагментом IgG.

Факторы патогенности:

1. липотейхоевая кислота.
2. фимбриальный белок М – защищает от фагоцитоза, адсорбирует на себе фибрин, фибриноген, маскируя рецепторы для компонентов комплемента и опсоинов, имеет свойства суперантигена (аутоиммунопатология) - перекрестная реакция с миокардиоцитами. АТ к нему защищают от повторных заболеваний.
3. капсула- защита от фагоцитоза, фактор адгезии, т. к. из гиалуроновой кислоты - минимальная иммуногенная активность.
4. С 5а – пептидаза - расщепляет компонент С5а системы комплемента - блокирование хемотаксиса нейтрофильных лейкоцитов.
5. ферменты стрептолизин S (не несет АГ нагрузки) и О (иммуногенн) - вызывают гемолиз, цитотоксическое и противоопухолевое действие. Стрептолизин О обладает кардиотоксическим действием.
6. гиалуронидаза - распространение бактерий по соединительной ткани.
7. ДНК-аза (стрептодорназа) – гидролиз ДНК.
8. стрептокиназа (фибринолизин) - активирует пламиноген, что приводит к растворению фибриновых волокон. Медицинское значение: смесь стрептокиназы, стрептодорназы и др. протеолитических ферментов используют для рассасывания тромбов, фибриновых и гнойных экссудатов.
9. OF – фактор (помутнения) - гидролиз липопротеидов сыворотки крови, АГ специфичность.
10. эритрогенные токсины- 3 типа – А, В, С. Проявляют пирогенную активность, высыпания на коже, суперантигенные свойства (аллерген), митогенное действие на Т- клетки, тромбоцитолитиз, иммуносупрессию, стимулируют секрецию ИЛ-1 и ФНО (септический шок).
11. рецептор II- – взаимодействует с Fc- фрагментом IgG- угнетение системы комплемента и фагоцитоза.
12. протеазы - разрушение белков, тканевая токсичность.
13. кардиогепатический токсин - поражения миокарда и диафрагмы, образование гигантоклеточных гранулем в печени.
14. депонирование иммунных комплексов (стрептококк + IgG) на базальной мембране почек.

Стрептококки группы А – убиквитарные м/о (встречаются повсеместно). Колонизируют кожу и слизистые оболочки (носоглотку). Источник инфекции- больной, носитель. Путь передачи - воздушно- капельный, контактный.

Клинические проявления стрептококков группы А:

- фарингит
- скарлатина !
- целлюлиты
- рожистое воспаление !
- пиодермии- импетиго
- некротизирующие фасциты
- гангренозные поражения
- стрептококковый синдром токсического шока (летальность- 30%) !

- ревматическая лихорадка !
- септический эндокардит
- о. гломерулонефрит !

Клинические проявления стрептококков группы В (*S. agalactiae*):

- менингиты новорожденных (при прохождении по родовым путям)
- послеродовые инфекции (родильная горячка)
- стрептококковые пневмонии

S. pneumoniae (пневмококк) - овальные или ланцетовидные кокки. В мазках из материала располагаются парами, каждая пара окружена толстой капсулой. На средах с кровью или с сывороткой так же образуют капсулу. Неподвижны, спор не образуют. Аэробы или факультативные анаэробы. Хорошо растут в капнофильных условиях – 5-10% CO₂.

- на жидких средах – равномерное помутнение

-на КА - нежные полупрозрачные колонии d 1 мм, иногда плоские с центральным углублением. Колонии между собой не сливаются. Образуют зону α- гемолиза.

Факторы вирулентности:

- капсула ПС природы (защита от фагоцитов и опсоинов). По ПС АГ подразделяются на 83 сероварианта. Некапсулированные штаммы авирулентны.

- субстанция С- тейхоевая кислота КС, специфически взаимодействует с С- реактивным белком, что приводит к активации комплемента, высвобождению медиаторов воспаления, миграции фагоцитов в легочную ткань и формированию легочных инфильтратов.

Зеленящие стрептококки.

Дают неполный α- гемолиз. Не агглютинируют с антисыворотками по Лэнсфилд. Входят в состав биоценоза ротовой полости и кишечника человека, вызывают заболевания при попадании в атипичные места обитания - при проникновении в кровоток вызывают эндокардиты с поражением сердечных клапанов;

- кариозное поражение зубов (биограмма mutans).

Энтерококки (группа Д) - овальные кокки, располагаются попарно или короткими цепочками. Спор и капсулы не образуют, некоторые виды подвижны. Факультативные анаэробы, каталаза - отрицательны. Т диапазон- 10-45°C, оптимум 37°C. Типовой вид- *E. faecalis*. Обитают в кишечнике, ротовой полости, МПС. У человека вызывают раневые инфекции, бактериемии, эндокардиты, поражение МВП. Инфекция носит эндогенный характер.

Иммунитет.

Продолжительный после скарлатины, после других инфекций отсутствует, развивается сенсбилизация и склонность к повторным заболеваниям.

Лабораторная диагностика стрептококковой инфекции.

Материал - кровь, гной, мазки со слизистых, моча, слизь с носоглотки.

1. Бактериологический – посев на КА. Учитывают количество колоний, гемолиз. Определяют принадлежность к группе в реакции преципитации, а к серовару - в р. агглютинации. При сепсисе – посев крови.

2. Серологический

а) определение группового полисахарида в реакции преципитации:

-β- гемолитические штаммы агглютинируют с антисыворотками А, В, С, D, F, G.

-не β- гемолитические - с антисыворотками В, D.

б) реакция ко - агглютинации, латекс - агглютинации (обнаружение стрептококка).

в) определение титров антигиалуронидазы и анти-О-стрептолизина (диагностика системных заболеваний - ревматизм, гломерулонефрит). В норме титр АТ не ↑ 160 мг/мл (стр. 10 «Руководства к практическим занятиям»).

Лечение.

-АБ

-при гнойных процессах - местно стрептококковый БФ

-всем больным ревматизмом весной и осенью вводят бициллин для профилактики ревматоидных атак.

Персистенция стабильных L- форм Streptococcus (по динамике антителообразования в РПГА):

-у больных ревматизмом в 80% обнаружены АТ к Str. β + (L- форма).

-у больных инфекционно-аллергическим миокардитом в 79%

-у здоровых лиц - в 11% случаев.

При миокардите до 52 недель из сердечной мышцы выделяются L- формы стрептококка (хр. экспериментальная инфекция).

Скарлатина.

Возбудитель β- гемолитический стрептококк группы А, имеющий М-АГ и эритрогенный токсин. Вклад в выяснении этиологии скарлатины принадлежит Савченко И.Г. (скарлатинозный стрептококк вырабатывает токсин, а антитоксическая сыворотка обладает лечебным эффектом) и американским ученым супругам Дик. Доказательство стрептококковой этиологии скарлатины:

- в/к введение небольшой дозы токсина неиммунным лицам, вызывает местную реакцию: покраснение, припухлость (реакция Дика).

- у переболевших эта реакция отрицательная (нейтрализация токсина антитоксином).

- в/к введение больших доз токсина неиммунным, вызывает симптомы скарлатины.

Факторы патогенности:

-эритрогенин

-суперантигенные свойства стрептококка (аллерген).

Патогенез:

I период -действие токсина: поражение периферических кровеносных сосудов, появление сыпи, температуры, интоксикации. В крови накапливается антитоксин.

II период - действие стрептококка - ГСЗ.

- сенсibilизация (ССЗ, полиартриты, нефрозонефриты).

Постинфекционный иммунитет. Прочный, длительный, антитоксический, клеточный (ГЗТ). Сохраняется аллергия к скарлатинозному АГ. Наличие антитоксического иммунитета проверяют в реакции Дика.

Лабораторная диагностика. Выделяют чистую культуру из зева + клиническая картина.

ИСС - инвазивная стрептококковая инфекция.

Сопровождается развитием стрептококкового синдрома токсического шока ССТШ.

Клиника: ↑ Т, бактериемия, системное поражение 2 и более органов, ↓ АД, некротизирующий фасцит. Входные ворота - поврежденная кожа, Развивается у пожилых + сопутствующие заболевания. Ведущая роль принадлежит пирогенным токсинам: эритрогенин А и В, митогенный фактор F, стрептококковый суперантиген, белок М.

Лечение: пенициллин не эффективен, т. к. в стационарной фазе роста м/о теряют к нему рецепторы. Применяют клиндамицин (↓ синтез токсина, М-белка, продукции ФНО).

Профилактика и лечение стрептококковой инфекции – ИБП пп. 2.43, 2.44, 2.20.

Лекция № 2.2. Менингококки. *Neisseria meningitidis*.

Neisseria meningitidis – возбудитель менингококковой инфекции

Морфология. Диплококки, в виде кофейных зерен, прилегающие уплощенной стороной друг к другу. Споры, жгутики отсутствуют, имеют капсулу, пили и микроворсинки, каталаза-, оксидаза - положительны. Хемоорганотрофы. Т оптимум- 35-37°C, при Т ↓ 22°C не растут.

Культуральные свойства. Строгие аэробы. Не растут на обычных питательных средах, требуют добавления цельной крови, сыворотки, асцитической жидкости. Для роста нуждается в 4 - 10% CO₂.

На сывороточном агаре - нежные, прозрачные колонии;
на бульоне - помутнение и осадок на дне.

Эпидемиология. Строгий антропоноз. Путь передачи - воздушно-капельный. Основной источник инфекции- носители (от 3 до 30% здоровых людей). Наиболее заразны больные с генерализованной инфекцией. Природный резервуар- носоглотка человека.

Клинические формы:

- назофарингит
- менингококцемия (сепсис)
- эпидемический спинальный менингит.

Патогенез.

Из носоглотки м/о попадают в лимфоузлы, затем в кровь – менингококцемия (поражаются паренхиматозные органы (действие эндотоксина)), могут преодолевать ГЭБ- менингит. (СМЖ мутная, в отличие от tbc менингита).

Классификация.

1) По АГ строению ПС капсулы выделяют серогруппы А, В, С, D, X, Y, Z, 29E, W-135, H, I, K, l.

Штаммы серогруппы А вызывают эпидемические вспышки,
В, С, Y- спорадические случаи.

Для капсульного АГ свойственна высокая изменчивость и лабильность (от одного и того же человека выделяют разные серогруппы).

2) по белкам наружной мембраны серогруппы В и С подразделяют на серотипы.

3) по полисахаридно - полипептидным комплексам:

- родовые АГ – общие для нейссерий.
- видовые АГ

- группоспецифические АГ
 - типоспецифические АГ.
- 4) полисахаридные АГ -8 серотипов.

Резистентность.

Неустойчивы к факторам внешней среды:

- прямые солнечные лучи- гибель.
- высушивание- гибель через несколько часов
- Т 80°C- 2 минуты
- не переносят низкие Т (материал доставляют в сумках- термостатах).

Факторы патогенности.

1. Капсула- защита от фагоцитоза.
2. Липополисахариды (ЛПС) – химически и биологически сходны с эндотоксинами энтеробактерий. Обладают:

- токсичным
- пирогенным
- летальным
- некротическим действием.

Играют роль в поражении сосудов и кровоизлияний во внутренние органы. Проявляется в виде кожной экзантемы (геморрагическая сыпь).

3. Пили, белки наружной мембраны - фактор адгезии к слизистой носоглотки и тканям мозговых оболочек.
4. Ig А- протеазы – расщепляют Ig в шарнирной области.
5. Гемотоксин.
6. Гиалуронидаза, нейроминидаза, протеазы, плазмокоагулаза - факторы инвазии.
7. АЛА (антилизозимная активность).

Иммунитет.

После перенесенной инфекции длительный, ко всем серогруппам; у носителей так же может формироваться. Носит антимикробный характер. Элиминацию возбудителей осуществляют Ig М и G. Материнские АТ у новорожденных циркулируют 2- 5 недель (у 50% детей).

Лабораторная диагностика.

Материал для исследования - СМЖ, кровь, отделяемое носоглотки.

1. Микроскопический метод. В мазках из СМЖ, соскобов петехий, периферической крови – внутри лейкоцитов Gr (-) диплококки (незавершенный фагоцитоз). В чистой культуре - беспорядочно расположенные тетракокки, монококки.

2. Бактериологический метод. Посев материала на сывороточные среды. Инкубируют при 37°C, в условиях повышенного содержания CO₂ (эксикатор со свечой). Биохимическая активность: ферментируют глюкозу, мальтозу, но не лактозу и сахарозу.

3. Серологический.

- определение титра АТ в РПГА у больных и переболевших.
- ИФА, ко – агглютинация, латекс- агглютинация.
- реакция эритроиммуноадсорбции (в лунки с адсорбированными

противоменингококковыми АТ вносят исследуемый материал, инкубируют 30 минут и добавляют эритроцитарный АТ диагностикум. Учет через 20 мин. # реакция – зонтик.

Профилактика.

1. Вакцина менингококковая группы А полисахаридная – ИБП п. 2.14
2. Менингококковая комбинированная вакцина групп А и С полисахаридная (группа В не обладает иммуногенными свойствами) - ИБП п. 2.15
3. Контактным детям в очаге – человеческий Ig - ИБП п. 2.26, 2.41
4. Тетравалентная полисахаридная вакцина групп А, С, W-135, Y (Смит Кляйн Бич).

Лекция №3. Анаэробные инфекции

Причина существования строгих анаэробов:

1. Отсутствие пероксидазы и оксидазы (каталазы), т.е. неспособность превращать H_2O_2 в H_2O и O_2 .
2. В присутствии O_2 подавляются анаэробные процессы переноса электронов.
3. Нет собственных систем регуляции ОВП (редокс-потенциала).

Естественная среда:

Почва, ил, сточная вода, кишечный тракт человека, птиц. Требуют минимум питательных веществ и отсутствия кислорода. Отвечают за процессы брожения и гниения. В нормофлоре человека являются основными представителями (бактероиды, бифидумбактерии, фузобактерии), составляют 90-96%.

По экологическим свойствам выделяют 3 группы клостридий:

- возбудителя бродильных процессов (↑ сахаролитические свойства);
- возбудители процессов гниения (↑ протеолитические свойства);
- патогенные виды (протео- и сахаролитические свойства).

По отношению к O_2 выделяют 4 группы:

- строгие (облигатные) анаэробы - не переносят O_2
- умеренно строгие анаэробы - выживают. Но не размножаются;
- аэротолерантные – размножаются в присутствии, так и в отсутствии O_2 ;
- микроаэрофилы – требуют повышенного содержания CO_2 .

Значение в патологии человека:

1. спорообразующие: род Clostridium;

- C. perfringens
- C. novyi
- C. histolyticum

Это возбудители анаэробной раневой инфекции (газовой гангрены);

- C. – возбудитель столбняка;
- C. botulinum – возбудитель ботулизма.

2. неспорообразующие грамотрицательные анаэробные бактерии родов: Bacteroides, Fusobacterium (возбудители ГСЗ);

3. грамположительные неспорообразующие кокки - пептострептококки, некоторые представители сем. Micrococcaеsea;

4. анаэробные грамотрицательные кокки сем. Veilonellaеsea. Паразитируют в кишечнике, дыхательных путях человека, вызывают вторичные инфекции;

5. микроаэрофилы – кампилобактерии

хеликобактерии;

Наибольшая роль – представители рода клостридий, бактероидов, фузобактерий.

Род Clostridium.

Морфология.

Kloster - веретено

Крупные палочки, грам (+);

Споры овальные или круглые, расположены центрально, субтерминально или терминально, в 2-3 раза превышают поперечник клетки (веретено).

Перетрихии или неподвижны;

Капсула (+) только у *C. perfringens*;

Хеоорганотрофы;

Сахаролитические свойства (\pm), ферментируют глюкозу и другие углеводы с образованием К или КГ;

Протеолитические свойства у некоторых видов выражены;

Каталаза (-);

У некоторых видов азотфиксирующий способ дыхания;

Большая часть – строгие анаэробы.

Естественная среда.

Почва (особенно обогащенная органическими соединениями), кишечник травоядных животных и человека (появляются сразу после рождения).

Эпидемиология.

При проникновении с водой, пищей – не вызывают заболевания;

Только при попадании в рану (газовая гангрена, столбняк) или пищевой продукт, где предварительно размножаются и выделяют токсин.

Иногда эндогенная природа – псевдомембранозный колит. Вызывается *C. difficile*, развивается на фоне нерациональной антибиотикотерапии. Колит с *letal* исходом.

Имеется более 100 видов, делят на 4 группы по:

- локализации споры;

- способности гидролизовать желатин.

II. *C. tetani*

Спора - терминально

Гидролиз желатина (+)

IV *C. perfringens*

C. septicum

C. novyi

C. histolyticum

C. botulinum

C. difficile

Спора – субтерминально

Гидролиз желатина (+).

Лекция № 3.1. Микробиология газовой гангрены.

Clostridium perfringens.

Тяжелая раневая инфекция с общей интоксикацией и прогрессирующим омертвением тканей, сопровождающаяся их отеком и газообразованием.

Второе название газовая анаэробная инфекция.

Полимикробная инфекция, вызывается 7 видами клостридий. В 99% выделяется *C. perfringens*. Одновременно выделяют и представителей неспорообразующих анаэробов- *Fusobacterium*- тяжелое течение. Могут участвовать и *Staphylococcus*, если факультативно-анаэробный м/о обладает гнилостными свойствами.

Длина – 3-9 мкм;

Диаметр – 0,9-1,3 мкм;

T оптимум 45°, диапазон - 20- 50°;

pH 7,2-7,4, диапазон 5,0-8,5;

Культуральные свойства:

- на жидких средах – диффузное помутнение, разлагают глюкозу – газ.
- ферментирует: лактозу, мальтозу, сахарозу;
- молоко створаживает через 3-5 часов (губчатый сгусток);
- гидролизует желатину;
- на КА – колонии 2-5 мм, с приподнятым центром и зоной гемолиза;
- на среде Китта – Тароци рост через 4-8 часов культивирования, образование мути и газа.

Аг структура.

6 сероваров, все образуют α- токсин (лецитиназу).

Факторы патогенности.

1. Инвазии – гиалуронидаза и другие ферменты, разрушающие соединительную ткань и мышцы.

2. Токсины. различают 12 экзотоксинов и энтеротоксин. Главный фактор - экзотоксин, состоит из нескольких компонентов (6 сероваров) А, В, С, Д, Е,

Ф. Каждый компонент обладает функцией:

- гемолитической
- некротической
- нейротоксической
- лейкотоксической
- летальной

Главный компонент – α -лецитиназа С, разрушает мембраны клеток, особенно миоцитов.

Серовары А и С вызывают пищевые токсикоинфекции. Выделяют термолабильный токсин, разрушается при термической обработке пищевых продуктов, продуцируется при споруляции бактерий в толстой кишке, вызывает рвоту и диарею.

Патогенез.

- протекает без яркого воспаления, характерен прогрессирующий некроз тканей, отек, газообразование, отравление организма токсинами возбудителя и продуктами распада собственных тканей;

- это некропаразиты – опасны раны с обширными повреждениями, нарушением кровоснабжения, разможением мышц, раздроблением костей, образованием слепых ходов. Клостридии быстро размножаются в глубине за счет повышенной инвазивности, проникают в здоровую ткань, поражая её токсинами и ферментами. Особенно бурное повреждение мышечной ткани, т.к. содержит гликоген (хорошая питательная среда).

- действие токсина протекает в 2 стадии:

1) под действием токсина происходит увеличение проницаемости кровеносных сосудов, отек, сдавливание тканей, поступление с отечной жидкостью токсина и поврежденные ткани доступны для размножения клостридий.

2) под действием ферментативной активности клостридий и некротического действия токсина происходит некроз мышечной и соединительной тканей. Токсин действует местно + интоксикация организма + отравление продуктами распада.

Клинические формы газовой гангрены:

1. анаэробную инфекцию мышечной ткани конечностей и таза;
2. анаэробную инфекцию мозга;
3. послеродовая анаэробная инфекция;
4. анаэробная инфекция органов брюшной полости и брюшины;
5. анаэробную инфекцию органов грудной полости;
6. анаэробный остеомиелит.

И.п. – от несколько часов до 5 дней;

Продолжительность болезни - 5 - 6 суток;

Letalis в I мировой войне - 60%.

Иммунитет.

Постинфекционный и поствакцинальный - антитоксический. Роль микробных АТ вторична.

Материал для диагностики.

- подкожные участки ткани;
- отечная жидкость;
- перевязочный, шовный материал;
- образцы одежды, почвы, пищи, испражнений.

Лечение и профилактика (ИБП п.2.13).

- своевременная обработка раны;

- введение антитоксической противогангренозной поливалентной лошадиной сыворотки. Белковая фракция лошадей гипериммунизированных анатоксинами (токсинами) трех основных возбудителей газовой анаэробной инфекции (*C. perfringens*, *C. novyi* (эдематический), *C. septicum*). ИБП п. 2.13.

для лечения 150 тыс. МЕ (по 50 тыс. МЕ каждого из 3 типов антител), в/в, медленно;

для профилактики – 30 тыс. МЕ (по 10 тыс. МЕ каждого из 3 типов антител), в/м.

- антибиотикотерапия;
- гиперборическая оксигенация.

Лекция № 3.2. Микробиология столбняка. *Clostridium tetani*.

Столбняк - острая токсическая инфекция, характеризуется поражением нейротоксином двигательных клеток спинного и головного мозга, которая проявляется в виде судорог поперечно-полосатой мускулатуры. Болеют люди и животные (мелкий рогатый скот).

Морфология.

Грам (+) палочка, длина – 5 мкм, диаметр – 0,5 – 1,0 мкм;

Иногда образуют нити;

Почти всегда – перетрихи.

Споры круглые, расположены терминально (барабанная палочка);

Капсула отсутствует.

Культуральные свойства.

T оптимум – 37°C, диапазон – 14-45°C.

На среде Китта-Тароци – диффузное помутнение, газообразование ±;

На бульоне – гнилостный запах;

На КА – колонии 5 мм в диаметре, округлые, полупрозрачные, в виде переплетенных нитей (напоминает паучков), гемолиз +;

В столбике агара – рост в виде комочка ваты, пушинок, чечевичек;

Протеолитические свойства слабые – медленно расщепляют белки и пептоны до аминокислот, ферментируют желатин, молоко свертывают к 4-7 дню (пептонизация);

АГ структура.

Имеются O и H –Аг. По O-Аг различают 10 сероваров, все продуцируют идентичные тетаноспазмин и тетанолизин.

Факторы патогенности.

Экзотоксин – сильнейший яд. Dosa letalis менее 2 мг/кг.

Состоит из 2 фракций:

- тетаноспазмин (нейротоксин);
- тетанолизин – гемолитические, кардиотоксические, летальные свойства.

Тетаноспазмин не проходит через клеточную стенку, выделяется при распаде клетки. Синтезируется в виде внутриклеточного неактивного протоксина, который после лизиса микробной клетки активизируется бактериальной протеазой путем точечного гидролиза. Образуются 2 части:

- легкая цепь α – собственно токсин;
- тяжелая цепь H – акцепторная функция.

Рецептором является сиалоганглиозид мембран аксонных окончаний.

Части связаны 2-мя дисульфидными мостиками. Из крови токсин поступает в ЦНС. Но из-за наличия ГЭБ так не проникает, а Н-цепь связывается с нервной клеткой в области мионервальных синапсов. α – собственно токсин проникает в клеточную цитозоль путем рецепторопосредованного эндоцитоза. Передвижение по аксону – 1см/час. Продвижение токсина вверх по спинному и продолговатому мозгу происходит от нейрона к нейрону в области синапса, т.к. оболочка нейрона не проницаема для токсина. Токсин накапливается в ЦНС за исключением мозжечка и переднего мозга. Результат: блокирует синапсы, тормозящие освобождение медиаторов (глицинацетилхолин ГАМК), развивается нервно - мышечная патология.

Резистентность.

Вегетативные формы не устойчивы во внешней среде: Т 60°C убивает их через несколько минут;

Споры: - автоклавирование 120°C – 40 минут;

- рабочие растворы дез.средств – 14-16 часов;

- в высушенном состоянии сохраняются более 10 лет.

Резервуар.

Почва, загрязненная испражнениями.

Эпидемиология.

Распространение – повсеместно;

Больной не опасен;

Входные ворота – раны, обморожения, ожоги, травмированные пути (после родов, аборт), натирания.

Столбняк новорожденных - по обряду пуповину обрабатывают смесью золы и навоза. Letalis -85%.

Патогенез и клиника.

И.п. – 6-14 дней (от 2 дней до 1 месяца). Короткий и.п. – тяжелая клиника.

Симптомы: тоническое сокращение поперечно – полосатой мускулатуры, повышенное рефлекторное возбуждение от внешнего раздражения.

У человека нисходящий столбняк- tetanus descendens – тризм (спазм лицевых мышц) → сардоническая улыбка → спазм мышц туловища и конечностей. Часто развивается спазм разгибателей – ломаются кости. О п и с т о т о н у с – тонико – клонические судороги, выгибается спина, больной в сознании, Т нормальная. Смерть от паралича СДЦ, сог, асфиксии (поражение мышц гортани, диафрагмы, дыхательной мускулатуры). *У новорожденных* – поза «лягушонка». Letalis от столбняка после операций и абортов в 1 сутки – 90%.

У животных восходящий столбняк - tetanus ascendens – ригидность хвоста → зияющий анус → волочат ноги → подергивание мышц туловища → осиная талия.

Иммунитет.

Постинфекционный: стойкий, длительный, антитоксический. Обусловлен клетками иммунной памяти.

Специфическая профилактика (ИБП пп. 2.2, 2.5, 2.11)

1. плановая – АКДС с 3-х месяцев жизни (ИБП п. 2.1);

АС (ИБП п.2.7), АДС (ИБП 2.4) - анатоксины.

2. экстренная

- иммуноглобулин противостолбнячный человека (ПСЧИ) (ИБП п 2.8) или противостолбнячная лошадиная сыворотка (ПСС) (ИБП п. 2.9). Действующее начало – антитоксин. АТ сохраняются 2 недели, затем разрушаются и выводятся из организма;

- АС – анатоксин. Через 2 недели появляются собственные АТ, создается напряженный иммунитет.

Лечение (ИБП п.2.9). Противостолбнячная лошадиная сыворотка – 100-200 тыс. МЕ. Вводится в/м, в/в, в спинно - мозговой канал до исчезновения судорог.

Лекция №3.3.Микробиология ботулизма. Clostridium botulinum. Возбудитель - Clostridium botulinum.

Лат. botulus – колбаса.

- Гр (+) палочки, подвижные;
- капсула (-);
- субтерминальное расположение спор - «теннисная ракетка». В культурах споры появляются через 24-48 часов;

- не размножаются при рН 3,0-4,0, при концентрации NaCl выше 10%;

Образует 8 типов токсинов: А, В, С1, С2, Д, Е, F, G. Отличаются по Ag свойствам.

Различают 2 варианта возбудителя по гидролизу казеина и продукции H₂S:

- с наличием протеолитических свойств – все штаммы А, часть В и F;

- не протеолитическая группа – входят все штаммы Е и часть В и F;

- Д и С – промежуточное положение.

Резистентность.

А) споры:

- переносят низкие температуры (до 190°C);

- высушивание – 10-летия;

- нагревание – 100°C – 5 часов; 120°C – 20-30 минут (особенно тип А), некоторые штаммы остаются жизнеспособными в течение нескольких часов;

- устойчивы к дезсредствам;

- 10% HCl убивает через 1 час.

Б) токсины:

- не разрушаются протеолитическими ферментами ЖКТ;

- устойчивы к рН 3,5-6,8;

- разрушаются в 2-3% NaOH;

- не действуют высокие концентрации соли;

- при 58°C погибают через 3 часа, при 100°C – через несколько минут.

- наиболее устойчив тип С.

Факторы патогенности.

Эзотоксины отличаются по Ag структуре, биологические свойства одинаковые. Токины всех типов продуцируются в виде промежуточных токсических комплексов. По константе седиментации, молекулярной массе и по структуре делятся на 3 группы:

1. 12 S – (М-токсин) – состоит из нейротоксина, связанного с молекулой нетоксического белка не обладающего гемагглютинирующими свойствами;

2. 16 S- (L- токсин) – состоит из М-комплекса, связанного с нетоксическим белковым комплексом, имеющим гемагглютинирующие свойства;

3. 19 S – (LL – токсин) – нейротоксин+ нетоксический белок со свойствами гемагглютинина.

Каждый тип токсина может продуцировать 1 вариант, или 2 и 3.

Нетоксические белки – в составе комплекса стабилизируют нейротоксин;
- защищают его от действия протеаз и НС1 ЖКТ.

Нейротоксин - синтезируется в виде единой полипептидной цепи, не обладающей токсической активностью. Превращается в активный нейротоксин после разрезания бактериальной протеазой или протеазами ЖКТ. В результате точечного гидролиза образуются 2-е цепи Н и L, связанных дисульфидными мостиками.

Н – отвечает за прикрепление нейротоксина к рецепторам мембран клетки;

L - блокирует холинергическую передачу возбуждения в синапсах.

Также С. botulinum обладают: лейкотоксической, гемолитической, лецитиназной активностью. Лейкотоксин подавляет фагоцитоз без разрушения лейкоцитов. Синтез ботулотоксина контролируется конвертирующими фагами при лизогенизации хромосом.

Патогенез и клиника.

DL – 1 нг/кг массы тела. Токсикоинфекция: действует токсин, содержащийся в пищевом продукте и токсин, который образуется в пищеварительном тракте при попадании туда возбудителя. Токсин всасывается в ЖКТ, попадает в кровь, действует на ядра продолговатого мозга и ганглиозидные клетки спинного мозга.

И.п. – 2 часа – 10 дней (18-24ч).

Клиника: офтальмоплегический синдром: диплопия (двоение в глазах), анизокория (разные по размеру зрачки), птоз (опущение верхнего века), слепота. Парез мускулатуры языка: афония, затруднение глотания. Парез мышц шеи, туловища, кишечника. Из кишечника выделяется слизь. Расстройство дыхания, letalis от паралича дыхания и сердца. Летальность 35-85%.

Иммунитет. Постинфекционный, типоспецифический, перекрестный не формируется.

Диагностика.

- бактериологический метод;
- биологическая проба на мышцах с применением поливалентной и моновалентных антитоксических сывороток типов А, В, С, Е;
- РПГА с антительным эритроцитарным диагностикумом;
- ИФА по обнаружению токсина;
- способность подавлять фагоцитоз. В присутствии антитоксина лейкотоксические свойства токсина нейтрализуются.

Лечение (см. ИБП 2.12). - по 10 тыс. МЕ антитоксической лошадиной сыворотки типов А, С, Е и 5 тыс. МЕ типа В. до введения сыворотки следует взять кровь, мочу, промывные воды желудка для исследования на ботулотоксин. Профилактическая доза = ½ лечебной (контактным);

- для стимуляции выработки активного иммунитета вводят анатоксины

типов А, В, С и Е. После определения типа токсина вводят гомологичный анатоксин.

Профилактика (см. ИБП п. 2.10-2.12).

- трианатоксин – смесь очищенных ботулинических анатоксинов типов А, В, Е, сорбированных на гидроксиде алюминия (см. ИБП 2.10).;

- тетраанатоксин – смесь ботулинических анатоксинов типов А, В, Е и столбнячного анатоксина (см. ИБП 2.11).;

- пентаанатоксин – ботулинические анатоксины типов А, В, Е + анатоксины *C. perfringens* А и *C. novyi*;

- секстаанатоксин – содержит анатоксины *C. botulinum* типов А, В, Е + *C. perfringens* А и *C. novyi* + *C. tetani* (столбняка).

Лекция № 3.4. Бактериоиды.

Культивирование анаэробов.

Механический метод.

1. кипячение питательной среды на водяной бане 10-20 мин. Вытесняется кислород воздуха. Быстро охлаждают среду, чтобы не дать ей насытиться воздухом и производят посев;

2. для уменьшения диффузии O₂ из воздуха, питательные среды сверху заливают стерильным вазелиновым маслом или парафином на 1-1,5 см. посев материала проводят через масло;

3. добавление редуцирующих веществ – цистина, глюкозы, аскорбиновой кислоты. Поглощают кислород;

4. добавление кусочков паренхиматозных органов для связывания кислорода (среда Китта – Тароци с кусочками говяжьей печени);

5. в жидкие среды добавляют пористые вещества – вата, пемза, которые на своей поверхности адсорбируют пузырьки воздуха.

Физический метод.

1. посев по Веньяль – Вейону. Двукратные разведения исследуемой культуры в 0,5% сахарном агаре, охлажденным до 40-45 °С, набирают в пастеровскую пипетку. Вытянутый конец трубки запаивают. Через 2-3 суток инкубации в столбике агара появляются колонии м/о;

2. вакуум – анаэроостат. Замена атмосферного воздуха газовой смесью;

3. эксикатор со свечой.

Химический метод.

1. производят посев на плотную среду на чашке Петри. На крышку чашку помещают химический поглотитель: гипосульфит Na, щелочной пирагаллол;

Биологический метод.

1. совместное культивирование строгих анаэробов и аэробов на КА с глюкозой в запарафинированной чашке Петри. Сначала растут анаэробы, после снижения содержания O₂ - анаэробы. В качестве строгих аэробов используют *Bacterium prodigiosum* (чудесная палочка), *Serratia marcescens*. Метод Фортнера.

Бактериоиды.

Входят в состав нормальной микрофлоры кишечника.

Основной представитель - *Bacteroides fragilis*

- неподвижны
- хемоорганотрофы
- имеют капсула

Факторы патогенности.

Нейроминидаза

Гиалуронидаза

Фибринолизин

Эндотоксин

супероксид дисмутаза – защита от фагоцитоза.

Редко развиваются как моноинфекции, чаще – с анаэробными стрептококками.

Основные поражения – абсцессы, часто органы брюшной полости.

Забор материала производят аспирацией шприцом. Посев на КА, тиогликолевую среду, содержание CO₂ в атмосфере 10%. Рост стимулируют добавлением в среды гемина и витамина К. Образуют желто-серые колонии.

Лекция № 4. Гнойно – воспалительные заболевания, вызываемые грамотрицательными палочками.

Внутрибольничные инфекции.

Внутрибольничные (нозокомиальные, ятрогенные, госпитальные) инфекции- заболевания, связаны с оказанием медицинской помощи, проявляются как в условиях ЛПУ, так и после выписки из него. Время возникновения заболевания равно минимальному инкубационному периоду болезни – 2-4 дня.

Ятрогенная (ятрос - врач, генус - происхождение).

Я.И.- инфекционные процессы, обусловленные действием или бездействием, словесно или умолчанием медицинских работников (Покровский В.И.).

Причины нарастания числа ятрогенных инфекций:

1. Широкое, нерациональное применение антибиотиков, что привело к распространению штаммов с множественной устойчивостью к АБ.

2. Широкое внедрение методов диагностики с нарушением целостности кожных и слизистых покровов, использование имплантантов (инвазивные манипуляции), расширение спектра и тяжести оперативных вмешательств (разрушение естественных экологических барьеров).

3. Использование иммунодепрессантов.

4. Увеличением числа лиц пожилого и старческого возраста.

3. Увеличение циркуляции микроорганизмов в больничных учреждениях, формирование госпитальных штаммов.

Свойства возбудителей ВБИ.

1. характеризуются множественной резистентностью к АБ. Применение высокоактивных антибиотиков способствует появлению более устойчивых м/о (порочный круг).

2. сниженной чувствительностью к антисептикам и дезинфектантам.

3. высоким полиморфизмом популяции.

4. высокой устойчивостью к конкурентному действию аутохтонной микрофлоры.

5. широким и переменным набором факторов вирулентности.

6. выраженной способностью к колонизации кожи и слизистых.

7. выраженной инвазивностью.

Пути передачи.

1. контактный, аэрозольный:

- проникновение возбудителя в операционные и перевязочные
- носительство патогенного стафилококка медперсоналом
- инвазивные лечебные и диагностические манипуляции - нанесение

микротравм, особые способы стерилизации современной аппаратуры, нарушение асептики медперсоналом.

2. аутоинфицирование из мест носительства через дефекты кожи и слизистых (нос, носоглотка, кожа, промежность, руки, волосы).

3. эндогенный - занос представителей нормофлоры во внутреннюю среду организма через поврежденную кожу и слизистые.

Этиология.

Широкий спектр возбудителей ВБИ: вирусы, бактерии, грибы, простейшие. Основные возбудители - стафилококки (60% всех ВБИ), респираторные вирусы, пневмококки, грамотрицательные энтеробактерии, псевдомонады, анаэробы, грибы рода *Candida*.

Источники госпитальных инфекций.

-больные

-носители (стаф. инфекция, ВГ В, С, Д, сальмонеллезы, шигеллезы)

-мед. работники (чаще бессимптомные носители, особая роль в распространении респираторных инфекций).

-лица, привлекаемые к уходу за больными (стаф-, стрептококки, энтеро- и капмиллобактерии, возбудители вен. заболеваний, ротавирусы, ЦМВ, герпетовирусы, ВГ, пневмоцисты).

-посетители.

Оппортунистические инфекции - вызываются любыми УПБ при нарушении целостности покровов и самое главное - при иммунодефицитном состоянии. Характерно хроническое течение.

ГГСИ - госпитальные гнойно- септические инфекции - обуславливают высокий уровень заболеваемости и летальности, наносят экономический, социальный и моральный ущерб здоровью населения.

В США ВБИ \approx у 5% пациентов, около 2 млн. случаев в год.

В России - официально регистрируется \approx 0,15% - это издержки регистрации. По материалам ВОЗ В России в 80 гг. - 6,3%

В Англии - 9,2%

В Германии 3-5%

Частота ГГСИ в разных хирургических стационарах:

- абдоминальная хирургия - 6,3%
- нейрохирургия - 15%
- травматология - 2-9,2 %
- урология - 8,7- 23,5 %
- реанимация, ИТ - 30,4%.

Лекция № 4.1. Микробиология эшерихиозов.

Escherichiae coli.

Pod Escherichia.

Морфология. Прямые палочковидные бактерии, в мазках расположены одиночно или парами. Большинство штаммов имеет капсулу или микрокапсулу. Подвижны или неподвижны, аэробы или факультативные анаэробы. Т оптимум 37°C. Ферментируют углеводы с образованием кислоты или кислоты и газа. Оксидаза (-), каталаза #. Мочевину не гидролизуют, H₂S не образуют.. Выделяют бактерицины (колицины), вызывающие гибель родственных бактерий. Типовой вид- Escherichiae coli.

Рост на средах.

-на плотных - выпуклые мутные S- колонии или плоские сухие R- колонии. На среде Эндо: красные колонии с металлическим блеском (lac+) или бесцветные ((lac-). На КА могут давать полный гемолиз.

АГ структура: O-, H-, K-Аг.

Факторы патогенности.

пили, фимбриальные факторы - адгезия к эпителию слизистых.

Клиника.

-инфекции МВП – бактериурия, циститы, о. пиелонефриты. Уропатогенные эшерихии вызывают 90% банальных и 30% госпитальных поражений. Причины:

- анатомическая близость прямой кишки

- анатомо - физиологические аномалии: стенозы, рефлюксы МВП.

-бактериемия: до 50 гг. считалось казуистикой, на сегодняшний день этиологический фактор у детей и взрослых- 17-35%. У новорожденных источник инфекции неизвестный, в 15-20% случаев – это манипуляции на МВП.

-менингит. У новорожденных- 1-5: 1000, у взрослых редко (после травмы черепа). Выделенные изоляты имеют капсульный АГ, схожий с капсульным полисахаридом менингококка.

-респираторные инфекции. Часто у новорожденных, грудных детей,

пожилых. Источник инфекции - ЖКТ.

Лабораторная диагностика энтеробактерий:

- бактериологический метод. Выделение и идентификация чистой культуры. Использование специфических бактериофагов.
- серологический метод- РА с антисыворотками
- ПЦР

Лечение

АБ, после определения чувствительности к ним, бактериофаги.

Лекция № 4.2. Микробиология клебсиеллезной инфекции.

Klebsiella pneumoniae.

Род Klebsiella

Неподвижны, капсула # (в организме, при пересевах теряется). Факультативный анаэроб, хемоорганотроф. Ферментирует углеводы с образованием кислоты и газа.

Оксидаза (-), каталаза #. Под действием АБ могут образовывать L - формы. Т диапазон 12-43°C, оптимум Рн 7,2.

- **Рост** на жидких средах: гомогенное помутнение, пленка, пристеночное кольцо;

- на плотных - пышные слизистые колонии. На средах Эндо и Плоскирева образуют красные колонии с металлическим блеском (lac+).

Антигенная структура.

- капсульный К-Аг (используют при серологической идентификации).
- соматический О-Аг
- R-Аг

Изменчивость:

-гладкие формы. МКО- мукоидные, капсульные с О-Аг;

МО мукоидные, бескапсульные с О-Аг

КО немучоидные, капсульные с О-Аг

О- немучоидные, бескапсульные с О-Аг

-шероховатые формы. МКR- - мукоидные, капсульные без О-Аг;

KR-немучоидные, капсульные без О Аг

MR- мукоидные, бескапсульные без О- Аг

R немучоидные, бескапсульные без О Аг

Эпидемиология.

Широко распространены в природе. Источник инфекции- больной человек. *Klebsiella pneumoniae* выделяют из ротоглотки и ЖКТ у 5% здоровых лиц.

Клиника.

K. pneumoniae- палочка Фридендера. Вызывает долевые пневмонии, бронхиты, бронхопневмонии, инфекции МВП, поражение мозговых оболочек, суставов, позвоночника, глаз, бактериемия, септикопиемия.

K. ozonae - палочка Фриша- Волковича- атрофический ринит.

K. rhinoscleromatis- Абеля- Левенберга- риносклерома (поражение дыхательных путей).

Факторы патогенности.

-полисахаридная капсула

-эндотоксин

-фимбрии - адгезия к эпителию

-сидерофорная система- связывание Fe и ↓ его содержание в тканях

-термо- и кислотостабильный токсин- аналогичен термостабильному энтеротоксину *E. coli* (активирует систему гуанилатциклазы- диарея)

-термолабильный токсин (у капсульных штаммов). Оказывает цитотоксический эффект и способствует проникновению бактерий в кровотоки.

Лекция № 4.3. Микробиология протейной инфекции.

***Proteus vulgaris*.**

Род Proteus spp.

Морфология, культуральные свойства.

Гр (-) палочки, подвижны, капсула отсутствует. Характерен полиморфизм - нитевидные, кокковидные формы. Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы.

Оксидаза (-), каталаза (+), гидролиз мочевины #, фенилаланин #.

Обитают в кишечнике позвоночных и беспозвоночных животных, почве, сточных водах, органических остатках. Вызывают инфекции МВП и септические поражения ожоговых и хирургических больных. Типовой вид- *Proteus vulgaris*.

Растут на простых средах. Т диапазон- 10-43°C, оптимум 37°C. Колонии в О-форме (неподвижные)- круглые, полупрозрачные, выпуклые, в Н-форме - дают сплошной рост- феномен роения. Подвижность ставят по Щукевичу. На среде Плоскирева - желтовато- розовые колонии, на Эндо - бесцветные. На жидкой среде - диффузный рост. Рост сопровождается гнилостным запахом.

Факторы патогенности.

-образование уреазы. Разлагают мочевину в качестве источника энергии с образованием хлорида аммония - вызывает местное воспаление, ↑ рН, что приводит к образованию кристаллов, камней, застою мочи.

-роящиеся бактерии (клетки вытянуты)- адгезия к паренхиме почечной ткани и эпителию мочевого пузыря. Характеризуются повышенным содержанием протеаз, уреазы и гемолизин. Наоборот, прямые клетки выделяются из гнойных экссудатов.

-гемолизины. На КА проявляются через 48 часов.

-маннозависимые и -независимые фимбрии- вызывают агглютинацию эритроцитов человека и животных.

-протеазы - нарушают структуру Ig A и G, ↑ проницаемость сосудов, дезаминируют аминокислоты.

Лекция № 4.4. Микробиология синегнойной инфекции.

***Pseudomonas aeruginosa*.**

Pseudomonas aeruginosa – синегнойная палочка. Входит в состав нормальной микрофлоры кожи человека. Выделяется из кишечника у 5% здоровых лиц, 30% госпитализированных.

У здоровых лиц выявляют на коже паха, подмышечных областей, ушей (до 2%), на слизистой носа (3%), глотки (до 7%), В ЖКТ (3-24%).

Вызывает 15-20% всех ВБИ:

- нозокомиальные пневмонии- до 20%;
- инфекции МПС -1/3 урологических больных;
- гнойная хирургическая инфекция - 20-25%.

Резистентность. Выживает в:

- в воде до 1 года;
- длительно в растворах для хранения контактных линз, фурациллина;
- до 2 нед. в условиях анаэробноза

Чувствительна к:

- высушиванию
- действию хлорсодержащих веществ
- высокой Т, давлению (автоклавированию, кипячению).

Морфология и культуральные свойства.

Гр (-) палочки, имеют 1 или 2 полярно расположенных жгутика.

В мазках из чистой культуры бактерии расположены попарно, одиночно; из патологического материала - в цитоплазме фагоцитов.

Т диапазон – 4- 42°C, строгий аэроб. Характерна низкая потребность в питательных средах (жизнеспособны при полном отсутствии источников питания).

Образует слизь - крахмалоподобное вещество, покрывающее тонким слоем клетку - защита от фагоцитоза.

На жидких средах образует серовато- серебристую пленку, на плотных - плоские, неправильной формы, сливающиеся колонии. Наблюдается

феномен радужного лизиса.

Пигментообразование (70-80 % клинических изолятов):

- *пиоцианин* - окрашивает питательную среду, отделяемое ран, перевязочный материал в сине-зеленый цвет (палочка сине-зеленого гноя). Имеет свойства бактериоцина, действует на гр(-) и гр(+) бактерии, имеет фунгицидную активность.

- *флюоресцеин* – появляется при УФ – облучении.

- *пиорубин* (красный),

- *пиомеланин* (черно-коричневый - защита от действия изменений концентрации O₂ и УФ - лучей, бактерии переносят гипоксию при инфицировании глубоких тканей),

- *оксифеназин* (желтый).

Встречаются атипичные непигментированные штаммы – 8- 18% всех изолятов. Действие сопутствующей микрофлоры, антибиотиков, дефицит O₂.

Биохимическая активность.

Каталаза, оксидаза #.

Синтезирует триметиламин- запах жасмина.

Не нуждается в факторах роста.

Протеолитическая активность высокая: желатин разжижает, свертывает сыворотку крови, гидролизует казеин, утилизирует гемоглобин (зона β-гемолиза). Гидролизует аланин; лизин и орнитин не декарбоксилирует.

Сахаролитическая активность: окисляет только глюкозу (тест Хью-лейфсона в аэробных условиях).

Продуцируют пиоцины (бактериоцины). Используют для внутривидового типирования.

Токсинообразование.

Экзотоксины:

1. *Экзотоксин А*- термолабильный белок, ММ 66 кД. Расщепляется трипсином, панкреатической эластазой и под действием собственных ферментов. Для синтеза *in vitro* нужна хорошая аэрация и Т 32°C. Механизм действия - модификация белков через АТФ-рибозилирование. Мишень - фактор элонгации 2, ведет к нарушению организации белкового синтеза (как дифтерийный токсин). Проявления:

- общее токсическое действие

- отеки, некрозы,

- гипертензия с последующим коллапсом

- метаболический ацидоз, дыхательная недостаточность,

- паралич внутриклеточного синтеза белка

Гистологически: печеночно-клеточный некроз, геморрагические поражения легких, тубулярный некроз почек.

2. *Экзоэнзим S*- термостабильный белок. Вызывает глубокие патологические процессы в легких.

3. *Цитотоксин* - выраженное цитотоксическое действие на полиморфно-ядерные нейтрофилы (нейтропения).

4. *Гемолизины* - вызывают некротические поражения в печени и легких.

Эндотоксины

1. Эндотоксин и фактор проницаемости - термолабильный белок. Инфекция сопровождается диареей (шанхайская лихорадка).

Ферменты.

1. нейроминидаза - разрушает нейраминовые кислоты в соединительной ткани, в 2-3 раза усиливает действие других токсинов.

2. протеаза нейтральная (действие неизвестно).

3. протеаза II (эластаза)- расщепляет эластин, казеин, гемоглобин, фибрин, Ig, комплемент и др. белки.

4. протеаза III- гидролиз белков в т.ч. γ -интерферон, не расщепляет эластин. При в/в введении очищенного препарата- кровоизлияния во все внутренние органы, в/к - местные кровоизлияния.

5. коллагеназа - гидролиз коллагена в соединительной ткани (инфекционное поражение роговицы).

Антигенная структура.

- термостабильный O- Ag (комплекс ЛПС с белками и липидами КС).

Выделяют 20 серогрупп.

- термолабильный H-Ag. Выявляют только у жизнеспособных культур.

- капсульный K-Ag

- пилиарные Ag.

Синегнойная палочка является оппортунистическим патогеном, т.к. инфекция редко наблюдается у лиц с нормальной резистентностью и неповрежденными анатомическими барьерами.

Полирезистентность к АБ. Два механизма: блокада транспорта препарата к внутриклеточной мишени (капсулоподобная слизь) и синтез β - лактамазы, нуклеотидазы (инактивация аминогликозидов). Карбенициллин - через 3 года после создания препарата (1969 г.) появились устойчивые штаммы.

Препараты для лечения и профилактики ГВЗ (ИБП п. 2.18-2.34).

Лекция № 5. Заболевания, передающиеся половым путем.

Лекция № 5. 1. Микробиология гонореи. *Neisseria gonorrhoeae*.

Возбудитель гонореи – *Neisseria gonorrhoeae*.

Путь заражения:

- половой;
- при прохождении через родовые пути;
- бытовой (не соблюдение правил личной гигиены);

Тропизм возбудителя к эпителию:

- уретры
- прямой кишки
- конъюнктивы (бленнорея новорожденных):
- глотки
- шейки матки, маточной трубы, яичника.

Морфология.

В свежих культурах - неподвижные аспорогенные диплококки, окруженные капсулой. Характерен полиморфизм: встречаются крупные и мелкие клетки, иногда палочковидной формы. Грам (-). Образуют L-формы, в т.ч. под действием пенициллина. При действии АБ быстро меняют свои свойства, становятся Гр (+). Выделено более 30 ауко типов, системные инфекции вызывает АНУ.

Культуральные свойства.

Требовательны к питательным средам. Для роста требуется свежая влажная среда с добавлением белков крови, сыворотки, асцитической жидкости. При длительном культивировании образуют дочерние колонии. На жидких средах: диффузный рост с образованием пленки, через несколько дней оседающей на дно.

Оптимум Рн: 7.2-7.4, Т- 37°C. Строгие аэробы.

Разлагают глюкозу с образованием кислоты, оксидаза-, каталаза - #.

Протеолитические свойства не выражены: аммиак, индол, сероводород,

гемолиз (-). На средах с молоком, желатином, картофелем не растут.

Изменчивость.

1. Колонии гонококков, содержащиеся в КС протеин II- мутные, бесцветные; не содержащие протеин II- прозрачные (капли росы).
2. Мелкие колонии типов R⁺ и R⁺⁺ (T1 и T2) имеют пили, ↑ вирулентны, свежесделанные культуры окружены капсулой. Крупные колонии R⁻ (T3 и T4) не имеют пилей, ↓ вирулентные. Образуются при длительном культивировании на неселективных средах.

Антигенная структура.

Неоднородная, меняется в дочерних популяциях. Вариации изменения АГ структуры:

- фазовые – изменение или прекращение образования некоторых детерминант.
- антигенные - включения новых детерминант (присоединение молчащих генов к образующейся копии, приобретение ими регуляторных свойств, участие их в матричном синтезе, что приводит к появлению пилей с новой АГ структурой).

1. капсула - имеет иммуногенные свойства. АГ к ней стимулируют фагоцитоз гонококков.
2. пили - состоят из цепочек белковых субъединиц (каждый пилевый филамент содержит 10 тыс.б. с.). Нарушение последовательности их соединения изменяет АГ свойства. Генетически опосредованная вариабельность строения пилей позволяет прикрепляться и выживать гонококкам при смене хозяев и воздействии АТ.
3. ЛПС- состоит из липида А и центрального ядра, без боковых цепей. Структура ядра может меняться от условий окружающей среды. ЛПС - сильный иммуноген, на него вырабатывается основной пул Ig.
4. белки клеточной стенки-сильные иммуногены; выделяют 16 серотипов. АГ к ним в присутствии комплемента проявляют бактерицидные свойства. Наружная мембрана состоит из ЛПС и 3-х слоев с протеинами I,II,III классов.

Протеины I класса обуславливают устойчивость к бактерицидным факторам слизистых оболочек, инвазию, вызывают системные инфекции.

II –го класса - вызывают адгезию к эпителию, блокируют фагоцитоз.

Вариабельность протеинов детерминирована в нескольких генах, что вызывает ↑ частоту АГ вариаций.

5. высокая способность к трансформации на любой стадии роста, может происходить на протяжении периода жизни I популяции.
6. имеются R-плазмиды (устойчивость к АБ) и F(стимулирующие конъюгацию).

Факторы патогенности.

1. Капсула. Имеют все свежевыделенные культуры. Непрочно соединена с клеткой. Проявляет антифагоцитарные свойства - защищает КС от контакта с ХП, маскирует АГ детерминанты.
2. Пили - адгезия к клеткам эпителия слизистых, эритроцитам, сперматозоидам, культуре клеток. Определяют резистентность к фагоцитозу лейкоцитами, перитонеальными макрофагами и к БАС. Отсутствуют у авирулентных штаммов.
3. ЛПС - адгезия и эндотоксичность.
4. Белки наружной мембраны – адгезия на ворсинках цилиндрического эпителия и проникновение внутрь клеток слизистой уретры, а у женщин и эндоцервикального канала. Барьер для проникновения АБ и гидролитических ферментов
5. Ig A- протеаза - действует внеклеточно, расщепляет молекулу Ig A в шарнирной области. Блокирует местный иммунитет, облегчает прикрепление гонококков к рецепторам эпит. клеток, защищает от фагоцитоза, опосредованного АТ.
6. Нарушение регуляции образования каталазы и подавления активности эндоперекисей в эндосомах - способность выживать и реплицироваться в фагоцитах.
7. штаммы АНУ+ (чувствительны к пенициллину, нуждаются в аргенине, гипоксантине, урациле). Устойчивы к бактерицидному действию сывороточных АТ (М и G) и комплементу. Некоторые штаммы включают в терминальный участок олигосахарида сиаловые кислоты, которые являются компонентом поверхности эритроцитов. Гематогенная диссеминация отмечается у 1% больных. У женщин, в отличие от мужчин, заболевание часто протекает бессимптомно - лечение не проводят.

Резистентность.

Не устойчивы к внешним воздействиям: гибель вызывают прямые солнечные лучи, УФ, высушивание, ↑ Т (40°C), соли серебра, ртути, дезинфектанты.

Клиника.

Острый уретрит, цервицит, поражение шейки матки и придатков у женщин, у мужчин – поражение семенных пузырьков, предстательной железы, Экстрагенитальная локализация возбудителя - поражение прямой кишки и миндалин, бленорея у новорожденных (от больных матерей при прохождении родовых путей).

Диссеминирование возбудителя вызывает пельвиоперитонит, менингит, артрит, эндокардит, септицемию.

В настоящее время отмечают удлинение инкубационного периода и уменьшение выраженности клиники. Причина - самолечение с применением современных АБ, возрастание устойчивости гонококков к ряду препаратов, передача при половом пути заражения с «пакетом» ассоциированных инфекций: трихомонады, вирусные инфекции (ВПГ, ЦМВ), уреоплазмы, микоплазмы. Строгий антропоноз, но по некоторым источникам, гонококки встречаются на слизистых млекопитающих. У мелких лабораторных

животных в/б введение вызывает гибель.

Иммунитет.

- гуморальный, но АТ не имеют протективных свойств;
- к вторичным заражениям не вырабатывается;
- врожденная невосприимчивость отсутствует;
- возможны супер- и реинфекции;
- фагоцитоз носит незавершенный характер;
- гонококковая вакцина неэффективна из-за высокой антигенной изменчивости. Её используют для лечения больных с осложнениями или для диагностики (провокация).

Лабораторная диагностика.

- забор материала проводит лечащий врач;
- за 2-3 суток не применяют АБ и дезинфицирующие препараты;
- воздерживаются от мочеиспускания в течение 4-6 часов;
- проводится провокация гонококковой вакциной.

1. микроскопический метод. Окраска метиленовым синим и по Граму. Эффективен при о. гонорее. В мазках - лейкоцитоз, незавершенный фагоцитоз - диплококки расположенные внутриклеточно: в полиморфно-ядерных лейкоцитах, в слизи и в эпителиальных клетках. При хр. гонорее выявляются гонококки неодинаковой формы и величины, гр (+).

2. бакпосев: материал засевают на твердые питательные среды, инкубируют в капнофильных условиях (при повышенном содержании CO₂). Рост колоний через 1-8 суток: гр (-), каталазоположительные диплококки, ферментирующие глюкозу. При заборе используют транспортную среду Стюарта.

3. РИФ.

4. серологический метод: реакция Борде- Жангу (РСК)- положительна с 3- 4 недели болезни. При о. гонорее реакция положительная у 35% больных, при хронической - у 65%.

5. ПЦР.

Профилактика.

- специфическая не разработана.
- новорожденным в конъюнктиву вводят 2% нитрат серебра или 3% масляный р-р пенициллина.

Лечение.

- макролиды, фторхинолоны, аминогликозиды.
- 78% штаммов не чувствительны к пенициллину и 98% - к тетрациклину (Смоленская область 2003г).
- вакцина гонококковая (ИБП п. 2.17).

Лекция № 5. 2. Микробиология сифилиса.

***Treponema pallidum*.**

Возбудитель сифилиса – хронического венерического заболевания с переменным и циклическим течением. Род *Treponema*

Вид *Treponema pallidum* подвида *pallidum*.

Морфология.

- спирально завитые бактерии длиной 5- 20 мкм;
- число завитков 8-12-14, равномерные, расположены друг от друга на одинаковом расстоянии ≈ 1 мкм. Высота их по направлению к концам уменьшается;
- очень подвижны: винтообразное, сгибательное, поступательное движение;
- образуют L- формы;
- размножаются поперечным делением;
- Гр (-);
- плохо окрашиваются анилиновыми красителями;
- время деления ≈ 30 часов;
- в неблагоприятных условиях образуют цисты.

Культуральные свойства.

Хемоорганотрофы, метаболизм бродильный, факультативный анаэроб. Каталаза-, оксидаза -, уреазы - отрицательны.

- прихотливы, практически не растут на искусственных средах.
- выращивают в анаэробных условиях при $T 35^{\circ}$:
 - а) на печеночном бульоне с добавлением кусочков печени и яичек кролика;
 - б) на бульоне из бычьего сердца с тиогликолятом натрия;
 - в) МПБ с добавлением кроличьей, лошадиной, человеческой сывороткой;
 - г) в глубине асцитического агара;
 - д) наилучший способ- заражение кролика в яичко.

Рост колоний на 3-5 сут. Эти штаммы применяют для изготовления АГ для серодиагностики.

Резистентность.

- неустойчива во внешней среде, гибнет при высыхании.
- на матерчатых тканях на холоде до 50 сут., в крови при 4°C 24 часа.
- 40°C 1 час - утрачивает патогенные свойства, 48°C 10 мин – гибель.

Аг структура.

- плохо изучена. Экзотоксины не образуют. Трепонема вызывает образование специфических АТ, которые иммобилизуют возбудитель.
- также образуются неспецифические продукты реактинового типа (вассермановские АТ М и G), реагирующие с липидами клеток млекопитающих.

Эпидемиология.

В Европе заболевание регистрируется с 1493 г., после открытия испанцами Нового Света. Название «сифилис» от имени пастуха Сифилуса в поэме (1525г), где была описана клиника заболевания. Другое название - «Lues Venerea» - «любовная чума».

Возбудитель выделен в 1905 г Шаудином и Хофманном, экспериментально подтверждено Мечниковым и Ру.

- резервуар инфекции- больной человек.

- путь передачи:

а) половой;

б) контактный (при поцелуях);

в) трансплацентарно (не проникает через плаценту в первые 4 мес беременности: можно лечить мать для предупреждения инфицирования плода);

г) при прохождении по родовым путям;

д) через препараты крови, инструментарий, порезы кожи медперсонала

е) опасны лица на ранних стадиях болезни, в III - IV стадиях они теряют свою инфекционность (в среднем через 4 года после заражения).

Патогенез.

- Т. проникают через слизистые оболочки, микротравмы кожных покровов;

- мигрирует по л/сосудам в л/узлы, затем поступает в кровоток и генерализованно диссеминирует;

- в начале резистентность организма низкая (возбудитель проникает в ткани), затем возрастает, ограничивает его распространение, но полностью не элиминирует;

- у лиц ↑ резистентностью развиваются гранулематозные поражения в различных тканях, с ↓ - церебральные поражения.

Клиника.

-и.п.- в среднем 21-24 дня (нелеченый), но может варьировать от 10 до 90 дней.

I стадия болезни начинается с момента появления первичного аффекта (твердый шанкр) в месте внедрения возбудителя - слизистые и кожа половых органов, слизистая полости рта, поврежденная кожа. Образуется язва с уплотненным центром, края выше основания, дно плоское, ровное, покрыто сероватым налетом.

-через 7-10 сут.- регионарный лимфаденит.

-на 5-6 нед. – полиаденит (генерализованная спирохетемия).

-в первые 3 нед заболевания реакция фон Вассермана отрицательная (первичный серонегативный сифилис), АТ появляются с 4 неделе (первичный сероположительный сифилис).

II стадия заболевания наступает через 6-7 недель после появления твердого шанкра. Характерный синдром - пятнистые, розеолезные, пустулезные высыпания (сифилиды) на коже – вторичный «свежий» сифилис. Поражаются стенки сосудов – сыпь. Высыпания периодически исчезают (латентный период) за счет иммунных реакций, направленных на уничтожение возбудителя. Часть трепонем сохраняется в л/у и во внутренних органах, высыпания появляются вновь (в меньших количествах)- вторичный рецидивирующий сифилис. На протяжении II стадии может быть несколько рецидивов – вторичный «рецидивирующий» сифилис. Это фаза генерализованной спирохетемии с поражением внутренних органов и нервной системы. Прогноз более тяжелый:

25% больных излечиваются;

у 25% - переходит в латентную фазу;

у 50%- в III стадию.

III стадия развивается при отсутствии лечения - через 3-4 года. Образуются гранулемы в кожных покровах, различных органах и нервных тканях (гуммы). Гуммы склонны к распаду и рубцеванию (висцеральный сифилис). В них трепонем мало, больные неинфекционны, но опасны лица с локализацией гранул в полости рта или на половых органах.

Нейросифилис - развивается через 8-15 лет при отсутствии лечения. Поражение ЦНС - спинная сухотка, сифилис мозга, прогрессирующий паралич.

Врожденный сифилис ранний (после рождения) и поздний (через 5-15 лет).

Иммунитет.

Нестерильный, т.е. пока в организме присутствует возбудитель, человек не восприимчив к повторному заражению. «Шанкерный иммунитет» появляется через 10-12 дней после появления твердого шанкра.

Инфекционный иммунитет гуморальный: Ig M и G. Развивается ГЗТ, но слабовыражено.

Лабораторная диагностика.

На I стадии:

1. микроскопия отделяемого твердого шанкра. Материал берут из глубины язвы.

- темнопольная (количество завитков, их высота, подвижность).

Дифференцируют с сапрофитическими трепонемами;

- метод серебрения по Морозову. *Treponema pallidum* выглядит черной или темно-коричневой. Мазки фиксируют высушиванием и 4% формалином; спирт разрушает оболочку;

- по Романовскому – Гимза - розовое окрашивание, непатогенные трепонемы – в фиолетовый или синий цвет;

- по Бури (вместо туши используют опаловый синий).

2. серологические реакции (с 4 нед. заболевания)

- РСК (реакция Вассермана) с несколькими АГ:

а) кардиолипиновым - экстракт вытяжки сердца быка; неспецифически взаимодействует с реакинами – Ig M и G. Реагины появляются у больных сифилисом, у лиц с нарушением липидного обмена (беременные, алкоголики, больные циррозом печени, сахарным диабетом). Реакция с этим АГ может быть ложноположительной, но никогда - ложноотрицательной. Реакция не специфическая.

б) трепонемным - возбудитель культивируют в яичке кролика. Реакция специфична.

В комплекс серологических реакции (КСР) включены

- VDRL - реакция флоккуляции с использованием кардиолипид-лецитин-холестеринового АГ (р. Канна и цитохоловая реакция) – неспецифическая реакция.

- РИБТ – реакция иммобилизации бледной трепонемы. Трепонемы теряют подвижность после инкубирования с сывороткой больного в течение 18 часов. Реакция специфическая.

- непрямая РИФ – сыворотку больного инкубируют с АГ *T. pallidum* 30 мин при T 37°C и вносят антисыворотку к человеческим Ig, меченную флюоресцеином. Положительная реакция - светящиеся трепонемы.

- ИФА по выявлению Ig G и M.

- РПГА.

Лечение.

- препараты ртути, мышьяка, висмута (со времен Парацельса).

- производные арсенобензола - сальварсан, неосальварсан.

- пенициллины, тетрациклины.

- при третичном сифилисе лечение симптоматическое.

Трепанематозы:

Эндемичные очаги во всех тропических регионах. Путь передачи – контактный, через поврежденные кожные покровы, возможен - половой.

-фрамбезия- *T. pallidum* подвид *pertenue*;

-беджил- *T. pallidum* подвид *bejel*;

-пинта *T. pallidum* подвид *carateum*.

Вопросы к итоговому занятию по теме «Кокковые, анаэробные инфекции, ГВЗ».

1. Классификация стафилококков.
2. Морфология, культуральные, биохимические свойства стафилококков.
3. Факторы патогенности стафилококков: адгезия, ферменты, факторы угнетающие фагоцитоз, аллергизирующие свойства.
4. Экзотоксины стафилококков и их действие. Мембраноповреждающие, истинный лейкоцидин, эксфолиативный токсин, СТШ.
5. Энтеротоксины золотистого стафилококка. Свойства.
6. Методы обнаружения энтеротоксина золотистого стафилококка.
7. Бактериологический метод диагностики стафилококкового сепсиса.
8. Бактериологический метод диагностики стафилококковой инфекции.
9. Препараты для профилактики стафилококковой инфекции (анатоксин стафилококковый адсорбированный).
10. Препараты для лечения стафилококковой инфекции (бактериофаг стафилококковый, вакцина стафилококковая, антифагин стафилококковый).
11. Препараты для иммунотерапии стафилококковой инфекции (анатоксин стафилококковый очищенный, иммуноглобулин стафилококковый человека)
12. Стрептококки. Морфология, культуральные свойства

13. Классификация стрептококков (по отношению к эритроцитам).
14. Антигенная структура стрептококков.
15. Признаки отличающие стрептококков группы Д (энтерококки) от стрептококков группы А.
16. Факторы патогенности стрептококков.
17. *Streptococcus pneumoniae* . Морфология, культуральные свойства. Антигенная структура.
18. Этиология скарлатины. Работы Савченко И.Г. и супругов Дик.
19. Скарлатина. Этиология, патогенез, клиника.
20. Определение титров антистрептолизина в диагностике стрептококковой инфекции.
21. Морфология и культуральные свойства менингококков.
22. Клинические формы менингококковой инфекции.
23. Антигенное строение менингококков.
24. Факторы патогенности менингококков.
25. Специфическая профилактика менингококковой инфекции.
26. *Neisseria gonorrhoeae*. Морфология, культуральные свойства.
27. Факторы патогенности гонококков.
28. Эпидемиология, патогенез, клиника гонореи.
29. Методы диагностики гонореи.
30. Гонококковая вакцина. Применение.
31. Вакцина ВП-4.
32. Культуральные свойства синегнойной палочки.
33. Факторы патогенности синегнойной палочки.
34. Препараты для лечения синегнойной инфекции (плазма синегнойная человеческая, плазма антисинегнойная антитоксическая, бактерифаг синегнойный).
35. Препараты для профилактики синегнойной инфекции (вакцина

- синегнойная поливалентная корпускулярная, анатоксин синегнойной палочки).
36. Морфология, культуральные, биохимические свойства клебсиелл.
 37. Факторы патогенности клебсиелл.
 38. Род *Proteus*. Морфология, культуральные, биохимические свойства.
 39. Факторы патогенности протей.
 40. Препараты для профилактики и лечения протейной инфекции (вакцина протейная из антигенов, бактериофаг протейный, плазма противопротейная).
 41. Препараты для лечения и профилактики инфекции, вызванной *E.coli* (бактериофаг коли - жидкий, бактериофаг коли-протейный, Ig человека нормальный).
 42. Возбудители газовой гангрены. Морфология, биохимические свойства.
 43. Экзотоксин газовой гангрены. Свойства, механизм действия.
 44. Бактериологический метод диагностики анаэробных инфекций.
 45. Биологический метод диагностики газовой гангрены.
 46. Препараты для лечения и профилактики газовой гангрены (сыворотка противогангренозная поливалентная).
 47. Методы создания анаэробных условий для культивирования бактерий.
 48. Морфология, культуральные свойства *Clostridium tetani*.
 49. Факторы патогенности столбняка.
 50. Эпидемиология, патогенез, клиника столбняка.
 51. Биологический метод диагностики столбняка. Клиника столбняка у мелких лабораторных животных.
 52. Вакцина АКДС. Состав. Схема плановой вакцинации.
 53. Экстренная профилактика столбняка.
 54. Резистентность спор и токсина клостридий ботулизма.
 55. Факторы патогенности *Clostridium botulinum*.
 56. Лабораторная диагностика ботулизма.

57. Лечение и профилактика ботулизма.
58. Бактероиды. Морфология, культуральные свойства.
59. Морфология возбудителя сифилиса.
60. Строение спирохет.
61. Первичный сифилис. Диагностика.
62. Реакция Вассермана (RW). Компоненты, механизм.
63. Фаготипирование стафилококков.

Глава 2. Кишечные инфекции.

Лекция № 6. Диареегенные эшерихии. Дисбактериоз.

Э (эшерихии) – самостоятельный род в сем. Enterobacteriaceae. В 1885г Т. Эшерих выделил микроб от больного диареей ребенка. В настоящее время род объединяет 6 видов:

Escherichia coli;

E. adecarboxylata;

E. blattae;

E. hermanii;

E. vulneris;

E. fergusonii;

наибольшее значение имеет *E.coli*.

Медицинское значение кишечной палочки.

- вызывает ГВЗ, ГСЗ;
- возбудитель диареи (эшерихиозов);
- является санитарным показателем фекального загрязнения объектов внешней среды (воды, поверхностей, пищевых продуктов, почвы);
- является нормальной микрофлорой кишечника.

Морфология.

Мелкие подвижные и неподвижные грам (-) палочки, спор не образуют, нередко имеют капсулу или микрокапсулу.

Биохимические свойства.

Аэробы или факультативные анаэробы;

Температурный оптимум 37С;

Ферментируют глюкозу и другие углеводы с образованием кислоты или

кислоты и газа;

Лактозу ферментируют (lac+) или не ферментируют (lac -);

Оксидаза - отрицательны;

Каталаза - положительны;

Реакция Ф-Р отрицательна;

Сероводород не образуют;

Уреазная активность отсутствует;

Желатин не гидролизуют.

Устойчивость к факторам внешней среды.

Сохраняются во внешней среде до нескольких месяцев.

Чувствительны к дезсредствам в обычной концентрации.

При 55°C гибнут через 1 час, при 60°C – через 15 мин.

Рост на средах.

- на плотных средах образуют опалово-мутные S-колонии, 0,3-0,5 см в диаметре;

- иногда образуют R (шероховатые) и M (слизистые) колонии;

- на жидких средах растут диффузно с образование осадка или пленки или пристеночного кольца;

- на среде Эндо образуют красные колонии с металлическим блеском (ферментирующие лактозу) или бледно-розовые колонии (не ферментирующие лактозу);

- на среде Левина - темно-синие колонии (lac+) или бесцветные (lac -);

- на среде Плоскирева – красные колонии (lac+) и бесцветные (lac -);

- на кровяном агаре могут давать гемолиз.

Антигенная структура

Патогенные и непатогенные кишечные палочки морфологически, культурально, биохимически не отличаются. Дифференцировка основана на структуре поверхностных Аг.

По O – Аг выделяют 171 вариант,

По H - Аг – 57 вариантов,

По K - Аг – 90 вариантов.

Ведущее типирование осуществляют по O-Аг, специфичность определяется ЛПС.

H-Аг термолабильный, разрушается при 60°C.

K-Аг подразделяется на три группы:

А – разрушается при 100°C в течение 2 часов;

В - разрушается при 90°C

L - разрушается при 60°C.

K - Аг образуют кислые полисахариды, редко протеины. Маскирует O-Аг, приводит к O-инагглютинабельности.

O-Аг определяет серогруппу, H-Аг – серовариант.

Факторы патогенности.

Различают 4 фактора патогенности:

1. Факторы адгезии и колонизации. Кодированы плазмидными генами.

- CFA I-VI – фактор колонизации. Имеют фимбриальную структуру.

- EAF – фактор адгереции (адгезии) - выявляется по способности прикрепляться к клеткам Нер -2. Это белки наружной мембраны.

- фактор адгезии (выявляется по способности прикрепляться к клеткам Henle -407). Фимбриальная структура. Контролируется плазмидными генами. Иногда функцию адгезина выполняет ЛПС.

2. Факторы инвазии. Отвечают за проникновение в эпителиальные клетки кишечника, размножение и разрушение их. Роль – белки наружной мембраны, кодируются плазмидой.

3. Экзотоксины.

- *цитотонины* – термолabileные LT (I и II) и термостабильные ST (I и II) энтеротоксины. Молекула LT токсина состоит из 2 фрагментов А и В. Фрагмент В состоит из 5 одинаковых субъединиц. Функции: соединяется с рецептором клетки (Gm- ганглиозидом) и формирует внутримембранный канал. Фрагмент А состоит из 2 пептидных цепей: А1 – собственно токсин и А2 – связывает А1 и В. Токсин А активирует в клетке аденилатциклазу, что приводит к гидролизу АТФ и накоплению циклического АМФ, который вызывает нарушение водно-солевого баланса. Происходит гиперсекреция клетками кишечника жидкости, содержащей Na, K, Cl, бикарбонаты – развивается диарея. Рецептором ST- токсина является белок мембраны энтероцита, ST повышает проницаемость капилляров, вызывает накопление цГМФ, что ведет к диарее.

- *цитотоксины*. Различают 2 типа SLT (шигаподобный токсин): I и II. Синтез токсинов контролируется умеренными конвертирующими фагами (tox- гены) вызывает повреждение поверхности эпителия с образованием эрозий и умеренного воспаления и разрушает эпителий мелких кровеносных сосудов. Образование сгустков крови, выпадение фибрина приводит к нарушению кровообращения, ишемии, некрозу. Клинически – в кале слизь и кровь.

4. Эндотоксины - ЛПС. Определяют Ag специфичность бактерий, форму колоний (S в R), эндотоксикоз.

На степень тяжести заболевания влияет наличие дополнительных плазмид:

Col – синтез колицинов;

R - устойчивость к АБ;

Hly - синтез гемолизина;

F - конъюгативные свойства;

Ent - синтез энтеротоксинов.

От наличия тех или иных факторов патогенности диареегенные эшерихии разделяют **на 5 категорий:**

- **ЭПКП** – энтеропатогенные. Входят 9 серогрупп 1 класса и 4 серогруппы 2 класса. Имеют ФП: EAF, адгезии (к клеткам Нер -2), SLT. Основные возбудители диареи у детей. Все серотипы имеют плазмиду – фактор адгезивности. Заболевание протекает тяжело, продолжается 2 и более недель.

- **ЭТКП** – энтеротоксигенные. Входят 17 серогрупп. ФП: CFA I, II, IV; LT или ST. В слаборазвитых странах – основные возбудители гастроэнтеритов у детей младшего возраста.

В развитых странах – причина «диареи путешественников», гастроэнтеритов. Частые возбудители O-153, O-25;

- **ЭИКП** – энтероинвазивные. Входят 9 серогрупп. ФП: инвазии, кодируются хромосомными и плазмидными генами. Неподвижные, не ферментируют лактозу. Клиника напоминает шигеллезы: абдоминальные боли, профузный понос с кровью. Частые возбудители O-143, O-144;

- **ЭГКП** – энтерогеморрагические. Входят 4 серогруппы. ФП: адгезии (к клеткам Henle -407), SLT I и II. Вызывает геморрагический колит, гемолитико – уремический синдром. Частые возбудители O-157, O-26. Часто letalis.

- **ЭАКП** – энтероадгезивные (адгерентные). ФП: адгезия (к клеткам Her-2), нет цитотоксинов, нет факторов инвазии, плазмидного фактора адгезии.

Эпидемиология.

Механизм передачи - фекально-оральный;

Путь передачи - алиментарный, водный, контакт с животными. В закрытых коллективах – основной путь – контактно-бытовой.

Природный резервуар неизвестен. Циркулируют в кишечнике животных (КСР).

В слабо развитых странах – основные возбудители гастроэнтеритов у детей младшего возраста.

В развитых странах – причина «диареи путешественников», гастроэнтеритов. В основном болеют дети 1-3 лет, подростки и взрослые.

Лабораторная диагностика.

1. Бактериологический метод.

1 день. Посев испражнений на дифференциально-диагностическую среду Эндо. Морфология, культуральные, биохимические свойства одинаковые с нормальной E. coli. Отличаются только по Ag структуре.

2 день. Через 24 часа с чашки Эндо агглютинируют не менее 10 колоний с поливалентной сывороткой ОКА, содержащей АТ к 23 К-Аг. При # реакции остатки колонии отсеивают на скошенный МПА для накопления и сохранения чистой культуры. **РА см. стр 93-98 учебного пособия к практическим занятиям по общей микробиологии.**

3 день. С косяка МПА проводят агглютинацию на стекле с сывороткой ОКА (повторно), при #, с сыворотками ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД, ОКЕ, входящими в состав ОКА. Если с одной из них реакция #, то агглютинируют с моновалентными адсорбированными сыворотками или иммуноглобулином, входящими в состав данной группы (содержат О- и К – Аг). При # реакции ставят развернутую пробирочную реакцию агглютинации с «живой» и «гретой» культурой.

К-Аг состоит из 3 фракций: L – разрушается при 60-90°C;

В – при 90-100°C;

А – 100°C 1 час;

Культуру в физ. растворе делят на 2 части. Первую часть кипятят 1 час,

чтобы разрушить Н- и К-Аг, остается только О-Аг. Вторую часть не обрабатывают – есть все 3 Аг. Готовят 2-кратные разведения агглютинирующей сыворотки в 2 рядах пробирок. В первый ряд вносят «гретую» культуру, во второй – «живую». Учет через 24 часа. С иммуноглобулинами ставят только реакцию агглютинации на стекле с «живой» культурой. Ставят «пестрый ряд» Гисса для изучения б/х свойств, чувствительность к антибиотикам, коли-протейному фагу (КПФ).

4 день. Реакция #, если в 1 ряду пробирок («гретая») есть агглютинация не менее, чем до половины титра, указанного на этикетке с сывороткой. Выдача ответа.

2. ПЦР.

Серологический метод не применяется, т.к имеются перекрестные АТ с нормальными эшерихиями.

Лечение.

1. КПФ, бактериофаг коли (ИБП п. 2.24-2.26);
2. Интестибактериофаг (ИБП п. 2.23).
3. Антибиотики с учетом резистентности;
4. Дегидротационная терапия: р-р Регидрона.

Дисбактериоз – изменение качественного и количественного состава нормальной микрофлоры кишечника.

Причины развития дисбактериоза:

- перенесенные кишечные инфекции;
- нерациональная антибиотикотерапия;
- применение химио- и радиолечения;
- нарушение нормального питания, в т.ч. диеты;
- пожилой возраст;
- соматические заболевания, особенно ЖКТ (панкреатит, гепатит, холецистит, гастрит, колит, ЯБЖ и ДК и др.);

Состав микрофлоры толстого кишечника:

1. строгие анаэробы не образующие спор: грамположительные (бифидумбактерии) и грамотрицательные (бактероиды). На их долю приходится 96-99% всей микрофлоры;
2. факультативные анаэробы – кишечная палочка, энтерококки, лактобактерии. Их доля составляет 1-4%;
3. остаточная микрофлора - стафилококки, протей, дрожжи, клостридии, синегнойная палочка. Составляют 0,01-0,001%;
4. различные представители семейства энтеробактерий - сальмонеллы, шигеллы, род *Enterobacter* и т.д.

Роль микрофлоры толстого кишечника:

1. фактор естественной резистентности организма, т.к. проявляет антагонистическую, колонизационную активность к патогенным бактериям. Препятствует их размножению;

2. формирует местный иммунитет, стимулирует развитие лимфоидной ткани;

3. участвует в процессах пищеварения, обмене холестерина и желчных кислот;

4. синтезирует витамины группы В (В1, В2, В6, В12), витамин К, никотиновую, пантотеновую, фолиевую кислоты.

Принципы лечения дисбактериоза – ИБП стр.45-46.

Препараты для коррекции кишечной микрофлоры (ИБП п. 3.11-3.27).

Лекция № 7. Микробиология дизентерии, иерсиниозов.

Лекция № 7.1. Микробиология дизентерии. Род *Shigella*.

Дизентерия – инфекционное заболевание, характеризующееся общей интоксикацией, поносом и язвено – некротическим поражением дистальных отделов толстого кишечника.

Род *Shigella* выделили *Кастелани* и *Чалмерс* (1919). Назван в честь *Киёси Шига*.

1888г – начал изучать *Видадь*;

1891г - *Григорьев А.В.* выделил чистую культуру;

1898г – *Шига* изучил возбудитель и получил сыворотку;

1900г – *Флекснер*;

1915г - *Зонне*;

1917г – *Штуцер* и *Шмитц*;

1934г – *Лардж*;

1943г – *Сакс*;

1942г – *Бойд*;

1943г – *Новгородская Э.М.*

Морфология.

Короткие, неподвижные, грамотрицательные палочки, не образующие спор и капсулу.

Хорошо растут на простых питательных средах. Не растут на средах с цитратом и малонатом;

Сероводород не образуют;

Реакция Фогес-Проскауэра (-);

Биохимически не активны. Лактозу не ферментируют. Ферментируют глюкозу с образованием только кислоты (кроме некоторых б/в *S. flexneri* б);

Желатин не гидролизуют;

Каталаза (+);

Лизин (-);

Фенилаланин (ФА) (-);

Факультативный анаэроб, температурный оптимум 37°C, выше 45°C не растут, рН 6,7-7,2.

Культуральные свойства.

Рост колоний:

1. на плотных средах - круглые, выпуклые, прозрачные, в случае диссоциации образуют шероховатые R- формы. На Эндо – Лас-.

2. на жидких средах – диффузный рост (помутнение). Шероховатые культуры дают осадок.

S. sonne образуют колонии 2 типов:

- колонии I фазы - гладкие, выпуклые, вирулентные. Имеется плаزمид.

- колонии II фазы – шероховатые, плоские, крупные, авирулентные (плазмид утрачена).

Классификация.

Межвидовое различие определяется:

1. б/х свойствами (отношение к манниту и глюкозе);

2. АГ структурой.

Существует 4 вида шигелл:

Группа А – *S. dysenteriae* (не ферментируют маннит)

Группа В - *S. flexneri*

Группа С - *S. boydii*

Группа Д - *S. sonne*.

Группы В-Д расщепляют маннит. *S. sonne* медленно, на 2-4 сутки ферментирует лактозу.

S. dysenteriae - различают 12 сероваров. Наиболее патогенен серовар 1 (Григорьева – Шига), единственный, который продуцирует мощный экзотоксин; серовар 2 – Штуцера-Шмитца; серовар 3 – Лардж – Сакса.

S. flexneri – имеет сложное антигенное строение:

6 типовых АГ (плюс Х и Y) – *S.* подразделяются на серовары;

4 групповых АГ в разных составах - *S.* подразделяются на подсеровары.

S. flexneri б ферментирует глюкозу с образованием КГ.

S. boydii – по типовым АГ различают 18 сероваров. Иногда продуцируют индол.

S. sonne – один вид. АГ строение одинаковое, на серовары не подразделяется (или 1 серовар).

Типирование.

1. По биохимической активности:

S. sonne подразделяется на 4 биохимических типа по ферментации рамнозы, ксилозы, мальтозы.

S. flexneri наиболее биохимически активна. Подразделяется на 3 ферментативных типа по ферментации глюкозы, маннита и дульцита: Бойд

88, Манчестер, Ньюкастл.

2. Фаготипирование.

3. **Колицинотипирование** – определяют чувствительность шигеллы к определенным колицинам. **Колициногенотипирование** – определяют способность продуцировать определенный тип колицина.

Резистентность.

Устойчивы во внешней среде:

На х/б ткани и бумаге сохраняется до 36 дней;

В высушенных испражнениях – 4-5 месяцев;

В почве – 4 мес;

В воде – от 2 недель до 3 месяцев;

На фруктах, овощах – 2 недели;

В молоке и молочных продуктах – несколько месяцев;

Погибает при 60°C через 15-20 минут;

Чувствительны к дезинфектантам.

Факторы патогенности.

Способны внедряться в эпителиальные клетки, размножаться, вызывать их гибель.

Определяют:

- в керато-конъюнктивальной пробе на морской свинке;
- при заражении культуры клеток – цитотоксическое действие;
- при заражении куриных эмбрионов – гибель;
- при интраназальном заражении белых мышей – пневмония.

3 группы факторов патогенности:

I. Взаимодействие с эпителием слизистых оболочек – **факторы адгезии и колонизации** – пили, ЛПС, белки наружной мембраны, ферменты патогенности – нейроминидаза, гиалуронидаза, муциназа;

II. **Устойчивость к гуморальным и клеточным механизмам защиты**, способность шигелл проникать в энтероциты, размножаться в них и макрофагах, оказывать цитотоксический и энтеротоксический эффект. Эти свойства контролируются плазмидой, кодирующей синтез наружной мембраны (инвазия) и хромосомными генами *kcr A* (кератоконъюнктивит), *сут* (разрушение клеток). Защита от фагоцитоза – *K-Ag*; *Ag -3,4*; ЛПС. Липид *A* – иммуносупрессивное действие.

III. Способность продуцировать токсины:

- эндотоксин (ЛПС) оказывает общую интоксикацию;
- токсин Шига (нейротоксин) оказывает прямое цитотоксическое действие- *S. dysenteriae 1*;
- 2 типа шигаподных токсина (*SLT-I* и *SLT-2*). Повреждают поверхность эпителия с образованием эрозий и умеренного воспаления.
- энтеротоксин (*LT*). Стимулирует активность аденилатциклазы, что ведет к накоплению цАМФ, нарушению водно-солевого обмена и диареи. Контролируется плазмидными генами.

S. sonnei имеют плазмиду, отвечающую за вирулентность и образование колоний I фазы.

Эпидемиология.

Антропоноз. В эксперименте – заражение обезьян.

Способ заражения – фекально-оральный;

Пути передачи – водный, пищевой (молочные продукты), контактно-бытовой.

S. dysenteriae 1 редко встречается с конца 30 гг. XX века. Сейчас имеются гиперэндемические очаги в Китае, Индии, Пакистане, Камбоджи. Связывают с приобретением плазмиды вирулентности (Vi) и лекарственной резистентности (R). Для заражения требуется несколько клеток. Имеется сильнейший токсин;

S. flexneri - 1-10 тыс клеток;

S. sonnei – свыше 10 тыс. клеток.

Патогенез.

И.п. 1-5 дней, иногда 6 часов.

Формирование очага в толстом кишечнике носит циклический характер.

Этапы размножения и взаимодействия:

Адгезия → колонизация → внедрение шигелл в цитоплазму энтероцитов → их поражение и разрушение. Происходит отторжение клеток → выход возбудителя в просвет кишечника. Цикл повторяется. Его интенсивность зависит от концентрации возбудителя в пристеночном слое слизистой. Очаг воспаления увеличивается, образуются эрозии, которые соединяются. В испражнениях появляются кровь, слизисто-гнойные комочки, полиморфно-ядерные лейкоциты.

Клиника.

Начало острое, повышение T, мышечные боли, общее недомогание, частый жидкий стул до 20-50 раз в сутки - «ректальный плевок», тенезмы – болезненные позывы приказного характера к дефекации. Большого кровотечения не бывает.

Иммунитет.

Постинфекционный, напряженный, прочный, длительный, обусловлен АТ, Т-лимфоцитами (киллерами), макрофагами. Большая роль местного иммунитета (IgA). Выраженный типоспецифический характер, перекрестного иммунитета не наступает.

Лабораторная диагностика.

1. Бактериологический метод посев на среды Эндо, Плоскирева, Левина. Отбор лактозонегативных колоний. Изучений биохимических свойств, Аг структуры в РА на стекле (иммуноиндикация), чувствительности к дизентерийному бактериофагу. «Золотой стандарт».

2. Серологический метод. Определение титра антител в сыворотке крови. РПГА с эритроцитарными антигенными диагностикумами Флекснер 1-5; Флекснер 6; Зонне. Из-за короткого и.п. реакция отрицательна у больных в острой фазе болезни. Эффективна для обнаружения бактерионосителей и обследования контактных лиц.

3. Аллергическая проба с дизентерином (вакцина Цуверкалова). В основе – ГЗТ. Положительная проба – отек и гиперемия d 10-20мм через 24 ч. в настоящее время не применяется.

4. ПЦР. Ответ через 6-8 часов.

Лечение.

- этиотропная терапия: АБ, СА;
- бактериофаг дизентерийный поливалентный (ИБП п. 3.1-3.2), интестибактериофаг (ИБП п. 2.23).
- симптоматическое: восстановление водно-электролитного баланса.
- патогенетическое.

Профилактика.

Специфическая профилактика не разработана. Неспецифическая – соблюдения санитарно-эпидемиологического режима.

Лекция № 5.2. Микробиология иерсиниозов. Род *Yersinia*.

Иерсиниозы - группа заболеваний, возбудители которых относятся к семейству энтеробактерий, к роду *Yersinia*.

Наука занялась кишечными иерсиниозами в 80гг.

Выделяют 11 видов иерсиний, патогенные для человека 3 вида.

- *Y. pestis* – возбудитель чумы;

Возбудители кишечных инфекций:

- *Y. enterocolitica*

- *Y. pseudotuberculosis*

Общая характеристика.

I. морфология.

1. грам (-) палочки, мелкие,
2. неравномерно окрашиваются - биполярная окраска при окрашивании метиленовым синим;
3. факультативные анаэробы, не требовательны к питательным средам;
4. споры (-);
5. образуют капсульное вещество (тонкое), окраска по Р-Г;
6. Т оптимум- 22-28°C, , ниже чем Т человека; диапазон от +2 до 40С, рН 6,6-7,8. При низкой Т инкубации 2-4°C и переносе в 37°C наблюдается бурное размножение бактерий;
7. слабоподвижны – 3-5 перитрихальных жгутика;

II. сапрофитизация – способность длительное время выживать и размножаться во внешней среде при низких Т. Резервуар – вода и почва.

Имеются тепловые и холодовые ферменты.

III. заражение через посредника (животные - грызуны, собаки, кошки, домашние сельскохозяйственные животные (свиньи); рыба, ракообразные, птицы и членистоногие.

IV. рост на среде Эндо – мелкие Iac- колонии, используют среду Серова, фосфатно-буферный раствор.

V. прототрофы: получают N и C за счет атмосферного аммиака и летучих соединений углерода (почвенный м/о), N - из неорганических соединений.

Антигенная структура.

Y. enterocolitica имеет O-соматический и H-жгутиковый АГ. Дифференцируют по O-Аг, чаще встречаются серовары O3, O9, O5, O6.

Y. pseudotuberculosis - имеют O- и H- Аг. По O-Аг различают 10 сероваров, наибольшее значение II, III, IV.

Факторы передачи.

- овощи и фрукты, закладываемые для длительного хранения (капуста, корнеплоды, цитрусы, молочные и мясные продукты, обсемененные грызунами). Квашеная капуста и сок - максимальное размножение, индукция вирулентных штаммов. В капусте на 10 дней максимальный рост возбудителя, в капустном соке – к 20 дню- 1 млрд мкб. тел в 1мл.

- в молочных продуктах при 60°C, 30 мин – не уничтожаются.

Наибольшее значение – грызуны (обсемененная вода, почва). Больной человек является биологическим тупиком, возможно заражение человека человеком.

Резистентность.

-вода 20°C – 46 суток;

4°C – 225 дней;

- кипяченое молоко – 200 дней;

- мясо – 145 дней;

- кипяченая вода – 3 года;

- стерильная почва при 5-6°C – более 10 лет;

- рассеянный солнечный цвет – 30 минут.

Заболевания: - спорадические;

- вспышки (в коллективах с организованным питанием).

Сезонность: январь- май (зимне-весенняя). Неблагополучным временем является и осень.

Клинические формы.

Патогенны для человека, животных, птиц – от бессимптомных форм до тяжелых с *letalis*.

Y. pseudotuberculosis – полиформная клиника, различают формы:

- абдоминальная

- желтушная

- ангинозная

- гриппоподобная

- аппендикулярная (брыжеечный аденит)

- скарлатиноподобная

- генерализованная

Названы псевдотуберкулезом (pstbc) по сходству с туберкулезными (tbc) бугорками, гранулемами, обнаруженными во внутренних органах и л/у погибших. В 1959г вспышка дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (Владивосток). Были изучены клиника, выделен возбудитель, нарастание титра АТ в 4 и более раза и этиотропное лечение в опыте самозаражения Знаменского- per os 300 и 500 млн. мкб.

Y. enterocolitica. Клинические формы:

- ОКИ;
- гастроэнтерит;
- аппендицит;
- мезентериит;
- мезаденит;
- энтероколит;
- реактивные артриты.

Но обязательно поражается кишечник, т.к. имеется тропизм к слизистой кишечника. Вторичное поражение органов: гепатит, панкреатит, сепсис, менингит, алерго - септическое состояние.

Факторы патогенности.

- **адгезии** – ворсинки, пили, белки наружной мембраны;
- **инвазии** – белки наружной мембраны (к лимфоидным образованиям - макрофагам, что ведет к нарушению их функции - незавершенный фагоцитоз);
- **эндотоксин**;
- **экзотоксин** - Y. enterocolitica – термостабильный энтеротоксин
Y. pseudotuberculosis - термолабильный. Определяют диарею.

- **аллергизирующее действие.**

Патогенез.

1. Заражение через рот, проникают в слизистую ротоглотки, затем в региональные л/у (шейный лимфоденит, фарингит), в желудок и тонкий кишечник. Происходит размножение в мезентериальных л/у, поступают в кровь лимфогенным путем (выделить возбудитель из гемокультуры трудно). Образуются вторичные патологические процессы в печени, легких, селезенке, иногда сепсис;
2. Под действием бактерицидного действия крови высвобождается эндотоксин: лихорадка, поражение ЦНС, вегетативные расстройства, токсическое поражение печени, почек, сердца, сосудов, органов кроветворения;
3. энтеротоксигенность имеет небольшое значение;
4. инвазивность;
 - цитотоксичность;
 - незавершенный фагоцитоз (чем выше вирулентность, тем не эффективнее фагоцитоз);
5. аллергические свойства: крапивница, отек Квинке, артрит, узловатая эритема, синдром Рейдера (конъюнктивит, артрит, уреит);

6. выделяют возбудитель из мочи, желчи, слизи из носоглотки, мокроты, брыжеечных л/у, аппендикулярного отростка.

Иммунитет.

Гуморальный и клеточный. Развивается медленно, большое количество рецидивов, обострений, волнообразное течение. АТ у некоторых больных не появляются (повторные заболевания).

Диагностика.

1. **Биологический метод** – заражение морских свинок кровью больных людей;
2. **Бактериологический** – подращивание в фосфатно-буферном р-ре при 3-4°C, высев на среду Эндо, изучение биохимических свойств, подвижности (при 22°C +, при 37°C -). Окончательный ответ через 21 день; Не эффективен.
3. **Серологический:** РА, РПГА, диагностический титр 1: 200. Максимальный уровень АТ к концу 2 недели, сохраняется 8-12 дней, снижается через 6-8 мес.
4. **Иммунологический:** ИФА
РНАТ
5. **ПЦР** - выделение ДНК из сыворотки крови, слюны, мочи, копрофильтратов, внутренних органов грызунов.

Лекция № 8. Род *Salmonella*.

Возбудители брюшного тифа и паратифов.

- S. typhi* – палочка *Эберта – Гаффки*;
- S. paratyphi A* – палочка *Бриона – Кайзера*;
- S. paratyphi B* – палочка *Шоттмюллера*;
- S. paratyphi C* – палочка *Хирифельдта*.

Признаки рода.

Ферментируют глюкозу с образованием кислоты и газа (КГ), *S. typhi*- только до кислоты!

MR (+);

Желатина (-);

Индол (-);

S. typhi и *S. paratyphi A* цитрат (-) (т.к. являются ауксотрофами и не утилизируют цитрат как единственный источник углерода), у остальных *S.* (+);

H₂ S (+), кроме *S. paratyphi A*;

S. typhi делят на 4 группы по ферментации ксилозы и арабинозы (эпидемиологический маркер).

АГ структура.

Относятся к разным серологическим группам.

S. typhi: (группа D) О - Аг - 9, 12, Vi;

Н - Аг I фазы - d;

Н - Аг II фазы - отсутствует.

Vi - Ag -N – ацетил галоктозаминоуроновая кислота. Особенности:

- легко утрачивается при пересевах;
- легко утрачивается при 40°C и выше и при 20°C и ниже;
- при 100°C погибает в течение 10 минут;
- маскирует собой O-Ag;
- подавляет окислительный взрыв в макрофагах (фактор патогенности);
- является рецептором для Vi – фагов. Существуют фаги:

Vi 1 – универсальный, лизирует любые штаммы *S. typhi*, имеющие Vi-Ag;

Vi 2 – набор из 106 штаммов, лизирует те штаммы, которые пассировались в лаборатории. Используется для фаготипирования с эпидемиологической целью.

Резистентность. Могут выживать:

- вода – 10 дней;
- застойная вода – 4 недели;
- овощи – 5-10 дней;
- посуда – 2 недели;
- масло, сыр – до 3 месяцев;
- при 60°C гибнет в течение 30 мин, при 100°C – мгновенно.
- дезинфекционные средства – несколько минут.

Факторы патогенности.

1. экзотоксин не продуцируют;
2. Vi - Ag;
3. эндотоксин (очень токсичный);
4. ферменты агрессии и защиты: ДНК- аза, фибринолизин, гиалуронидаза, плазмокоагулаза.
5. *S. typhi* имеющая плазмиду с М.М. 6 МД, обладает большой вирулентностью.

Эпидемиология.

И.и. - *S. typhi* и *S. paratyphi A* только человек;

И.и. - *S. paratyphi B* – человек и животные, в т.ч. и птицы;

Заражающая доза 10^5 ;

Путь заражения: контактно – бытовой (прямой и непрямой), вода, пища. Водные эпидемии.

Патогенез и клиника.

Инкубационный период (и.п.) – 2 недели, зависит от дозы, степени вирулентности, иммунного статуса человека. Входит 2 стадии **I и II**:

I стадия – внедрение – возбудитель попадает в подслизистую кишечника, пфейферовые бляшки и солитарные фолликулы и размножается в них;

II стадия – лимфоаденит;

III стадия – бактеремия (начало заболевания). Через ductus toracicus возбудитель попадает в кровоток. Наступает интоксикация - выделяется мощный эндотоксин: бред, спутанность сознания (инфекционный психоз). Продолжается 1 неделю, иногда 2. В конце 1 и в начале 2 недели заболевания появляется патогномический синдром: сыпь, с локализацией на передней брюшной стенке – розеола и питехии (особенно по белой линии живота);

IV стадия – паренхиматозной диффузии. Палочки попадают в органы богатые мононуклеарными фагоцитами (РЭС) – печень, л/у, красный костный мозг. Наступает мнимое благополучие. Это 2 неделя заболевания;

V стадия – выделительно-аллергическая. 3 неделя заболевания. Возбудитель с желчью попадает в тонкий кишечник и лимфоидные образования, с которыми он уже контактировал, наступает сенсбилизация. Повторное внедрение возбудителя в л/у приводит к развитию гиперергического воспаления. В основе лежит ГНТ. Происходит изъязвление слизистой за счет некротизации. Могут быть перфорации с развитием перитонита или кишечные кровотечения. Если разъедаются артерии более 1мм в d, то кровотечение не купируется.

VI стадия – рековалесценция.

S. typhi и *S. paratyphi C* - диареи не наблюдается;

S. paratyphi A – диспептические расстройства (тошнота, рвота, диарея);

S. paratyphi B – гастроэнтерит.

3 вида выздоровления:

- клиническое, если нет осложнений;

- пато - гистологическое – отторжение некротических участков слизистой и заживление (рубцов нет);

- бактериологическое:

а) если возбудитель выделяется в течение 2 мес – острое бактерионосительство;

б) более 2 мес – хроническое. 5-15% больных становятся хроническими носителями.

Причины носительства:

- анатомическое строение желче- выделительной системы;

- недостаток выработки Ig A, отвечающего за местный иммунитет;

- длительное сохранение возбудителя в виде L- формы в клетках макрофагальной системы.

- лица с I и III группой крови реже становятся носителями, чем II и IV.

Иммунитет.

- постинфекционный, стойкий, пожизненный. Перекрестного нет. Обусловлен АТ, клетками иммунной памяти, макрофагами.

- поствакцинальный иммунитет – 1год.

Лабораторная диагностика.

1. серологический метод.

а) Реакция Видаля (развернутая РА). Положительная со 2-ой недели заболевания. Можно отличить «инфекционный» Видаля от «амнестического» и «вакцинального» по титрам О - и Н – АТ. Обязательно исследуют парные сыворотки больного.

б) РПГА с комплексным (АВСДЕ), Vi и групповыми эритроцитарными диагностикумами.

2. бактериологический метод. Посев желчи, соскобов розеол, пунктата красного костного мозга на 3-й и фекалий на 2-ой неделе заболевания на среды Эндо, Плоскирева, ВСА.

3. посев крови на гемокультуру. С 1 недели заболевания и весь

лихорадочный период.

4. ПЦР.

5. РИФ.

Профилактика.

1. вакцина брюшнотифозная спиртовая сухая (ИБП п. 3.6);
2. вакцина брюшнотифозная Vi – полисахаридная (ИБП п. 3.8);
Иммунитет на 2 года.
3. бактериофаг брюшнотифозный (ИБП п. 3.9).

Лечение.

- фторхинолоны;

Рекомендуемые препараты: ампициллин, цефотаксим, цефтазидим (цефалоспорины), налидиксовая кислота, ко - тримоксазол, хлорамфеникол, тетрациклин – для проведения эпидемиологического надзора за антимикробной резистентностью (в Азии 80% полирезистентных штаммов) и дополнительного типирования.

Лекция № 9. Пищевые отравления. Сальмонеллезы.

Основной путь передачи – алиментарный, через пищу.

Клиника не зависит от этиологии: диспепсия, интоксикация.

Этиология.

Пищевые отравления микробного происхождения делят на 2 группы:

- **интоксикации** – вызваны токсинами бактерий, возбудитель отсутствует (после T° обработки) или не действует. Например, стафилококковый энтеротоксин; микотоксикозы, вызванные грибами *Fusarium*; Токсины термостабильны.

- **токсикоинфекции** - вызваны живыми бактериями, находящимися в большом количестве в пищевом продукте.

Семейства, вызывающие п.о.:

- Enterobacteriaceae;
- Pseudomonadaceae;
- Vibrionaceae;
- Streptococcaceae (энтерококки, гр.D);
- Bacillaceae (*B. cereus*);
- род *Clostridium*.

Отличаются коротким и.п., острым непродолжительным течением, отсутствием контагиозных случаев заболевания.

Патогенез и клиника.

На клинику влияет наличие:

- эндотоксина;
- ферментов инвазии;
- экзотоксина.

Например, **Bacillus cereus** имеет 2 типа экзотоксинов:

1. комплекс из 3-х белков. Вызывают диарею, обладают летальным эффектом, нарушают сосудистую проницаемость.

2. cereolysin – летальное, цитолитическое действие, нарушают сосудистую проницаемость.

На патогенез влияют:

- сами живые бактерии;
- образуемые токсины и ферменты;
- токсаминны – продукты белкового распада.

Возбудитель проникает в большом количестве в кишечник, часть их разрушается, освобождается эндотоксин и экзотоксин. Часто бактерии после попадания в кровь разрушаются, вызывают острый токсикоз, который усугубляется действием токсаминнов.

Сальмонеллезы. Salmonella не только причина п.о. (токсикоинфекций), но и диареи, которая называется сальмонеллезом.

Классификация сальмонелл (определитель бактерий Берджи 1994г):

Род Salmonella

2 вида: S. bongori и S. choleraesuis

5 подвигов:

- S. choleraesuis (1)
- S. salamae (2)
- S. arizonae (3а)
- S. diarizonae (3в)
- S. houtenae (4)
- S. indica (5)

Морфология.

- короткие, гр (-) палочки с закругленными концами;
- длина- 1,5-4 мкм;
- перетрихии (встречаются амфитрихии);
- споры, капсулу не образуют;
- ферментируют углеводы с образованием К и Г (или только К);
- лизин, орнитиндекарбоксилаза (+);
- фенилаланиндезаминаза (-);
- H₂S (+), кроме S. paratyphi A;
- лактоза (-), кроме S. arizonae и diarizonae;
- индол (-);
- уреаза (-);
- ФП (-);

АГ структура.

На ней основана классификация всех сальмонелл по **Кауфману – Уайту.**

Имеется 65 О – Аг, обозначаются арабскими цифрами от 1 до 65. По О-Аг разделены на 50 серологических групп: А, В, С, Д, Е ... Z. В каждой серогруппе имеется главный общий для всех О-Аг. Например, Группа А – О-2; В – О-4; С – О-6; Д – О-9; Е – О-3. ПС часть ЛПС определяет специфичность: ядерная часть у всех одинаковая, боковые цепи разные.

Различают 2 типа Н –Аг: I и II фазы. По Н-Аг I фазы серогруппы подразделяются на серотипы т.е. встречаются только у определенных серотипов. Обнаружено более 80 Н-Аг I фазы и 9 Н-Аг II фазы.

К-Аг представлены Vi, М, 5-Аг.

Факторы патогенности.

1. адгезии и колонизации;
2. инвазии;
3. эндотоксин;
4. экзотоксины:

- термостабильный и термолабильный LT, СТ. LT- токсин имеет структурно-функциональное сходство с холерогеном и энтеротоксином E. Coli. Стимулирует аденилатциклазную и гуанилатциклазную активность энтероцитов. Вызывает диарею.

- шигаподобный SLT (цитотоксин) – угнетает биосинтез белка в энтероцитах;

Некоторые штаммы синтезируют одновременно LT, СТ и SLT, а некоторые только SLT.

5. 2 фактора кожной приницаемости:

- быстродействующий – действует в течение 1-2 часов. Продуцируют многие штаммы S. Термостабильный – выдерживает 100°C в течение 4 часов.

- замедленный - вызывает эффект через 18-24 ч. после введения кролику через кожу. Термолабильный – разрушается при 75°C через 30 мин.

Вирулентность связана с наличием плазмиды. Эпидемические штаммы имеют плазмиду вирулентности и R- плазмиду.

Эпидемиология.

Первичные источники: куры, свиньи, крупный рогатый скот, водоплавающая птица, синантропные грызуны и дикие животные.

Важная роль - контактно-бытовой путь (от человека).

Заболевания среди животных:

1. первичный сальмонеллез - вызывают определенные возбудители, характерная клиника;
2. вторичный – у ослабленных животных, чаще всего возбудитель S. typhimurium;
3. энтерит крупного рогатого скота – определенная клиническая картина, но энтерит вторичен.

Особо опасны 2 и 3 группа, т.к. выделяют возбудителя с испражнениями.

Огромная роль – водоплавающие птицы и яйца. **Инфицирование яиц** происходит путем:

- внутритробным (болеет курица);
- проникновение через скорлупу (хорошая пропускная способность);

- при транспортировании;
- при технологической переработке.

По инфицированности:

на I месте мясные изделия -70-72%. Из них 30% - мясо вынужденного убоя (вторичный сальмонеллез). Заражение через корма;

II- яйца, яйцепродукты -10%;

III – молочные продукты – до 10%;

IV – рыбопродукты – 3-5%;

V – овощи (редко).

Причины роста заболеваемости:

- инфицирование пищевых продуктов при их производстве;
- инфицированное сырье, поступающее на переработку;
- централизованное снабжение птицефермами зараженных сальмонеллезом кур.

Особенности патогенеза и клиники.

Клиническая картина:

- пищевая токсикоинфекция;
- сальмонеллезная диарея;
- генерализованная инфекция.

Зависит от:

- величины заражающей дозы;
- степени вирулентности;
- иммунного статуса макроорганизма.

Если возбудитель в большом количестве, заболевание протекает как токсикоинфекция (массовое высвобождение эндотоксина, интоксикация).

В основе диареи лежит колонизация энтероцитов сальмонеллами. Прикрепляются к гликокалицу, внедряются между ворсинками, прикрепляются к плазмолемме, колонизируют её, повреждают микроворсинки, происходит слущивание энтероцитов и воспаление слизистой оболочки. Энтеротоксин вызывает диарею, цитотоксин – гибель клеток. Сальмонеллы размножаются в плазмолемме, транспортируются макрофагами в л/у, кровь.

Иммунитет.

Постинфекционный, напряженный, типоспецифический. Часто болеют дети до 14 лет.

Лабораторная диагностика.

1. бактериологический метод. Посев крови, испражнений на дифференциально-диагностические среды. Используются среды обогащения.

2. серологический. РПГА с диагностикумами: комплексным, Vi, серогрупп А, В, С, С1, Д, Е.

3. ПЦР

Лечение.

- этиотропная терапия;
- дезинтоксикационная;
- сальмонеллезный бактериофаг (и для профилактики) (ИБП п. 3.10).

Лекция № 10. Род *Vibrio*.

Лекция № 10.1. Микробиология холеры. *Vibrio cholerae*.

Холера – заболевание, которое характеризуется острым тяжелым обезвоживающим поносом с испражнениями в виде «рисового отвара», являющегося следствием заражения *V. cholerae*.

Родина холеры – дельта рек Ганг и Брахмапутра. Заболевание отмечается в 500 г до н.э.

7 пандемий, IV периода.

С 1817- 1925 гг. было 6 пандемий холеры.

С 1960 по настоящее время идет 7 пандемия холеры.

I период – до 1817 г. – только в Юго-Восточной Азии, Индия;

II период – с 1817 до 1926гг. – Западная Европа, Америка, Азия, Россия; В России с 1823 по 1923гг переболело 5,6 млн. человек, умерло от неё более 2 млн.

III период – 1926 -1961- период относительного спокойствия, 6 пандемия.

IV период – с 1961 по настоящее время, 7-я пандемия:

- началась в Индонезии;
- вызвана не классическим вариантом, а Эль-Тор. Выделена у человека, умершего от дизентерии;
- по продолжительности превзошла все остальные;

- имеет 2-х волновой характер: 1-ая продолжалась до 1990г – серовар O1;
2-ая- с 1991г.- серовар O-139.

- переболело свыше 3 млн. человек.

В 1854 г холерный вибрион выделен патологоанатомом Почини от трупа умершего.

В 1883г Р.Кох выделил возбудитель и охарактеризовал его.

В1906г супруги Готшлих выделили гемолитические вибрионы из трупов мусульман- паломников на карантинной станции Эль-Тор в Египте. Вызывает диарееподобное заболевание. Культура по б/х и культуральным свойствам напоминает *V. cholerae*, но вызывает лизис эритроцитов барана, резистентна к полимиксину и фагу IV.

Таксономия.

Сем. Vibrionaceae.

Род *Vibrio*

Plesiomonas

Aeromonas

Photobacterium

Род *Vibrio* насчитывает 25 видов, 8 имеют значение для человека.

1933г. Прибра́м (таксономист) охарактеризовал **2 биовара:**

V. cholerae asiaticae (классический)

V. cholerae eltor

и **3 серовара *V. cholerae* O1** – Инаба

Огава

Гикошима.

V. cholerae asiatica и *V. cholerae eltor* объединены в O1- Ag.

Морфология.

Короткие изогнутые или прямые палочки. Степень изогнутости 90°С-четверть окружности;

- Гр(-);

- спор, капсул не образуют;

- подвижность + (монотрих);

- размеры 3×0,5 мкм.;

- факультативные анаэробы со свойствами аэрофильности. Скапливаются в местах богатых O₂, т.е. на поверхности воды.

Культуральные свойства.

На плотных средах – S-форма: гладкие, плоские колонии, d -2мм. Рост через 18 часов. Цикл деления клетки 15 мин. (короткий);

- на ЩА, рН 8,5 – колонии гладкие, стекловидно-прозрачные, вязкой консистенции. В проходящем свете – серовато-голубоватый оттенок;

- на TCBS (тиосульфат- цитрат- бромтимоловый - сахарозный агар + соли желчных кислот).

V. cholerae ферментируют сахарозу - рост желтых колоний на голубой среде;

- лактозо-сахарозная среда: лактоза (-), сахароза (K);

- столбик желатина разжижает через 2 сут при 22-23°С.

На жидких средах.

- на 1% п.в. (рН 8,6-9,0 + 0,5-1% NaCl) через 6 ч - пленка голубовато-сероватого цвета, спаянная с краями пробирки, бульон прозрачный. При встряхивании пленка разрывается и оседает на дно пробирки;

- в молоке – через 24-48 ч свертывание, затем пептонизация, а через 3-4 дня погибают из-за сдвига рН в кислую сторону.

Температурный оптимум 37°C, Т диапазон 10-40°C;

рН 8,6-9,0, могут размножаться от 6 до 9,6; оптимум 7,6-7,7 (у энтеробактерий – 7,0-7,2).

Некоторые виды не растут в отсутствии NaCl (галофильные вибрионы).

По способности ферментировать 3 углевода разбиты на 8 хемогрупп (триада Хейберга):

- манноза
- арабиноза
- сахароза.

V. cholerae O1 относится к 1 группе: манноза (+), сахароза (+), арабиноза (-).

Антигенное строение.

- H-Аг – термолабильный, белковый, жгутиковый, общий для рода *Vibrio* (холерные вибрионы и вибриозы).

- O-Аг – термостабильный, по O-Аг выделяют 139 серогрупп: O1-O139.

V. cholerae asiatica и *V. cholerae eltor* объединены в O1.

O1 Аг состоит из 13 фракций, *Vibrio cholerae* состоит из 5 – А, В, С, Д, Е :

- А – видоспецифическая, присутствует у всех 3 сероваров;
- В и С – типоспецифические.

Выделяют 3 серовара: АВ – Огава;

АС - Инаба;

АВС - Гикошима.

Сероваротипирование используется для эпидемиологического маркирования – для дифференциации очагов по возбудителям, иногда от одного больного можно выделить бактерии разных сероваров. Холерный вибрион в стадии диссоциации имеет OR- и R- Аг, поэтому для идентификации *V. cholerae* используют диагностические сыворотки **O1**, **OR** и типоспецифические **Инаба** и **Огава**.

В 1992-93гг в Индии, Китае, Малазии появился новый серовар O-139, он гомологичен O1, отличается только по Аг структуре – результат мутации.

НАГ – вибрионы (неагглютинирующиеся), холероподобные вибрионы не агглютинируются антисыворотками O1 и O139 (не O1, не O139).

Факторы патогенности.

1. подвижность, Mot (-) – вирулентность исчезает или снижается в 100-1000 раз;

2. хемотаксис – преодоление слизистого слоя и взаимодействие с эпителиальными клетками. Мутанты по Che (-) имеют сниженную вирулентность;

3. пенетрация слизи – способствует приближению к энтероциты.

Выделяют ферменты: муциназа

протеаза

нейроминидаза (готовит рецепторы для *Vibrio*)

лецитиназа;

4. **адгезины** – белки наружной мембраны, ЛПС;

5. возбудитель атакует эпителий, но сам внутрь энтероцита не попадает, синтезирует **экзотоксин** (холероген). Это термостабильный белок, разрушается фенолом и формалином, устойчив к действию протеолитических ферментов. Молекула токсина состоит из 2 компонентов: 2S A и 5S B.

Токсин А делится на: A1 – собственно токсин

A2 – связующая роль, формула токсина - A1A2B5.

Токсин B:

- распознает рецептор (моносиалоганглиозид) энтероцита и связывается с ним (gm1);

- формирует гидрофобный канал для прохождения А.

Внутри энтероцита проникает A1, вызывает гидролиз НАД и отщепление АДФ-рибозы, которая связывается с регуляторной единицей аденилатциклазы. Комплекс ГТФ и аденилатциклаза вызывает гидролиз АТФ с образованием большого количества цАМФ. Токсин подавляет действие ферментов, которые в норме переводят цАМФ в АМФ. Через мембрану энтероцитов в кишечник уходят ионы K, Na, Cl и большое количество воды. Развивается диарея с нарушением ВЭБ;

6. **фактор, повышающий проницаемость капилляров;**

7. **токсины типа LT, ST, SLT** (термолабильный и термостабильный цитотоксины, шигаподобный токсин);

8. **эндотоксин:**

- сильные эндотоксичные свойства (интоксикация, рвота);

- АТ обладают вибриоцидным свойством (растворяют вибрионы в присутствии комплемента). Отвечают за постинфекционный и вакцинальный иммунитет.

Генетический контроль токсинообразования.

Гены, контролирующие синтез А и В фрагментов холерогена, объединены в оперон *vst* АВ и *ctx* В, управляются 2-мя регуляторными генами:

- **ген *tox R*** – позитивный контроль, мутация этого гена снижает продукцию токсина в 1000 раз;

- **ген *htx*** – негативный контроль, мутация в этом гене усиливает продукцию токсина в 3-7 раз.

Выделяют штаммы:

- холерогенные (вирулентные);

- слабохолерогенные;

- нехолерогенные (невирулентные).

Прямые методы обнаружения холерогена:

1. **Биологическая проба на кроликах.** Внутрикишечное заражение кроликов-сосунков - развивается диарея, безжизвение, гибель. На вскрытии - толстый кишечник увеличен и наполнен прозрачной жидкостью с хлопьями и пузырьками газа;

2. **РИФ, ИФА;**

3. **Реакция пассивного иммунного гемолиза** – холероген связывается с gm1

(сиалоганглиозид) энтероцитов, которые лизируются при добавлении антитоксических АТ и комплемента;

4. заражение культуры клеток - активность аденилатциклазы;

5. использование в качестве **ДНК-зонда** фрагмента хромосомы *V. cholerae*, несущего оперон холерогена.

6. ПЦР.

Косвенные признаки отсутствия холерогена:

1. отсутствие заболеваемости среди людей;
2. положительная гемолитическая активность;
3. отсутствие лизиса фагом ХДФ-5.

Резистентность.

- выживают при низких температурах;
- на льду -1 месяц;
- в морской воде – 1,5 месяцев;
- в речной воде – от нескольких дней до нескольких недель;
- в почве – 3 месяца;
- в испражнениях – 3 суток;
- на полотняном белье – до 2 суток;
- на влажном материале – недолго;
- при 80°C – гибель через 2 мин; при 100°C – мгновенно;
- высокочувствительны к хлору, кислотам, дезинфектантам;
- долго сохраняются и размножаются в воде открытых водоемов и сточных водах, богатых органическими веществами, с щелочной рН, температурой выше 10-12°C.

Эпидемиология.

- антропоноз;
- и.и.: больной, вибрионоситель, загрязненная вода;
- заражение: фекально – оральный способ, пути передачи - вода, контактно-бытовой, пищевой;
- больной выделяет испражнения от 100 млн до 1 млрд / на мл;
- вибрионоситель- 100-100 тыс./мл;
- заражающая доза – 1 млн. вибрионов;
- переболевшие выделяют возбудитель 7-10 дней, носители – 7- 42 дня.
- *V.cholerae* O1 (токсигенные и нетоксигенные) сохраняются в водных экосистемах в виде некультивируемых форм. Обнаружение методом ПЦР *stx*- генов (НФБ).

Клиника.

- **и.п.** – от нескольких часов до 6 суток (2-3 дня);
- возбудитель попадает в тонкий кишечник → пенетрация слизи с помощью ферментов → выделение холерогена в клетку (энтероцит) → гиперсекреция жидкости: диарея, обезвоживание, обессоливание организма;
- тяжело протекает у людей с пониженной кислотностью;
- **1 стадия** – энтерит. Только понос в виде рисового отвара, повышение Т тела;
- **2 стадия** – гастроэнтерит, присоединяется рвота, Т тела нормальная, понос без предшествующих позывов, затем вид «рисового отвара», рвота

кишечным содержимым,;

- **3 стадия** – холерный алгид (переходит без лечения). Потеря H_2O_2 , солей;

- **4 стадия** – холерная кома: снижение АД, компенсированная тахикардия, нитевидный пульс, нарушение обмена К и Na, анурия, накопление азотистых шлаков, цианоз, снижение тургора кожи, симптом «очков», судороги. Letalis за счет снижения СД, в развивающихся странах – до 50%.

Иммунитет.

Постинфекционный: прочный и длительный. Антитоксический и антимикробный, обусловлен АТ, клетками иммунной памяти, фагоцитами, Ig А.

Лабораторная диагностика.

1. Бактериологический метод.

Биохимические свойства

1. расщепляет углеводы и многоатомные спирты до К: глюкоза
сахароза
манноза
мальтоза

не расщепляют: арабинозу
лактозу
инозит
дульцит
салицин

2. протеолитическая активность (+) (желатин, казеин);

3. лецитиназа (+);

4. амилаза (+) (расщепление крахмала- диастатическая активность);

5. нейроминидаза (+);

6. каталаза (+);

7. расщепляет ам-кту триптофан до индола (посев в 1% п.в. – в ней есть триптофан) (+);

8. ацетилметилкарбинол (р-ция Фогес-Проскауэра): биовара Эль-Тор (+);
биовар классика (-).

9. не выделяют H_2S ;

10. гемолитическая активность б/в Эль-Тор (+) (особенно из внешней среды);

б/в классика (-).

11. выделен белковый фермент гемолизин. У переболевших людей в крови обнаруживаются АТ к гемолизину (замаскированный токсин), но выделенные культуры гемолитической активностью не обладают. Говорят о присутствии Hly- гена, но об отсутствии его экспрессии.

2. Ускоренные методы диагностики нативного материала.

- ЛСМ (РИФ);

- РИВ (реакция иммобилизации вибрионов О - холерной сывороткой);

- РНГА (с антительным эритроцитарным диагностикумом);

- ИФА;

Ускоренный метод по Ермоловой.

Посев 2-3 петли материала в 3 пробирки:

- 1% п.в.

- 1% п.в. + О-холерная сыворотка в титре 1: 1000

- 1% п.в. с крахмалом

Учет через 3 часа при 37С.

- в 1 пробирке – помутнение, пленка;

- во 2-ой на дне зонтик, при встряхивании – агглютинация;

- в 3-ю – закапывают 2-3 капли Люголя (йод), посинения не наступает, т.к. вибрионы расщепляют крахмал.

Фаготипирование.

Набор фагов для типирования:

I. (Мукереджи) *V.cholerae asiatica*

V. cholerae eltor. Используются для определения биовара.

II. ТЭПВ 1,2,3,4,5,6,7 – для фаготипирования неагглютинирующихся холерной О1 сывороткой вибрионов. Выделены 7 фаготипов *V. cholerae* не О1;

III. ДДФ (дифференциально- диагностический фаг) – для идентификации вирулентных м/о вида *V. cholerae* О1 классического и эль-тор биоваров, *V. cholerae* не О1, *V. albensis* и дифференциации от:

- *V. parahamolyticus*;

Aeromonas;

Plesiomonas;

Comamonas;

Pseudomonas;

Escherichia.

IV. Монофаги ХДФ-3, ХДФ-4, ХДФ-5 – определение вирулентности вибрионов эль-тор (сероваров Инаба, Огава, Гикошима):

Если из 3 фагов 3 или 2 лизируют, гемолиз (-), то вирулентные;

Если из 3 фагов 3 или 2 лизируют, гемолиз ±, то слабовирулентные;

Если из 3 фагов 1 или 0 лизируют, гемолиз ±, то авирулентные.

V. Фаги стх – (не вирулентные);

стх + (вирулентные).

Лечение.

1. регидротация и восстановление ВСО;

2. антибиотикотерапия (тетрациклин после прекращения рвоты).

Профилактика (ИБП п. 3.3-3.5).

1. вакцина холерная корпускулярная инактивированная);

2. вакцина холерна (холероген – анатоксин + О-антиген);

3. вакцина холерная бивалентная химическая.

Лекция № 10.2. Вибриозы. Прочие патогенные виды *Vibrio*.

V. parahaemolyticus

V. alginolyticus

V. vulnificus

V. fluvialis

V. mimicus

Галофильные вибрионы, обитатели морской и океанической воды, вызывают ОКИ, т.к. продуцируют холероподобный токсин LT. Для роста требуется повышенное содержание NaCl (10%). Заражение происходит при купании, употреблении пищевых продуктов, вызывают раневые инфекции.

V. parahaemolyticus - вызывают о. гастроэнтериты, раневые инфекции, бактериемию.

Галофильный вибрион. Причина острых диарей в Японии.

И.и. - блюда из морепродуктов, приготовленные с нарушением технологического процесса, употреблении сырых моллюсков, рыбы, пищи, обрызганной морской водой.

Энтеротоксин вызывает энтерит – сильные боли в животе, обильный водянистый стул через 24 часа после инфицирования. Letalis у детей и пожилых людей.

Гемолизин обнаруживают по гемолизу на КА с 7% NaCl.

V. vulnificus.

Заражение происходит:

- алиментарным путем: при употреблении мидий, устриц. Часто развивается у лиц со сниженным иммунитетом, циррозом печени, сахарным диабетом. Вызывает септицемию, проявляющуюся буллезными воспалениями кожи, лихорадкой, ознобом, прострацией, гипотонией, letalis – 50%;
- раневые инфекции – при контакте раны с морской водой. Проявляется опухолью с развитием некроза: тяжелые целлюлиты, миозиты, имитирующие газовую гангрену;

Факторы патогенности:

- капсула;
- цитотоксин;
- гемолизин;
- ферменты эластаза, коллагеназа, фосфолипаза.

Клиника.

- у тонувших людей вызывает пневмонию;
- эндометриты;
- требуется АБ терапия: гентамицин, тетрациклин, левомицетин.

V. fluvialis.

- вызывает холероподобные гастроэнтериты (сильная рвота, диарея, абдоминальные боли, лихорадка, дегидратация);
- факторы патогенности: энтеротоксин.

Лекция №11. Микроаэрофильные грамотрицательные палочки.

Лекция № 11.1. Микробиология кампилобактериозов.

Род Campylobacter.

Являются возбудителями ОКИ 3-15%.

Наибольшее значение имеют виды:

C. jejunii, *C. coli*, *C. lari*.

Термофильные. Инкубируют при 42°C.

реже *C. fetus* – мезофильные – 37°C. Возбудители артритов, менингитов, васкулитов.

Морфология.

- грам (-), тонкие изогнутые палочки. Образуют один или более витков спирали: С или S- формы (крылья чайки при соединении двух клеток в короткую цепочку);
- подвижные (стремительное штопоро- и винтообразное движение) - имеют одиночные жгутики расположенные на одном или обоих частях клетки;
- споры, капсула отсутствуют;

- микроаэрофилы, капнофилы- O₂- 5%, CO₂- 10%, N -85%;
 - окрашиваются анилиновыми красителями (фуксин) в течение 10-15 сек.
- Другие м/о только через 2 мин;
- хемоорганотрофы, не требовательны к питательным средам, не сбраживают углеводы;
 - оксидаза (+);
 - уреазы (+).

АГ структура.

Имеет O-, K-, и H –Аг. По O-Аг различают 50 серогрупп.

Факторы вирулентности.

- жгутики;
- фермент муциназа;
- пенетрационная активность;
- энтеротоксины, вызывают нарушение водно-электролитного обмена через образование цАМФ (по действию холерогена);
- эндотоксин;
- цитотоксины (разрушают эпителий тонкой кишки- дизентериеподобный характер, проникают в кровяное русло, вызывают генерализованную инфекцию).

Клиника.

Диарея, дизентериеподобное состояние, энтериты, поражение паренхиматозных органов, сепсис.

И.п. – 1-10 дней. Диарея 10-20 раз в сутки, в испражнениях кровь. Обезвоживание редко. Тяжело протекает у детей 1-3 года.

Иммунитет.

Гуморальный, антитела не имеют выраженных протективных свойств.

Эпидемиология.

Источник инфекции:

- больные с/х животные, КСР, дикие, домашние птицы- основной резервуар;
- город – кошки -4%, собаки – 27%;
- у переболевших лиц наблюдается бакносительство до 10 нед;
- здоровое носительство – 10%;
- продукты питания – птица, печень КРС, сырое молоко.

Путь передачи:

- алиментарный (молоко, птица, говядина);
- водный (загрязненной испражнениями животных);
- контактно – бытовой (уход за больными людьми и животными).

При 4-10°С в окружающей среде сохраняются около недели (до 5 недель).

Чувствительны к Т выше 50°С, УФ- лучам, высушиванию, ↑ и ↓ рН.

Лабораторная диагностика.

Плотные среды - посев через фильтры на специальные питательные среды с использованием анаэробов с газовой смесью. Используется питательная среда для роста бруцелл + вещества, снижающие ОВП (тиогликолят натрия, метабисульфит натрия, пируват натрия) + АБ (новобиоцин, бацитроцин, триметоприм). Рост через 2-3 сут. бесцветных, прозрачных, мелких колоний, гемолиз (-);

Жидкие среды – диффузное помутнение с трудноразбиваемым осадком;
Полужидкие среды – диффузное мутное кольцо толщиной 1-4 мм под поверхностью среды;

Диагностика:

- микроскопия по грамму;
- экспресс- метод;
- б/х активность;
- тип дыхания;
- серологический метод (определение антител) в ИФА.

Лекция № 11.2. Микробиология хеликобактериозов. Род *Helicobacter*.

Возбудитель - *H. pylori*

Морфология.

- крупнее кампилобактерий;
- пучки жгутиков с 1 и обеих сторон клетки (4-5);
- растут при 37°C, не растут 25-28 и 42°C;
- через 48-72 часа растут в виде мелких колоний на КА и ША.

Патогенез.

Проникают в слой слизи, прикрепляются к эпителию клетки → в крипты и железы слизистой оболочки → разрушение их. Аг м/о стимулируют миграцию нейтрофилов → воспаление → выход мочевины и гемина при разрушении эритроцитов. Под действием бактериальной уреазы мочевины переходит в аммиак → повреждается слизистая оболочка → формируется язва. *H. pylori* этиологический фактор язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки в 60-90%.

Диагностика.

- окраска биоптатов СО желудка гематооксилином – эозином;
- фазово – контрастная микроскопия;
- косвенное обнаружение (по уреазной активности) – кло- тест, дыхательный тест;
- по уреазной активности в биоптате;
- бактериологический метод;
- ИФА по определению АТ.

Контрольные вопросы к итоговому занятию по теме «Кишечные инфекции».

1. Биохимические и культуральные свойства *E.coli* .
2. Медицинское значение *E.coli*.
3. Антигенное строение *E.coli*.
4. Классификация диареегенных *E.coli*.
5. Факторы адгезии, колонизации и инвазии диареегенных *E.coli*.
6. Экзотоксины диареегенных *E.coli*.
7. Бактериологический метод диагностики диареегенных *E.coli*.

8. Антигенное строение возбудителей брюшного тифа.
9. Факторы патогенности возбудителей брюшного тифа, паратифов.
10. Эпидемиология, патогенез и клиника брюшного тифа.
11. Исследование материала на 1,2,3 неделе заболевания брюшным тифом.
12. Реакция Видаля при сальмонеллезах.
13. Реакция РПГА при сальмонеллезах.
14. Исследование крови на гемокультуру при брюшном тифе.
15. Диагностика бактерионосительства брюшного тифа.
16. Исследование урино- , били - , розеолокультуры при брюшном тифе.
17. Вакцина брюшнотифозная спиртовая и обогащенная Vi-антигеном.
18. Вакцина брюшнотифозная ВИ- полисахаридная.
19. Бактериофаг сальмонеллезный групп ABCDE.
20. Биохимические свойства возбудителей брюшного тифа и паратифов.
21. Антигенная структура сальмонелл по Уайту и Кауфману.
22. Сальмонеллезы. Факторы патогенности сальмонелл.
23. Эпидемиология, патогенез и клиника сальмонеллезов.
24. Бактериологический метод диагностики сальмонеллезов.
25. Реакция Vi – гемагглютинации при брюшнотифозном носительстве.
26. Отличие «инфекционного» Видаля от «прививочного».
27. Биохимические и культуральные свойства бактерий рода *Shigella*.

28. Классификация шигелл.
29. Факторы патогенности шигелл.
30. Эпидемиология, патогенез и клиника дизентерии.
31. Бактериологическая диагностика дизентерии.
64. Серологический метод диагностики дизентерии.
31. Бактериофаг дизентерийный жидкий и в таблетках.
32. Морфология, культуральные свойства холерного вибриона.
33. Антигенное строение, биовары и серовары *V.cholerae*.
35. Основные различия между биоварами *V.cholerae asiaticae* и *V.cholerae eltor*.
36. Факторы патогенности *V.cholerae*.
37. Прямые и косвенные методы обнаружения холерного токсина.
38. Эпидемиология, клиника, иммунитет при холере.
39. Бактериологический метод диагностики холеры.
40. Ускоренный метод диагностики холеры по Ермоловой
41. Специфическая профилактика холеры – вакцина холерная корпускулярная.
42. Вакцина холерная, вакцина холерная бивалентная.
43. Галофильные вибрионы. Представители рода. Заболевания ими вызываемые.
44. Виды рода кампилобактер. Морфология возбудителя.
45. Факторы вирулентности кампилобактерий.
46. Лабораторная диагностика кампилобактерий.
47. Хеликобактеры. Морфология возбудителя. Патогенез заболевания.
48. Общая характеристика кишечных иерсиниозов.

49. Эпидемиология кишечных иерсиниозов.
50. Клинические формы *Yersinia pseudotuberculosis*.
51. Клинические формы *Yersinia enterocolitica*.
52. Факторы патогенности *Yersinia enterocolitica*.
53. Патогенез иерсиниозов.
54. Микробиологическая диагностика кишечных иерсиниозов.
55. Бифидумбактерин, Бифидумбактерин-форте, Бифилиз, Бифиформ. Состав. Действие.
56. Колибактерин, Бификол, Состав, действие, применение.
57. Лактобактерин, Споробактерин. Состав, действие, применение.
58. Дисбактериоз. Понятие. Состав нормофлоры толстого кишечника.
59. Дисбактериоз. Понятие. Причины. Роль микрофлоры кишечника.
60. Бактериологический метод диагностики хеликобактериоза.
61. Биохимический метод диагностики хеликобактериоза.

Глава 3. Факультативно- анаэробные грамположительные палочки. Особо опасные инфекции.

Лекция № 12.1. Микробиология дифтерии. Род *Corynebacterium*.

Дифтерия - острое инфекционное заболевание, которое проявляется глубокой интоксикацией организма дифтерийным экзотоксином и специфичным фибринозным воспалением в месте внедрения микроорганизма.

Возбудителя выделил **Клебс** в 1883г.

Леффлер получил культуру в 1884г.

Ру и Иерсен выделили чистый экзотоксин в 1888г.

Беринг получил сыворотку в 1892г.

Рамон получил анатоксин в 1923г.

Род – *Corynebacterium*. *Coryne*- булава; *diphthera* – пленка, туман.

Делят на 3 группы:

1. патогенны для человека
2. патогены растений

3. сапрофиты – нормофлора кожи, слизистых зева, носа, ротоглотки, глаз, уретры, половых органов, дыхательных путей. К ним относят:

-*C. xerosis*

-*C. ulcerans*

-*C. minutissimum*. Их называют дифтероиды. Могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания, выделяются из ран.

-*C. pseudodiphthericum* – ложнодифтерийная палочка (Гофмана).

Морфология.

Прямые или слегка изогнутые палочки. Размеры – $8 \times 0,3 - 0,8$ мкм. В мазках расположены в виде римских пятерок, иероглифов, частоколом. Часто имеют булавовидное утолщение на концах – зерна **волютина** (метополифосфаты)-запас питательных веществ, образующийся при попадании микроорганизма в благоприятные условия.

Спор и капсулу не образуют. Неподвижны. Грамположительные.

Для выявления волютиновых зерен окрашивают:

1. по Нейссеру. Это сложный метод окраски. Используют уксусно-кислую синьку Нейссера, обрабатывают Люголем, докрашивают везувином. Тело бактерии окрашивается в желтый цвет, зерна волютина – в темно-фиолетовый.

2. Метиленовым синим по Леффлеру - простой метод окраски. Концы клетки окрашиваются более интенсивно (темно-синий, черный цвет), тело клетки – синий цвет. Явление метахромазии - неравномерность окраски.

Культуральные свойства.

Аэробы, факультативные анаэробы.

Температурный диапазон – 25- 40°C, оптимум – 35-37°C.

pH- 7,6-7,8.

Требовательны к **питательным средам**, нуждаются в факторах роста:

1. Среда Ру – свернутая лошадиная сыворотка;

2. Среда Леффлера – $\frac{3}{4}$ свернутой бычьей сыворотки и $\frac{1}{4}$ часть сахарного бульона. Через 8-10 часов образуются выпуклые колонии кремового цвета, которые не сливаются – «шагреновая кожа»;

3. Хинозольная среда Бучина. Колонии окрашиваются в синий цвет, среда под колониями – в фиолетовый. Рост через 24-48 часов;

4. Среда Клауберга – состав: «лаковая кровь» с теллуридом калия;

5. КТА – кровяной теллуридовый агар. Палочка дифтерии восстанавливает теллурид калия до металлического теллурида, который накапливается в колониях. Рост в виде крупных колоний диаметром 2-3 мм серовато- черного цвета. Теллурид калия подавляет рост сопутствующей микрофлоры. Дифтероиды и палочка Гофмана образуют более мелкие колонии.

Антигенное строение.

Гетерогенны, имеют мозаичное строение АГ. Выделяют О - и К – АГ. По К –АГ разделяют на 58 серологических вариантов. В России принята классификация по 11 сероварам: 7 основным и 4 дополнительным. Определяют в реакции агглютинации на стекле с помощью агглютинирующих сывороток:

- серовары 1-5 и 7 относят к токсигенному биовару *gravis*;

- 9-11 к токсигенному биовару mitis;
- 6 и 8 – к нетоксигенному биовару mitis.

По культуральным и ферментативным свойствам *C. diphtheria* делят на **3 биовара:**

- **gravis** (тяжелый) – вызывает тяжелое заболевание с эпидемической вспышкой. Находится в R – форме. На бульоне дает зернистый осадок и пленку. На плотных средах образуют плоские матовые колонии с радиальной исчерченностью и изрезанными краями (цветок маргаритки).
- **mitis** (легкий) – вызывает легкие спорадические заболевания. Колонии 1-2 мм в диаметре, гладкие, блестящие (S- форма), интенсивно- черные. На бульоне – равномерное помутнение;
- **intermedius** (промежуточный) – колонии мелкие, до 1 мм. Переходит в R-S форму.

Серологическая связь между тремя биоварами отсутствует.

Биохимические свойства.

1. Все три бивара имеют фермент цистиназу – расщепляют цистин с образованием сероводорода. При посеве уколом в столбик агара образуется темный след и бурое облачко по ходу укола. Дифтероиды и ложнодифтерийная палочка – тест отрицательный.
2. Ферментируют глюкозу, галактозу, мальтозу до кислоты без газа.
3. Вариант гравис расщепляет крахмал.
4. Мочевину не разлагают. Уреазная активность имеется у ложнодифтерийных палочек.
5. Индол не образуют.

Резистентность.

60°C – гибель через 10-15 минут;

100°C – через 1 мин.

Устойчивы к низким температурам, хорошо выдерживают высушивание. Долго сохраняют жизнеспособность в слюне, слизи, пыли, в виде мелкодисперсного аэрозоля – до 2 сут.

Дезинфицирующие вещества в обычных концентрациях убивают в течение нескольких минут.

Факторы патогенности.

1. **Адгезия, колонизация** – за счет компонентов клеточной стенки и фимбрий.
2. **Инвазия** - ферменты гиалуронидаза, нейроминидаза, протеаза, фибринолизин. Способствует распространению в глубоко расположенные органы и как следствие - бактеримия (без клиники). Эти факторы помогают персистировать *C. diphtheria* в организме не проявляя своих свойств.
3. Белковая поверхностная **микрoкапсула**. Отвечают за инвазию и защиту от фагоцитоза и умеренных бактериофагов.
4. **Корд-фактор** – нарушает процессы клеточного дыхания и фосфорилирования, что ведет к гипоксии и гибели клетки.
5. **Токсичный гликопептид** (трегалозо 6,6'- дикоринемиколат) находится в клеточной стенке – разрушает клетки ткани в месте внедрения возбудителя и макрофаги.

6. **Дифтерийный экзотоксин** – главный фактор патогенности. Синтезируется в виде неактивного предшественника в виде единой полипептидной цепи с М.М. 60КД. Активизируется собственной бактериальной протеазой, которая разрезает полипептид на 2 пептида, связанных между собой дисульфидными мостиками. Фракция В выполняет акцепторную функцию: распознает рецептор на клетке, связывается с ним и формирует трансмембранный канал, через который фракция А проникает в клетку. Пептид А – фермент, отщепляющий аденозинтрифосфатрибозу от НАД, перенос её на гистидиновый остаток EF-2 (фактор элонгации), что ведет к прекращению белкового синтеза.

Синтез токсина контролируется конвертирующим фагом. Способность к токсинообразованию проявляют лишь лизогенные штаммы *S. diphtheria*, инфицированные бактериофагом (β -фаг), несущим tox-ген. Нетоксигенные штаммы *S. diphtheria* могут быть превращены в токсигенные в естественных и искусственных условиях. Если бактериальная клетка теряет tox-ген, то она перестает быть и токсигенной и лизогенной.

Методы определения токсигенности.

1. Реакция преципитации в агаре. На чашку с питательным агаром наслаивают полоску фильтровальной бумаги пропитанную антитоксином (антитоксической сывороткой). По краям от полоски засевают культуру бляшками. От полоски в агар диффундирует антитоксин, от бляшек - токсин. В месте их соединения выпадает белая линия преципитации - культура токсигенная. Учет через 24-48 часов.

2. Биопроба на морских свинках.

в/к – дермонекротическая проба;

п/к – смертность повышенного АД. На вскрытии - увеличение надпочечников с кровоизлиянием в мозговой слой.

3. Заражение куриных эмбрионов. *Letalis*.

4. Заражение культуры клеток – ЦПД.

5. Метод ДНК- зонда.

6. Метод ИФА.

7. ПЦР-реакция для вывещения tox – гена.

Эпидемиология.

Источник инфекции: больной, выздоравливающий, бактерионоситель. Наибольшее значение имеют больные с атипичными, стертыми формами. Особая роль - здоровые носители. Они являются резервуаром сохранения микроорганизма, если нет эпидемий. Причина длительного бактерионосительства: наличие антитоксического и отсутствие антимикробного иммунитета.

Путь передачи: воздушно-капельный, воздушно-пылевой, контактно-бытовой (белье, посуда, игрушки).

Патогенез.

Входные ворота определяют клиническую картину. Различают следующие формы: дифтерия зева, носа, гортани, уха, глаз, половых органов, кожи, раны.

Инкубационный период: 2-10сут.

Заболевание начинается с формирования специфической, тесно связанной с подлежащими тканями пленкой в месте внедрения возбудителя. Пленка состоит из фибрина, эпителия, лейкоцитов и коринебактерий. Возбудитель в подслизистый слой не проникает. В ткани проникает экзотоксин, что ведет к отеку слизистой и клетчатки, из-за повышения сосудистой проницаемости.

Клиника.

- Первичный круп. Отек распространяется на гортань и бронхи, вызывает асфиксию и леталис. Смерть от крупозного воспаления раньше составляла 50-60%, в настоящее время - 3-6%.

- Экзотоксин, циркулирующий в крови избирательно поражает сердечную мышцу, надпочечники, нервную ткань. Смерть от острого токсического миокардита, тотального периферического полиневрита, коллапса, ИТШ.

Иммунитет.

После перенесенного заболевания стойкий, прочный, иногда пожизненный. Носит антитоксический и антимикробный характер.

После прививочный иммунитет антитоксический. Антитела не препятствуют формированию бактерионосительства.

Определение напряженности иммунитета:

1. Проба Шика. Ребенку в/к вводится дифтерийный токсин в дозе 1/40 DLM для морской свинки весом 250 грамм. При наличии в крови 0,03 АЕ (антитоксических единиц) и больше - проба отрицательная, ребенок невосприимчив к инфекции. Если менее 0,03 АЕ, нейтрализация токсина антитоксином не происходит, образуется отек - ребенка нужно прививать.

2. Определяют титр антитоксических антител в РПГА с антигенным эритроцитарным диагностикумом. Минимальный защитный титр 1:40- 1:320.

Диагностика.

Бактериологический метод. Обследуются:

- лица с острым воспалительным процессом ВДП;
- контактные с больным дифтерией или носителем токсигенного штамма;
- лица, вновь поступающие на работу учреждения для детей, ЛПУ.

Материал (слизь из зева и носа) берут двумя сухими тампонами. Делают посев на питательные среды и мазок на стекле с окраской по Грамму, метиленовой синькой, ЛСМ. Окончательный чет результатов через 96 часов.

Лечение.

- антибиотики. Действуют только на микроорганизм, но не на токсин;
- антитоксическая противодифтерийная лошадиная сыворотка. (ИБП п.6.8);
- противодифтерийный иммуноглобулин человеческий для в/в (?).

Профилактика.

- вакцина АКДС (ИБП п. 6.4);
- АДС-анатоксин (ИБП п. 6.6);
- АД-М-анатоксин (ИБС п. 6.5);
- вакцина «Тетракок»- содержит дифтерийный, столбнячный анатоксины, инактивированную полиомиелитную вакцину 3-х типов, коклюшные микробы (ИБС п. 6.9).

Лекция № 12.2. Микробиология коклюша. Род *Bordetella*.

Коклюш – о. инфекционное заболевание, сопровождающееся воспалением гортани, трахеи и бронхов.

Bordetella pertussis- возбудитель коклюша, *B. parapertussis*- паракоклюша - антропонозы.

B. bronchiseptica – заболевания у собак, кошек, кроликов, редко у человека по типу ОРВИ.

Морфология. Мелкие коккобактерии. Толуидиновым синим окрашиваются биполярно (метахроматические гранулы). Имеется капсула. Строгие аэробы, рост ускоряется в присутствии повышенного CO₂. Неустойчивы во внешней среде. Хемоорганотрофы, нуждаются в никотиновой кислоте, цистеине, метионине. Углеводы не ферментируют.

Культуральные свойства. На агаре Борде – Жангу (30-50% крови), КУА

(казеиново-угольный агар) на 2-3 сутки вырастают мелкие колонии, напоминающие капельки ртути или жемчужины, маслянистой консистенции, легко снимающиеся с поверхности среды – S- колонии. Гемолиз #. При стеромикроскопии виден узкий луч света, отходящий от центра колонии. На жидких средах (20% кровяной бульон) – помутнение, пленка со спускающимися вниз отростками.

Антигенные свойства. Общие (родовые) Аг – коклюшные и паракоклюшные. Видовые АГ: фактор 1 для *Bordetella pertussis*, 12 – *B. bronchiseptica*. 14 – *B. parapertussis*.

Эпидемиология. Путь передачи – воздушно-капельный.

Факторы патогенности *B. pertussis*.

- гистаминсенсibiliзирующий фактор;
- лимфоцитозстимулирующий фактор;
- термолабильный токсин цитоплазмы;
- фактор, активизирующий островки;
- микроворсинки – адгезия к мерцательному эпителию ВДП;
- гемагглютинин – адгезия и агглютинация эритроцитов;
- коклюшный токсин, в состав входит эндотоксин (лимфоцитоз, выработка инсулина, торможение гипергликемии, повышает цАМФ, что подавляет активность макрофагов);
- цитотонин – повреждение мерцательного эпителия.

Клиника. И.п. 6-20 сут. Стадии:

1 – катаральная, напоминает ОРВИ, слабый упорный кашель. Длится 1-2 нед.

2 – пароксизмальная, тяжелая. Длится 2-4 нед. Повторные приступы спастического кашля, иногда до остановки дыхания. После приступа – инспираторный стридор.

3 – выздоровления, длится 4-6 нед.

Профилактика. Вакцина АКДС (ИБП п. 6.4). Содержит убитые бактерии 1 фазы, коклюшный токсин, агглютиногены и Аг капсулы.

Лекция № 13. Микобактерии.

Лекция № 13.1. Микробиология туберкулеза. *Mycodacterium tuberculosis*.

Семейство – *Mycobacteriaceae*

Род - *Mycodacterium*

5 групп микобактерий:

1 группа - патогенные, относятся:

M. tuberculosis, *M. bovi*, *M. Micorti*, *M. Africanum*, *M. Avium*, *M. Leprae*. *M. lepraemurium*.

Туберкулез - «бугорок» - острое инфекционное заболевание человека и животных, характеризуется образованием специфических воспалительных изменений, часто имеющих вид маленьких бугорков, с преимущественной локализацией в легких и лимфоузлах и имеющие склонность к хроническому течению.

Заболевание известно с древних времен. В развитии болезни играет роль социальные условия. Возбудители распространены в природе: встречаются в почве, воде, организме тепло- и холоднокровных. Открыт Р. Кохом в 1882 г.

Возбудители туберкулеза:

M. tuberculosis;

M. bovis – возбудитель туберкулеза крупного рогатого скота- 5-20%, вызывают тяжелую, быструю форму тбс (чахотка);

M. avium – возбудитель туберкулеза птиц - 3% заболеваний.

Животные болеют *M. tuberculosis* и *M. bovis*. Люди заражаются через пищевые продукты. Низкая температура заморозки повышает вирулентность м/о. Пастеризация не уничтожает МБТ.

Статистика по заболеваемости туберкулезом.

С 1995 года во всем мире объявлена пандемия по ТБ.

В 2007 году **в мире** насчитывалось

13,7 миллионов зарегистрированных случаев хронического активного туберкулёза; 9,3 миллиона новых случаев заболевания; 1,8 миллиона случаев смерти, главным образом в развивающихся странах.

В 2007 г. в России зарегистрировано 117 738 больных впервые выявленным туберкулёзом в активной форме (82,6 на 100 тыс. населения), что на 0,2 % выше, чем в 2006 г.

Среди всех впервые выявленных больных туберкулёзом, бактериовыделители составили 40 %. Заболеваемость детей до 14 лет – 16,1 на 100 тыс. детей данной группы, а подростков - 15-17 лет – 33,5 на 100 тыс. (так же, как в Руанде, Бангладеш, Афганистане).

России смертность от туберкулёза за 2007 год составила 18,1 человека на 100 тысяч жителей (на 7 % ниже, чем в 2006 г.), таким образом, в год умирает от туберкулёза около 25 000 человек (в среднем по Европе смертность от туберкулёза приблизительно в 3 раза меньше).

- Африка – 363 случая на 100 тыс. населения; 28% случаев всех заболеваний.

- Азия – Бангладеш, Индия Индонезия Китай Филиппины- приходится половина всех новых случаев заболеваний.

- Китай – 250- 300;

- Туркмения, Таджикистан – 200;

- Нью- Йорк – 500;

- Япония – 30;

- Австралия до 40;

Прогноз ВОЗ: к 2020 году около 1 млрд. будут инфицированы МБТ, 200 млн. заболеют. Заболеваемость тропическими болезнями, ОКЗ, СПИДом в сумме меньше, чем больных тбс.

Морфология.

- грам (+), прямые или изогнутые палочки;

- в старых культурах образуют нитевидные формы;

- «зерна Муха» - кокковидные формы - кислотостабильные гранулы, состоящие из метофосфата, могут располагаться вне- и внутриклеточно;

- под влиянием химиопрепаратов образуют L- и фильтрующиеся формы,

сохраняющие инфекционность, что ведет к длительной персистенции бактерий в организме;

- споры, капсула, подвижность – отсутствуют;

- строгие аэробы, температурный оптимум 37С, рН 7,0-7,5, диапазон – 4,5-8,0. Время генерации 14-18 часов, рост стимулируется 0,5% глицерином и 5-10% CO₂.

- M.bovis – короткие, толстые палочки, в отличие от M. tuberculosis патогенны для кроликов: при в/в заражении вызывают гибель от генерализованного туберкулеза через 3-6 недель (время генерации больше).

Биологические свойства:

Характерно высокое содержание липидов - до 40% сухого остатка клетки.

Обнаружены 3 фракции липидов:

- фосфатидная (растворимая в эфире)

- жировая (растворимая в эфире и ацетоне)

- восковая (растворимая в эфире и хлороформе)

В составе липидов имеются специфические кислотоустойчивые жирные кислоты:

- туберкулостеариновая

- фтиоидная

- миколовая

- миколиновая

Высокое содержание липидов определяют свойства tbc:

1. Устойчивость к спиртам, кислотам, щелочам;

2. Трудная окрашиваемость. Клеточная стенка имеет строение как у Грам +, но при окраски по Грамму бесцветные, т.к. не воспринимают спирты и кислоты. Используют метод Циля-Нильсона - tbc окрашиваются в рубиново-красный цвет, форменные элементы и другие м/о в синий.

3. Устойчивость к высушиванию и действию солнечных лучей. Рассеянный солнечный свет убивает на 8-10 сутки. Кипячение мокроты – гибель палочек через 5-7 мин до 1 часа, в высушенной мокроте сохраняются несколько недель.

4. Устойчивость к действию обычных дезинфектантов: 5% фенол – гибель через 6 часов, 0,05% р-р бензилхлорфенола- 15 минут, 5% хлорамин - 30 мин, 10% лизол, 5% карболовая кислота – от 6 до 12 часов.

5. Высокая гидрофобность. На жидких средах на 5-7 сут образуют пленку, которая со временем утолщается, бульон остается прозрачным; на агаре - на 14-40 сутки сухой чешуйчатый налет или бородавчатые образования с приятным запахом, плохо смачиваются водой, плохо снимаются с агара.

6. Патогенные факторы:

-фосфатидная фракция - вызывает образование специфической тканевой реакции с образованием эпителиоидных клеток.

-жировая фракция- вызывает образование туберкулоидной реакции. Связано с действием фтиоидной кислоты.

- восковая фракция (связана с миколовой кислотой) – образование гигантских клеток Пирогова – Ланханса.

- главный фактор патогенности – токсический гликопептид - **тригалола**

6,6' димиколат (корд- фактор). Оказывает токсическое действие на ткани и защищает от фагоцитоза - блокирует окислительное фосфорилирование в митохондриях макрофагов. Микобактерии **tbc** лишенные корд – фактора, являются непатогенными. При заражении корд – фактором белых мышей, гибель наступает через 1-2 недели.

7. Липиды в ассоциации с белками вызывают ГЗТ. Выявляют с помощью туберкулиновой пробы.

По степени патогенности делятся на 2 группы:

- патогенные и условно- патогенные;
- сапрофиты.

Для отличия используют 3 признака:

I. скорость и условия роста.

1. Быстрорастущие (18 видов) – видимые колонии появляются ранее 7 дня.
2. Медленнорастущие (20 видов) – колонии появляются позже 7 сут.
3. Не растущие на питательных средах или требующие особые условия культивирования (лепра, лепрамуриум).

II. способность к пигментообразованию/

1. Фотохромогенные – образуют лимонно- желтый пигмент при инкубации на свету.
2. Скотохромогенные - оранжево- желтый пигмент при инкубации в темноте.
3. Нефотохромогенные – вне зависимости от света или не образуют пигмент или имеют светло- желтую окраску.

III. способность образовывать никотиновую кислоту (ниациновая проба).

M. tuberculosis - образует никотиновую кислоту (отличие от прочих МБ).

M. tuberculosis, *M. africanum*, *M. Kansasii*, *M. Bovis*, *M. avium* - медленнорастущие, нефотохромогенные.

Культуральные свойства:

Питательные среды: глицериновые, картофельные с желчью, яичные (среда Левенштейна- Йенсена).

Метод Прайса - культивирование мазка мокроты на стекле в сосуде с цитратной кровью. Мазок предварительно обрабатывают 5% серной кислотой для уничтожения сопутствующей микрофлоры. При наличии корд - фактора – рост палочек в виде серпантинообразных кос, обусловленный сближением клеток в микроколониях. Окраска мазка по Ц-Н.

Антигенная структура.

Каждый вид однороден, сильно отличается от других видов. Вызывает образование антиполисахаридных, антифосфатидных, антипротеиновых антител. Живые и убитые МБТ индуцируют развитие ГЗТ.

Лабораторные животные.

Наиболее чувствительные к *M. tuberculosis* морские свинки.

При любом способе заражения – генерализованная инфекция, гибель наступает через 4-6 нед. При п/к введении через 1,5-2 нед формируется инфильтрат, переходящий в язву не заживающую до гибели животного. Регионарные л\у увеличиваются, уплотняются, подвергаются казеозному

распаду, в печени, легких, селезенке формируются многочисленные бугорки, в которых содержится МБТ.

Эпидемиология.

Источник инфекции – больные открытыми формами ТБС (БК+), реже – больные животные.

Открытая форма - есть очаг с казеозным распадом и сообщением с внешней средой через бронхи, свищи, мочевыводящие пути. Может выделяться с испражнениями.

Инкубационный период - от момента заражения до проявления заболевания, иногда это вся жизнь. В 20 лет 100% инфицированность.

Входные ворота:

- легкие – воздушно- пылевой;
- воздушно- капельный способ;
- алиментарный – входные ворота кишечник. M.bovis передается от больных животных, чаще встречается у детей;
- контактный (у доярок от больных животных);
- трансплантационный (L- формы проходят через ворсинки хориона).

Патогенез.

Зависит от пути заражения. Первичный очаг может быть в легких (аэрогенный путь) или в мезентериальных л/у (алиментарный путь). Ингалированные микобактерии фагоцитируются альвеолярными и легочными макрофагами. Характерен незавершенный фагоцитоз (действие корд- фактора). Формируется первичный аффект в виде бронхопневмического фокуса из которого возбудитель по л/сосудам проникает в регионарные л/у. Бронхопневмический фокус + лимфангоит + лимфаденит – образуется первичный туберкулезный комплекс с развитием гранулем. В центре бугорка находятся гигантские клетки Пирогова-Ланханса, содержащие возбудитель. Центр бугорка окружен эпителиоидными клетками (основная масса бугорка), по периферии – лимфоидными клетками, плазмócитами, мононуклеарами.

Судьба первичного туберкулезного комплекса.

- при снижении общей резистентности очаг увеличивается, подвергается творожистому распаду, некрозу, происходит генерализация процесса гематогенным, лимфогенным, бронхогенным путем.
- при доброкачественном течении первичный очаг окружается соединительнотканной капсулой, сморщивается, пропитывается солями кальция (петрификация), формируется очаг «Гона». Иммуитет инфекционный нестерильный, т.к. МБТ могут долгие годы сохранять жизнеспособность.

Для клиники характерно чередование периодов выздоровления после химиотерапии и частых рецидивов. В организме МБТ сохраняются в виде L-форм, меняется иммунный статус больного. L-формы маловирулентны, без лечения переходят в основную форму и приобретают факторы вирулентности. Биологического излечения не наступает.

Особенности иммунитета.

- антитела не играют решающую роль в формировании приобретенного иммунитета, их высокий титр говорит о тяжести процесса. В составе ЦИК удаляют АГ из организма.

- основная роль – клеточный иммунитет. Феномен Коха:

Опыт № 1- на месте заражения морской свинки живыми бактериями через 10-14 дней образуется инфильтрат, затем не заживающая до самой смерти язва: идет генерализация процесса и гибель животного.

Опыт № 2- при заражении живыми бактериями через неделю после введения БЦЖ, реакция идет быстрее: на месте нового заражения через 2-3 дня формируется воспаление, некроз, язва заживает, распространение возбудителя не наступает. Т.е. сформировалась сенсibilизация (ГЗТ). Организм связывает новую дозу патогена и удаляет. Клетки – эффекторы: Т-лимфоциты при участии белков МНС I класса. Появление ГЗТ говорит о формировании приобретенного постинфекционного (поствакцинального) иммунитета.

Туберкулиновая проба.

1. *Alt Tuberculin Koch* – АТК – вытяжка культуры МБТ человеческого и бычьего видов, выращенная в течение 6-8 недель на МПБ с 4% глицерином и выпаренная при 90°C до 1/10 первоначального объема. Содержит продукты жизнедеятельности бактерий, компоненты клеточной стенки и питательной среды (ИБП п. 6.3). в настоящее время не применяется.

2. РРД-Л (Линниковой) (ИБП п. 6.2) – сухой очищенный туберкулин в стандартном разведении. Проба Манту ставят с 2 ТЕ для выявления больных и отбора контингента, подлежащего ревакцинации БЦЖ. Детям и подросткам проводится ежегодно независимо от предыдущих результатов. Вводят 0,1 мл в/к. Учет через 72 часа.

- отрицательный результат: отсутствует инфильтрат и гиперемия- ребенок здоров, но отсутствует иммунитет. Нужна ревакцинация;

- папула до 5 мм в диаметре - норма, человек здоров и имеет специфический надежный иммунитет. Вторичное поступление МБТ ведет к активации Т-клеток, цитотоксической реакции и образованию папулы. Это кладбище погибших клеток. Реакция строго специфична;

- положительная – папула более 5 мм – тубинфицированность. Манту с 5 и 10 ТЕ – только в противотуберкулезном диспансере для клинической диагностики и лечения больных.

Диагностика.

1. Бактериологический метод занимает 70 сут. Материал: мокрота, моча, ликвор, гной.

Материал + 0,05% ХГБ (деконтаминация и стабилизация) → инкубация при 37С, 24 часа → центрифугирование 15 мин 3000 об\мин → посев по 0,2 мл осадка на среды Л-И, Финна 2, Мордовского под резиновые пробки в наклонном положении → 48 часов 37С → в прямом положении → просмотр через каждые 2 недели в течение 3 мес. При росте → микроскопия по Ц-Н, МФА, посев на среду Л-И с разными концентрациями антибиотиков (изониазид, стрептомицин, рифампицин, этамбутол, канамицин,

протеинамид, офлоксацин, саливилоко-кислый натрий (д.б. отр!). Подтверждающие тесты: ниациновая проба, каталаза, нитрат редуктаза, 5% NaCl (отр). Бактериологический анализатор «Бактек» - рост через 5-7 дней, чувствительность к антибиотикам – через 2-3 недели.

- подтверждает диагноз туберкулеза;
- определяем вид микобактерий;
- контроль качества лечения;
- антибиограмма.

2. Бактериоскопический. Используют методы обогащения:

- гомогенизации - материал обрабатывают щелочью, встряхивают, центрифугируют. Из осадка готовят мазок;
- флотации: к гомогенизированному материалу приливают бензин или ксилол, встряхивают. МБТ всплывают вместе с частями бензина. Мазок из пленки;
- ЛСМ;
- фазово-контрастная микроскопия.

3. Биологический на морских свинках.

4. Аллергический (проба Манту).

5. Серологический: РСК, РПГА, ИФМ, иммуноблотинг. Говорит не о заболеваемости, а об инфицированности. 80% находок.

6. ПЦР: в мокроте, ликворе - достоверно; в крови - ?

Профилактика.

БЦЖ (BCG)(ИБП п. 6.1) –вакцина Кальмета и Жерена. 13 лет пассировали культуру *M bovis* (270 пересевов) на среде с солями желчи. Эт живые аттенуированные штаммы. Утрачен корд- фактор, но сохранены антигенные свойства. Вызывает клеточный иммунитет и сенсбилизацию организма. Формируется нестерильный иммунитет т.к. в организме есть *M bovis*.

Вакцинированный ребенок может заболеть туберкулезом, разовьется малая форма, но не будет менингита, ТВС позвоночника.

Лечение:

Программа DOTS. 5 основных принципов:

- политическая поддержка;
- диагностика через микроскопию;
- надежная поставка лекарств;
- контроль за лечением;
- регулярная оценка результатов.

Лекция № 13.2. Микобактериозы.

Выделяют 4 группы атипичных микроорганизмов – **микобактериозы** – вызывают заболевания внелегочной локализации, легкие поражаются редко. К ним относят:

1. *M. kansasii*- вызывает туберкулоподобные поражения легких, шейные лимфадениты «скрофулы», поражения кожи, редко – диссеминированные поражения. Резервуар – большое животное, т.к. выделяется из молочных продуктов. Антитела к *M. kansasii* перекрестно реагируют с антигенами *M. tuberculosis*, у инфицированных лиц реакция Манту положительная.

2. *M. marinum* – возбудитель туберкулеза рыб. Часто выявляется у лиц, посещающих бассейн. Вызывает инфицирование ран конечностей, локтевого участка кожи. Образуются изъязвляющиеся гранулемы, спонтанно заживающие в течение нескольких недель.

3. *M. ulcerans* – вызывает хроническое гранулематозное воспаление кожи и подкожной клетчатки - «язва Бурули».

4. *M. xenopi* – «лягушачий». Выделяют из резервуаров для хранения холодной и горячей воды. Вызывает острое и хроническое поражение дыхательных путей у людей с иммунодефицитами.

5. *M. intracellulare*. По морфологии и культуральным свойствам аналогична *M. avium*. Вызывает туберкулоподобное поражения легких, почек, кожи, костно - суставной системы. Переходит в генерализованное поражение у больных с иммунодефицитами.

Лекция № 13.3. Микробиология лепры. *Mycrobacterium leprae*

Возбудитель проказы или болезни Хансена – хронической генерализованной инфекции с преимущественным поражением эктодермы (покровные ткани и периферическая нервная система). Библейское «zagaath» обозначало моральную и физическую нечистоту.

Морфология. Грам (+) палочки, прямые или изогнутые, неподвижные, спор не образуют. В мазках располагаются параллельными группами («пачки сигар») или шаровидными скоплениями, окруженных полупрозрачной неокрашенной массой.

Клеточная стенка трехслойная, содержит миколовую, лепрозиновую кислоты. Кислото- и спиртоустойчивы. Obligatные внутриклеточные паразиты, во внешней среде быстро гибнут, в трупах сохраняются до нескольких лет.

Культуральные свойства.

Растут на глицериново-картофельном, кровяном, яичном агаре, агаре с сывороткой человека в течение 6-8 нед в виде сухого морщинистого налета. Хорошо культивируются в броненосцах (концентрация возбудителя в 100 раз выше, чем в тканях человека).

Эпидемиология. Мало контагиозное заболевание. Резервуар – больной человек. Путь передачи – контактный и воздушно-капельный.

Патогенез и клиника. И.п. 4-6, иногда более 10 лет. Бактерии проникают в нервные окончания → лимфатическим и кровеносным капиллярам. Развивается:

- abortивная инфекция – ограниченные гранулематозные высыпания (исчезают);
- туберкулоидная форма – образование гранул на коже и слизистых, поражение периферических нервов. Доброкачественная. Полярная форма - число очагов 1-3, симметричные, выраженная анестезия. Пограничная форма – число очагов больше, асимметричные, анестезия выражена меньше, невриты локтевого, лицевого, ушного и др. нервов.

- лепроматозная форма - образование гранул с «лепрозными» клетками, лимфоцитами, фибробластами. Тяжелая. Сплошные инфильтраты красно- бурого цвета на лице (*facies leonina*) и дистальных отделах конечностей. Выпадение бровей и ресниц, поражение глаз. Л/у увеличены, содержат большое количество возбудителей. Лепроматозные периоститы и оститы → остеопороз и остеомаляция. Анестезии гранулем нет.

Диагностика. Материал – соскоб слизистой носовой перегородки, тканевой сок, пунктат л/у.

- Окраска по Ц-Н.
- Бактериологическая проба на морских свинках.
- Кожная проба с аллергеном (лепромином) – отрицательная при лепроматозной форме, т.к. отсутствуют клеточные реакции.

Лечение. Сульфоны, дапсон, рифампицин, клоfazимин – длительно.

Лекция № 14. ООИ. Микробиология сибирской язвы. *Bacillus anthracis*.

Сем. Bacillaceae

Род *Bacillus*

Вид *Bacillus anthracis*

Историческая справка.

1864г. – в Европейской части России погибло 90 000 животных;

1875г.- в Сибири погибло около 100 тыс. лошадей;

1879г. – в Южной России пало 125 тыс. овец.

1848 – 1917гг. в тундрах пало от сибирской язвы 1 514 500 оленей.

В России с 1896 по 1913 гг. болело 268 тыс. человек, из которых умерло 25%. В

1900-1914 гг. ежегодно заболело 15-20 тыс. человек

ВОЗ – до 9 тыс. заболеваний в год. В России - в настоящее время единичные случаи.

Распространено с 600 г. до н. э. В 18 веке – эпидемии, особенно в России. В 1788 г. в опыте самозаражения Андриевский С.С. доказал идентичность сибирской язвы человека и животных. В 1876 г. Кох впервые выделил чистую культуру.

Источник инфекции.

Больные и павшие животные, а также кожа, шерсть, рога, копыта снятые с забитых или павших с/х животных.

Резервуар.

Загрязненная почва. В 1962г. вспышка сибирской язвы у убойного скота на скотопрогонной трассе Арзамас - Горький: произошел контакт скота с почвой траншей, вырытых при прокладке газопровода. В эпизоотию были вовлечены другие гурты и стада окружающих колхозов и совхозов.

Заражение животных.

- 1) алиментарным путем (корм, питьевая вода);
- 2) трансмиссивным – через укусы мух, клещей, слепней;
- 3) редко- воздушным.

Морфология.

- крупная Гр (+) палочка, длина – 6-10 мкм, диаметр- 1-1,5 мкм.
- аэроб или факультативный анаэроб.
- концы обрублены и втянуты. В мазках располагаются парами, цепочками (бамбуковая трость).
- жгутики отсутствуют. Неподвижны (NB!)- основной диагностический признак.
- в организме больных и павших образуют **капсулу**. Капсулообразование происходит на специальных питательных средах, обогащенных сывороткой или кровью. Наблюдается у свежeweделенных штаммов. Все капсульные формы – высоковирулентны; бескапсульные - авирулентны. Для выявления капсул используют окраску по Рамоновскому - Гимзе, Рибегеру (синее тело, розовая капсула).
- образуют **споры**. При хорошем доступе воздуха и определенной влажности вегетативные формы вне организма человека или животного переходят в споровые. В организме больных и в нескрытом трупe споры не образуются. Спора располагается центрально, не деформирует клетку. Хорошо образуются при выращивании на бедных питательных средах с доступом кислорода. Образуется в дистиллированной воде, в незафиксированных мазках. Это защита микроорганизма от воздействия внешней среды. Форма заражения человека и животных – спора. Температурный оптимум спорообразования – 30-35 , диапазон – 12-43 . Спора содержит 3 фермента:

-нуклеозидрибозидаза

-аланинрациназа

-аденозиндезаминаза

Окраска спор: Циль-Нильсону, Рамоновскому - Гимзе.

Культуральные свойства.

- к питательным средам не требовательна. Хорошо растет на агаре Мартена, Хоттингера.

- Т оптимум- 37-38 , рН 7,2-7,6 (7-8).
- на плотных средах образуются матовые, непрозрачные, шероховатые колонии с неровными краями, диаметром 3-5 мм - R - форма. Под малым увеличением микроскопа вид львиной гривы, головы медузы – из-за цепочечного расположения палочек, которые образуют нити, отходящие от центра. В S-форме - круглые гладкие колонии с ровными краями.
- на жидких средах в R-форме рост в виде комочка ваты, бульон остается прозрачным, в S-форме - равномерное помутнение. *Bacillus anthracis* вирулентна в R-форме.

Биохимическая активность.

- ферментирует почти все сахара с образованием кислоты без газа;
- образует H₂S;
- липаза +;
- биостаза +;
- желатиназа +;
- цитохромоксидаза +;
- каталаза +;
- пероксидаза +;
- не обладает уреазной, лицитиназной, фосфатазной активностью (NB !)

Антигенная структура.

- *K* - Ag- капсульный- полипептид D-глутаминовой кислоты, T^o- лабильный, групповой. Является Ag вирулентности.
- *O* – Ag – соматический, ЛПС, T-стабильный, длительно сохраняется во внешней среде и в трупах . Определяется в серологических реакциях (р.Асколи). Нет протективных свойств.
- *экзотоксин* - видоспецифический Ag. Образуют капсульные и бескапсульные формы.

Факторы патогенности.

I. капсула. Определяет вирулентность м/о:

- подавляет фагоцитоз;
- фактор адгезии на клетках макроорганизма;
- защита от бактерицидного действия крови. Ее утрата приводит к потере вирулентности. Синтез контролируется плазмидой.

II. экзотоксин. Основной фактор вирулентности и иммуногенности. Состоит из 3 факторов, действуют в синергизме:

- а) летальный – оказывает цитотоксический эффект, вызывает отек легких;
- б) отечный – липопротеид, повышает концентрацию цАМФ, вызывает отеки;
- в) протективный антиген – белок - взаимодействует с мембранами клеток, активирует другие компоненты токсина; индуцирует синтез защитных антител. Используют в производстве вакцин.

Синтез сложного токсина и капсулы контролируются плазмидами рХ01 и рХ02. Экзотоксин подавляет фагоцитоз, функцию системы комплемента, иммунопротективные свойства организма, активность дыхательного центра и гипоталамуса.

Резистентность.

1) *вегетативная форма* - средняя устойчивость: при T^o 75 и выше - погибает

через 1 мин, 60 °С – 15 мин., дезрастворы - через 10 мин. В трупах без доступа кислорода- м/о погибает через несколько дней от сопутствующей гнилостной микрофлоры. Павших животных не вскрывают.

2) Споры в воде сохраняются несколько лет;

- в почве – 10 - тки лет;
- УФ- выдерживают 20 сут;
- кипячение- 45-60 мин;
- сухой жар – 180°С до 3 часов;
- автоклавирование -2 атм. – 1 час;
- 10% NaOH или 1-2% р-р формалина – 2 часа;
- 5% р-р марганцевокислого калия – 24 часа;
- 4% р-р хлорной извести -3 мин;
- хорошо сохраняются в дубленных кожах, засоленном мясе.

Патологический **материал уничтожают:**

- сухой жар при 180 2-3 часа;
- кипячение с 2% содой 1 час;
- трупы кремируют;
- посева автоклавируют 2 атм. – 1 час.

Фиксацию мазков проводят смесью Никифорова (равные части спирта и эфира), охлажденным ацетоном. Спиртом проводить нельзя, т.к. выживают в нем до 50 сут.

Чувствительность к АБ.

-к пенициллину, т.к. мало вырабатывают пенициллиназу, переходят в L-форму (сферопласты). На агаре содержащем 0,05-0,5 ЕД/мл пенициллина через 3 часа роста бациллы распадаются на шарики, располагающиеся цепочкой - феномен « жемчужного ожерелья».

-ко многим АБ: доксициклину, рифампицину, ампициллину, эритромицину, тетрациклину. **Изменчивость.**

- от качества среды меняется морфология колонии, клетки (цвет, S-форма);
- бескапсульные формы *Bacillus anthracis* – СТИ - сибиреязвенная вакцина;
- беспоровый штамм Девиса;
- может образовывать капсулу фрагментами;
- может не вырабатывать токсин.

Эпидемиология и клиника.

Основной источник инфекции- больные травоядные животные (коровы, овцы, лошади, олени, в меньшей степени свиньи). Выделяют возбудителя с мочой, испражнениями, слюной в почву. **Человек заражается:**

- **при непосредственном контакте** с трупами животных, разделке туш, уходе за больными животными, работе с шерстью, шкурами, через рубочные доски зараженными возбудителем или его спорами. Профессиональное заболевание - на мясобойнях.

98% случаев - кожная форма, проявляется в виде сибиреязвенного карбункула. Покраснение – отек - папула - везикула- пустула - струп, который быстро чернеет. Вокруг него образуются вторичные пустулы, которые сливаются в один черно-коричневый струп. Пораженные участки отечны, с захватом всей поверхности ноги, руки или лица. Болезненности нет. Т 39-40° С. При лечении через 5-6 дней

состояние улучшается.

-**при вдыхании** пыли со спорами – легочная форма. Протекает в виде геморрагической пневмонии. Смерть на 2-3 день.

-**при поедании** плохо проваренного мяса – кишечная форма - тяжелый энтероколит с геморрагическими проявлениями. Болезнь длится 2-4 дня и letalis.

Септическая форма – первичная и вторичная (осложнение других форм). Отмечается большое количество возбудителя в крови, ликворе и во внутренних органах. Исход смертельный.

Патанатомия – отек в месте инфицирования, отек легких, несвертываемость крови, гиперемия внутренних органов, кровоизлияния в клетчатку. Трупное окоченение слабое или совсем отсутствует, наоборот, наступает быстрое трупное разложение.

Инкубационный период - от несколько часов до 6-14 дней (2-3 дня).

Иммунитет антитоксический и антимикробный, клеточный и гуморальный. Возможны повторные заболевания.

Лечение.

- **противосибиреязвенный гамма - глобулин** (ИБП п. 5.10)– белковые гамма- и бета- глобулиновые фракции, выделенные из сыворотки крови иммунизированных лошадей, содержащие антитела к сибиреязвенному микробу. С профилактической целью - лицам, имевшим контакт с инфицированным материалом.

-**антибиотики курсом 7-10 дней.**

Профилактика.

-в 1881 г Пастер создал и применил вакцину. Все привитые животные перенесли заражение сибирской язвой.

-в 1883г Л.С. Ценковский – живая споровая бескапсульная вакцина.

-в 1940 г Гинсбург получил из вирулентной культуры штамма «Красная Нива» вакцинный бескапсульный авирулентный мутант СТИ (ИБП п. 5.11 - 5.12). Прививают по профессиональным показаниям, длительность иммунитета 12 мес.

Лабораторная диагностика

Материал: мокрота, отделяемое карбункула, кровь, фекалии, моча, почва, вода, пищевые продукты, сырье животного происхождения, мазки крови из периферических вен уха свежего трупа, ухо павшего животного (разрез между двумя лигатурами, место разреза прижигают). При вскрытии: отбирают селезенку или печень, от свиней - ткань из области глотки.

- **бактериоскопический метод**

- по Грамму, Ц-Н, Р-Г (капсула), ЛСМ. Если все (+) , дается ориентировочный положительный ответ.

- **бактериологический:**

Посев на МПА и МПБ. Через 18-24 часа рост матовых колоний с изрезанной периферией (голова медузы), на МПБ рост в виде хлопьев (комочек ваты), бульон прозрачный.

Отличия *Bacillus anthracis* от антракоидов

Признаки	Сибирская язва	Антракоиды
капсула в организме	+	-

подвижность	-	+
гемолиз на КА	-	+
лакмусовое молоко	краснеет	синее
патогенность для мышей	+	-
лизис с/я фагом	+	-
феномен «жем. ожерелья»	+	-

- **биологический**: п/к заражают белых мышей и морских свинок – гибель через 24 часа; кролики – через 2-3 сут. В препаратах - мазках – капсульные палочки. Клиническая картина- см. у людей.

- **серологический**:

а) реакция термопреципитации Асколи. Обнаруживают термостабильный О-Аг. Из материала (животное сырье, трупы) извлекают гаптен (простерилизованный в автоклаве материал измельчают, экстрагируют 16-20 часов при 8-14°C в физ. р-ре и фильтруют). Экстракт наслаивают на с/я сыворотку. В «+» случае в течении 15 сек, но не позже 2 мин образуется кольцо преципитации на границе 2-х сред.

б) для выявления антител: латекс-агглютинация и пассивная агглютинация с протективным сибирезвненным антигеном.

- **аллергическая проба с антраксином** (ИБП п. 5.13) (белково-полисахаридно-нуклеиновый комплекс, извлекаемый при гидролизе из бацилл). Положительная проба выявляет сенсibilизацию у больных (со 2-ой нед. заболевания), переболевших и привитых (РГЗТ). Проявляется в первые дни болезни или после вакцинации и сохраняется несколько (30) лет.

- **ПЦР**.

- **ИФА** (определение протективного антигена и токсина).

Лекция №15. Особо опасные инфекции.

Лекция № 15.1. Микробиология бруцеллеза. Род *Brucella*.

Бруцеллез - заболевание людей и животных, вызываемое бактериями рода *Brucella*.

Источник инфекции сельско-хозяйственные животные: мелкий и крупный рогатый скот, свиньи, верблюды, олени. Для каждого вида животных

характерен свой вид бруцелл.

1. *Brucella melitensis* –козье – овечий тип. Высокпатогенен для человека – 95-97% всех случаев. Вызывает эпидемии среди животных. Приходится забивать все стадо.

2. *B. suis*. Источник инфекции свиньи, грызуны, зайцы, олени. Высокпатогенен для человека до 1% случаев.

3. *B. abortus*. Бычий тип. Менее патогенен для человека. Вызывает спорадические заболевания 1-3% случаев заболевания.

Бруцеллы могут переходить на другие виды животных: волки, лисицы, грызуны, лошади, сайгаки и т.д.

Миграция бруцелл: переход одного вида возбудителя на другой вид животного. Например, *B. melitensis* у коров.

Бруцеллы, не являющиеся основными представителями, вызывающими заболевания у людей:

B. neotome – и.и. древесные крысы.

B. ovis – и.и. овцы. Для людей не патогенны. (Австралия).

B. canis – собачий тип. Вызывает заболевание только у собак.

Морфология.

Мелкие грамотрицательные коккобактерии, длиной 1-1,5 мкм, диаметром 0,4-0,6 мкм. Спор и капсул не образуют. Медленно растут (клинически медленная инфекция).

Культивирование.

1. *Среда эритрит- агар*. Входит многоатомный спирт эритрит. Его много в околоплодной жидкости. Оптимум рН 7,2-7,4.

2. *Мясные среды* с добавлением 1% глюкозы, 1% глицерина. Оптимум рН 6,6-6,9.

На обогащенных средах рост через 2-3 сут. На простых средах – до 10 сут. Рост на бульоне до 1 месяца.

Колонии – нежные, гладкие, беловатого цвета, полупрозрачные. В центре колонии при солнечном свете яркое свечение – «полусфера». Первичные посевы растут при повышенном содержании CO₂-10%, последующие при обычных условиях. Одна порция материала культивируется в обычных условиях, две – при 10% CO₂.

Биохимически не активны, в наших условиях можно определить только уреазную и оксидазную активность.

Антигенная структура.

Имеются А-, М-, R - антигены. Присутствуют в ЛПС. Различают с помощью бруцеллезных сывороток.

Имеется антигенное родство с другими видами м/о:

-холерой (у привитых против холеры реакции Хеддельсона положительна первые 3 мес);

-туляремией;

- У *B. abortus* есть общие Аг с иерсиния энтероколитика, серовар 9. Серологически не дифференцируются. Можно отличить только по пробе Бюрне.

Факторы патогенности.

- эндотоксин;
- способность подавлять фагоцитоз;
- ферменты гиалуронидаза и др.;
- аллергенные свойства;
- считается, что имеется экзотоксин.

Эпидемиология.

Проявления болезни у крупного и мелкого рогатого скота – инфекционные аборт. Могут носить массовый характер. У свиней – хронический сепсис с поражением суставов, яичек.

От больных животных возбудитель выделяется с молоком, мочой, испражнениями, гноем и особенно много с околоплодными водами. Связывают с наличием в оболочках плода многоатомного спирта – эритриола, который является фактором роста для бруцелл.

Пути заражения человека:

- контактный. Возбудитель проникает через кожу рук, слизистые оболочки носа, рта, глаза – заносится грязными руками;
- контактно- бытовой (работники животноводства - пастухи, доярки, скотники, ветеринары);
- алиментарный (непастеризованное молоко и молочные продукты из него, вода).

Патогенез и клиника.

И.п. – 1 нед – несколько месяцев.

Возбудитель по лимфатическим путям попадает в лимфоузлы и размножаются в них. Чаще поражаются миндалины, заглоточные, шейные, подчелюстные узлы и л/у кишечника. Далее попадает в кровь → по всему организму. Поражается лимфо – гемопоэтическая система. Происходит сильная аллергизация организма. Протекает как хронический сепсис. Обусловлено незавершенным фагоцитозом: м/о не доступны для АТ и АБ. Внутри клеток переходят в L-формы, длительно персистируют в организме, могут реверсировать и вызывать рецидив.

Клиника.

Многообразная. Зависит от аллергизации, интоксикации организма и пораженных органов. Часто поражаются лимфатическая, сосудистая, гепатолиенальная, нервная и особенно опорно- двигательная системы. Длительное течение болезни (до 10 мес). Приводит к потере трудоспособности, инвалидности.

Иммунитет.

Постинфекционный – длительный, прочный, перекрестный (против всех видов бруцелл), возможны повторные заболевания.

Обусловлен Т- лимфоцитами, макрофагами. У иммунных людей и животных фагоцитоз завершенный. Роль АТ – стимуляция фагоцитоза.

При инфицировании большими дозами и высоковирулентными штаммами иммунитет нарушается.

Лабораторная диагностика. Клинически диагноз не ставят.

Материал для исследования:

Острый, лихорадочный период: кровь, ликвор, пунктат грудины (при нейробруцеллезе).

Хронический период: моча, желчь, мокрота (редко), секционный материал. Пунктат из сустава брать бесполезно, т.к. это проявление аллергической реакции

От животных - абортированный плод, содержимое желудка (легко получить материал), молоко.

- **бактериологический метод.** Культуру трудно выделить. Выделяют только у больных с *V. melitensis* в лихорадочном периоде, у хронических больных не выделяется.

- по Костанеда: 5-10 мл крови из локтевой вены засевают в 3 флакона с 50-100 мл печеночного бульона. Два из них инкубируют в условиях 10% CO₂. Рост через 10 дней- 1-1,5 мес (45 дней): помутнение, слизистый осадок, в мазках грамотрицательные коккобациллы. Ставят РА на стекле с агглютинирующими сыворотками, определяют чувствительность к фагу.

- посев на плотные среды с ингибиторами посторонней м/ф (генцианвиолет, пенициллин).

Преимущества:

рост через 2-3 сут, быстрый
ингибируется посторонняя микрофлора
посев min количества крови. Засевают 5-6 чашек по 0,2- 0,3 мл
культура сохраняет Ag состав
в свернутой крови выделить нельзя.

Вид бруцелл определяют по:

- потребности в CO₂ (есть у *V.abortus*);
- образованию H₂S (*V. melitensis* не образует);
- росту на средах с бактериостатиками (фуксин, тионин)- (*V. suis* не растет с тионином);
- агглютинации специфическими сыворотками;
- уреазной активности (нет у *V.abortus*);
- пробе с ТБ. (Только у *V.abortus*);

- **биопроба.** Для выделения культуры из загрязненного материала. Вводят п/к, в/брюшино, н/к морским свинкам и белым мышам. Вскрывают через 20-30 дней. Кусочки органов и л/у засевают на пит. среды для получения ч.к.

- **ПЦР.**

- **серодиагностика.**

В начале инкубационного периода и заболевания появляются неполные АТ, держаться долго – до 5-10 лет. Полные АТ появляются через месяц после заболевания, максимальных титров достигают к 6 мес и держаться до года.

1. реакция Хеддельсона. Неразведенную сыворотку больного раскапывают на стекле в объемах 0,04, 0,02, 0,01 мл; в каждый объем вносят концентрированный единый бруцеллезный диагностикум. Учет: РА в объеме

А) 0,04 – слабоположительная реакция;

Б) 0,04 и 0,02 мл – положительная;

В) во всех трех объемах – резко положительная.

Реакция положительная в начале заболевания (неполные АТ), в остром и

хроническом периоде. Р-ция качественная, говорит о заражении, но не о заболевании. При отрицательном результате р. Райта можно не ставить.

2. реакция Райта. Пробирочная реакция агглютинации. Сыворотку больного разводят от 1:25 до 1:800, вносят разведенный 1:10 бруцеллезный диагностикум.

РА в титре 1:100 – слабоположительная;

1:200-1:400 – положительная;

1:800 – резко положительная.

Реакция положительная в острой и подострой стадии заболевания. Выявляет только полные АТ. Феномен «зоны или прозоны» - т.к. много неполных АТ агглютинации не наблюдается в низких разведениях сыворотки, в следующих разведениях РА положительная.

3. РНГА (выявляет неполные АТ, положительна в начале заболевания и до 1 года);

4. р-ция Кумбса (выявляет неполные АТ, положительная в начале заболевания и на протяжении всего периода). У хр. больных р. Хеддельсона сомнительная, р. Райта отрицательная, р. Кумбса положительная, т.к. выявляет неполные АТ. Серологические реакции могут быть отрицательными у людей с иммунодефицитами;

5. ИФА. Положительный титр 1:400;

6. РСК, ОФР, МФА;

- *кожно-аллергическая реакция Бюрне с бруцеллином* (ИБП п.5.3). Ставится в комплексе с серологическими реакциями. Положительная у больных, переболевших, вакцинированных. В основе лежит РГЗТ, аллергизация наступает через 3 мес. Пока в организме есть единичные клетки бруцелл реакция положительная. Держится более 10 лет. Тяжелым больным р-ция не ставится, могут развиваться некрозы. Ставят здоровым людям перед вакцинацией, при обследовании очага, хроническим больным в стадии ремиссии.

Сроки постановки методов:

- бактериологический, р. Хеддельсона, р. Райта, РНГА – в острый и подострый период.

-р. Кумбса, р. Бюрне, р. Хеддельсона – при хроническом бруцеллезе.

-р. Хеддельсона, р. Райта – при эпидобследовании.

Бактериофаги.

Впервые получен умеренный БФ в 1955г. из сточных вод коровника (тбилисский - ТБ). Фаг стабилен, лизирует только *V. abortus*.

Чувствительность к АБ:

- *V. abortus* и *V. melitensis* устойчивы к пенициллинам (500 Ед / мл). Вакцинные штаммы и *V. suis* чувствительны к пенициллину в отличие от вирулентных штаммов.

Высокочувствительны к тетрациклину, рифампицину, гентамицину, стрептомицину, левомицетину.

Специфическая профилактика (ИБП п.5.1, 5.2)

1. Живая бруцеллезная вакцина из штамма *V. Abortus* – ЖБВ.

2. Химическая бруцеллезная вакцина – ХБВ. В России нет.

3. Убитая лечебная вакцина – используют для лечения хронического бруцеллеза.

Лекция № 15.2. Микробиология туляремии. *Francisella tularensis*.

Возбудитель - *Francisella tularensis*. Открыт Мак-Коем и Чепином, изучен Френсисом (род); Вид – по названию местности (Туляре).

Морфология.

Мелкие неподвижные кокковидные капсулированные палочки (коккобактерии). Выраженный полиморфизм: в мазках культур – кокки, в мазках из органов – коккобактерии. Спор не образуют, капсула ложная, неподвижны. При окраске специальными методами дают биполярную окраску. Строгие аэробы. Т оптимум 37°C, рН 6,7-7,2.

Культуральные свойства.

На обычных средах не растут, требуются аминокислоты, тионин, Mg. Используют среды:

- Маккоя (свернутая желточная среда);
- агар с переваром сердечной мышцы и 5% крови барана;
- желточные среды с тканевыми экстрактами, цистином, глюкозой, кроличьей кровью. Колонии мелкие – 2 мм через 3-5 сут. На жидких средах рост поверхностный.

Расщепляют некоторые углеводы с образованием кислоты, образуют H₂S. Вирулентные формы образуют S- формы. Т° оптимум – 36-37°C. В среды добавляют пенициллин – тормозит рост сопутствующей микрофлоры.

Факторы патогенности.

- псевдокапсула – угнетает фагоцитоз, адгезия на клетках респираторного и кишечного трактов;
- нейроминидаза – адгезия;
- фибринолизин, липаза – проникновение внутрь клетки;
- эндотоксин;
- аллергенные свойства клеточной стенки;
- способность размножаться в фагоцитах и подавлять их киллерный эффект (внутриклеточный паразит);
- взаимодействие с Fc- фрагментом - нарушение активности макрофагов и комплемента.

Антигены.

-O- Ag, родство с Ag бруцелл.

-Vi- Ag (капсульный), содержат вирулентные штаммы.

S – форма- вирулентная; Диссоциация в R- форму – утрата вирулентности.

Устойчивость во внешней среде:

- фураж, зерно – 4мес;
- вода – 3 мес;
- лед – 1мес.
- чувствительна к УФ, высоким Т (100°- мгновенно), 50% спирту, антисептикам – гибель через 5-10 мин.
- выдерживает ↓ Т: в замороженном состоянии – 10 лет, фураж, зерно- 8-20 сут, трупы грызунов – 6 месяцев.
- гнилостная микрофлора является антагонистом, т.к. м/о размножаются быстрее, чем туляремийный микроб.

Эпидемиология.

Распространены в пресноводных водоемах.

Паразитирует у человека, млекопитающих, птиц, членистоногих, рыб и земноводных.

Основные и.и. для человека – полевка, домовая мышь, водяные крысы,

ондатры, зайцы (русак и беляк):

-1 гр. высоко восприимчивые и чувствительные животные – мышевидные грызуны, водяные крысы, зайцы, песчанки. Смертельная доза 1 микробная клетка.

-2 гр. – высоко восприимчивые, но менее чувствительные животные – серые крысы, суслики, хомячки, нутрии, белки, человек. Заражение от 1 мкб кл, DLM – от 1 млрд. мкб. кл.

-3 гр.- устойчивы к высоким заражающим дозам – хищники (лисы, хорьки, собаки, еноты, овцы, ласки).

- 4 гр.- невосприимчивые – копытные, холоднокровные, птицы.

Переносчики инфекции: кровососущие членистоногие: иксодовые, гамазовые клещи, блохи, слепни, комары, москиты.

Пути заражения:

- контактный – через кожу и слизистую оболочку глаз;

- инокулятивный (трансмиссивный) – при укусе переносчика;

- алиментарный – через ЖКТ;

- аспирационный - через дыхательные пути (сельхозработы).

Восприимчивость человека высокая, от человека человеку не передается (биологический тупик).

Патогенез.

Возбудитель размножается в лимфатических узлах, часть его разрушается с выделением эндотоксина – формируются туляремийные бубоны. Возбудитель проникает в лимфо- и кровоток, выделяются новые порции эндотоксина, происходит сенсбилизация. Образуются метастазы в печени, селезенке, лёгких, костном мозге.

Клиническая картина. И.п. -2-8 дней, начало острое. Различают 4 клинические формы.

1. бубонная – 70-80% всех случаев. Возникает при укусе насекомого, контакте с кровью и выделениями больного животного, загрязненными объектами (зерно, сено) и купании. На 7 день в месте внедрения образуется первичный аффект – язва.

Различают глазо – бубонную, ангинозно- бубонную, язвенно- бубонную формы.

2. легочная - при гематогенном заносе в легкие или воздушно- пылевой передаче. Может от человека к человеку передаваться воздушно- капельным путем.

3. генерализованная – при употреблении зараженной пищи.

4. абдоминальная. Язвенные очаги в ЖКТ, воспаление брыжеечных л/у.

Постинфекционный иммунитет прочный, стойкий, пожизненный. Обусловлен Т-лимфоцитами, макрофагами (приводит к развитию ГЗТ) и антителами.

Лабораторная диагностика.

Материал: гной из бубонов, отделяемое глаза, пунктат лимфатических узлов, мокрота, кровь, секционный материал. При любой форме берут кровь 5-7 мл.

1. бактериоскопический. Окраска по Грамму и метиленовым синим. МФА.

2. бактериологический. От больного возбудитель не выделяется, сначала используют биологический метод, а затем из посевов крови и органов выделяют чистую культуру. Используют ослабленных животных (предварительное введение желтка или гидрокортизона) Изучают морфологические, культуральные, антигенные (РА со специфической сывороткой) свойства.

3. ПЦР.

4. биологический - чувствительны морские свинки, белые мыши.

5. серологический

Обнаружение антител со 2-ой недели заболевания:

- РПГА,
- пробирочная РА,
- РНГА,

Диагностический титр 1:100. Обязательно прослеживается нарастание титра АТ в парных сыворотках.

- экспресс- метод - кровяно-капельная реакция: капля крови больного в дистиллированной воде (лизис эритроцитов) смешивают с диагностикумом.

При титре 1:100 немедленно появляется РА.

- непрямой ЛСМ с сывороткой больного, разведенной 1:10.

Обнаружение антигенов в РПГА (РНАг, РТПГА), ИФА при исследовании материала внешней среды (трупы грызунов, погадки, помет).

6. кожно - аллергический. (ИБП п. 5.7). Проба с тулярином (взвесь убитых нагреванием до 70°C бактерий) положительна при в/к пробе с 3-5 дня, н/к- с 6-8 дня заболевания у больных, а также у переболевших и вакцинированных.

Профилактика.

В группах риска применяют живую туляремийную вакцину (ИБП п.5.6).

1. Работники лаборатории при работе в туляремийных природных очагах;
2. с/х рабочие в местностях неблагоприятных по туляремии.

Лекция № 16. Микробиология чумы. *Yersinia pestis*.

Третья пандемия чумы началась в Гонконге в 1894г., продолжалась 20 лет, унесла 10 млн. человек. Возбудитель чумы выделен Иерсин и Китагато, доказали роль крыс в эпидемиологии чумы.

Сем. Enterobacteriaceae

Род Yersinia

Вид Y. pestis – **возбудитель чумы**;

Y. pseudotuberculosis- возбудитель псевдотуберкулеза;

Y. enterocolitica – возбудитель кишечного иерсиниоза.

Морфология.

- короткая овоидная Гр (-) палочка с биполярной окраской- выявляется метиленовой синькой Леффлера- окраска ярче по полюсам;
- длина 1-3мкм, диаметр 0,3-0,7 мкм;
- в мазках из бульонной культуры располагаются цепочкой, из агаровой культуры - беспорядочно;
- характерен полиморфизм - образуют шаровидные, колбовидные, нитевидные (long), L-формы в субоптимальных условиях;
- спор, жгутиков не имеет;
- образует капсулу белковой природы при 37 С.

Культуральные свойства.

- аэроб;
- хорошо растет на обычных питательных средах;
- Т диапазон – 0-45° С, оптимум- 27-28 С. рН 6,9-7,1;
- вирулентные штаммы образуют R-формы;

на жидких средах через 48 часов образуется нежная пленка, от которой спускаются нити (сталактиты), на дне рыхлый осадок, бульон остается прозрачным. При встряхивании – агглютиногенный рост. Y.pseudotuberculosis дает диффузное помутнение.

на плотных средах – 3 стадии:

- через 10 часов рост в виде бесцветных пластинок - «битое стекло»;
- через 18-20 ч- при микроскопии видна светлая кружевная зона вокруг центральной желтоватой части- «кружевные платочки»;
- через 40-48 ч – очерченный бурый центр с выраженной периферической зоной - «взрослая колония».

Потребность в питательных средах.

1.для ускорения роста (до 3 сут) добавляют стимуляторы роста: гемолизированную кровь, сульфит натрия, сарцины в лиофилизированном виде, генцианвиолет - для подавления роста гнилостной м/ф.

2.слабовыраженная протеолитическая активность - нужны среды с глубоким расщеплением белка: агар Хоттингера, гидролизат селезенки, рыбной муки. Среда должна содержать готовые аминокислоты.

3.природный ауксотроф - паразитирует в организме.

Резистентность.

- в мокроте- до 10 дней;
- к дезинфектантам обычная чувствительность (5-10 мин);
- в блохах – 1 год;
- в клещах – 5 лет;
- нагревание до 50 С – гибель через 30-40 мин;
80 С – гибель через 5 мин;
100С - гибель через 1 мин;

- УФ - 2-3 часа – гибель;
- пищевые продукты: зерно, хлеб, овощи (при + T) – 3 мес;
- вода-47 дней;
- в стерильной почве- до 1 года, в нестерильной – до 7 мес;
- 1%р-р хлорамина – 3 мин;
- 5% лизол- 5 мин;
- устойчивы к низким T.

Антигенная структура.

Однородная. Имеется:

-капсульный Ag -фракция 1(F1)-поверхностный гликопротеин. Образуют вирулентные штаммы в организме человека, животных, на спец. пит. средах (экстракт селезенки). При 37С на 2 сутки рост слизистых колоний, т.к. есть капсула. Защита от фагоцитоза.

-антигены T, V-W.

- V-белок, W- липопротеин - поверхностный Ag, препятствует фагоцитозу.

-белки плазмокоагулазы (отвечают за инвазивные свойства), фибринолизина, наружной мембраны (антифагоцитарная активность).

-рН 6 - Ag, выявляется при рН 6,0. Оказывает токсическое действие на культуру клеток.

Факторы патогенности.

1. F 2 –«мышинный токсин». Белковоподобное вещество, локализованное внутриклеточно. При введении белым мышам- letalis.Нарушает процесс переноса электронов в митохондриях сердца и печени, поражает тромбоциты и сосуды (тромбоцитопения). Имеет свойства эндо - и экзотоксина, состоит из 2 фракций, различающихся по аминокислотному составу. 1-я отвечает за прикрепление токсина к клетке хозяина, 2-я – за токсические свойства.

2. OCA - общий соматический антиген. Это измененная структура ЛПС, т.к. R-форма. Определяет токсичность и алергизацию.

3. Бактериоцины (пестицины 1 и 2) – обладают иммуногенными свойствами и оказывают бактерицидное действие на *Y. Pseudotuberculosis* и некоторые штаммы *E.coli*

4. Пигментообразование. Сорбируют экзогенные красители и гемин. Связано с системой транспорта железа. На среде с гемом образуются колонии черно-коричневые, авирулентные штаммы сливаются с цветом среды.

5. Кальцевая зависимость роста при 37 С. Вирулентные штаммы нуждаются в ионах кальция при 37 С, при 28 С - в Ca^{++} вирулентные штаммы не нуждаются. Если наблюдается рост на среде с Mg^{++} - то это авирулентный штамм.

6. Фермент нейраминидазы - фактор адгезии.

7. Синтез аденилатциклазы - подавляет «окислительный взрыв» в макрофагах.

8. Пили – адгезия и внедрение *Y. pestis* в макрофаги.

9. Капсула – защита от фагоцитоза, фактор адгезии.

10. Ферменты плазмокоагулаза, фибринолизин. Нарушают активность системы комплемента, вызывают геморрагии и некрозы в лимфоузлах.

11. Антигены V-W. Обеспечивают размножение возбудителя внутри

макрофагов.

12. рН 6- Аг. Подавляет фагоцитоз, цитотоксическое действие на макрофаги.

Эпидемиология.

Антропозооноз. Природный резервуар - грызуны: мыши, крысы, суслики, сурки, тарабаганы, песчанки. Вспышкам среди людей предшествуют эпизоотии среди грызунов. Заражение грызунов в основном происходит через укусы блох. Возбудитель размножается в пищеварительной трубке блох, питается кровью. Путь передачи человеку:

-трансмиссивный (через укусы блох)- втирание в ранку кожи фекалий или пищевой пробки блох. При укусе блоха отрыгивает пищевую пробку с большим количеством возбудителя;

-контактный - при работе с тушками и шкурками грызунов и плотоядных;

-алиментарный - мясо больных животных (верблюдов, сусликов);

-аспирационный;

- через слизистые оболочки.

Природные очаги - юг Горного Алтая, Тува, Забайкалье, междуречье Волги и Урала, практически вся Африка, Азия, Южная Америка.

Патогенез и клиника.

И.п. -3-6 сут.

1. кожная форма- образование пустулы и карбункула в месте внедрения;

2. бубонная форма. Возбудитель внедряется через кожные покровы, мигрируют в лимфатический узел, развивается серозно- геморрагическое воспаление, формируется бубон (увеличенный лимфоузел);

3. кожно-бубонная;

4. вторичная легочная чума - геморрагический некроз л/у, поступление в кровь возбудителя, далее в легкие – развивается чумная пневмония и сепсис. С этого момента начинается эпидемия, т.к. возбудитель передается воздушно-капельным путем;

5. первично-легочная чума - распространяется воздушно-капельным путем от больного легочной формой чумы;

6. кишечная форма - проффузная диарея с выделением крови и слизи;

7. первично-септическая - быстрое диссеминирование возбудителя в организме из бубона. Кровотечение из почек, кишечника, кровавая рвота.

Клиника внезапная: сильная головная боль, высокая температура с ознобом, гиперемия лица, его потемнение, темные круги под глазами. Бубон появляется на 2-ой день. Легочная чума – быстро появляются озноб, высокая температура, боль в боку, кровавистый кашель с мокротой (мокрота отходит тазами), бред, цианоз, коллапс, смерть. С мокротой выделяется огромное количество возбудителя.

Основная роль в патогенезе заболевания – подавление активности фагоцитов и распространение возбудителя с кровью по всему организму.

Постинфекционный иммунитет.

Прочный пожизненный, клеточный - опосредуется Т- лимфоцитами и макрофагами - и гуморальный. У переболевших и вакцинированных фагоцитоз

завершенный.

Профилактика.

Чумная живая вакцина из ослабленного штамма EV (ИБП п. 5.8 - 5.9). Вводится н/к, п/к, в/к, ингаляционно по эпидемическим показаниям лицам, проживающим на эпизоотичной территории. Также выпускается в таблетированном виде. Апатогенна для человека, обладает высокими иммунизирующими свойствами.

Лабораторная диагностика.

Исследуемый материал: пунктат бубонов, кровь, мокрота.

-бактериоскопический метод-

- окраска по Грамму;
- метиленовым синим Леффлера;
- ЛСМ;

-бактериологический - посев на МПА и МПБ со стимуляторами роста и веществами, подавляющими рост сопутствующей флоры (генцианвиолет): среда Туманского. Ставят пробу с чумным бактериофагом - лизис в месте нанесения на засеянную культуру;

-биологический - заражение морской свинки н/к, п/к, в/б загрязненным материалом. Выделяют чистую культуру. Для ускорения гибели животных предварительно вводят глюкокортикоиды;

-серологический - РПГА, ИФА;

-иммунологический - определение антигенов с использованием эритроцитарного диагностикума, сенсibilизированного антителами к капсульному антигену – РПГА;

-аллергическая проба с пестином - ретроспективная диагностика.

Изменчивость.

1. R- форма переходит в S. Колонии похожи на E.coli, трудно дифференцировать.

2. Биохимическая: грызуны впадают в спячку- глицерин (-), если не впадают - глицерин (+), утрачивается ферментация глюкозы.

3. Изменчивость вирулентности:

- утрата 1 признака, например, капсулы, вирулентность сохраняется
- утрата нескольких детерминант вирулентности (капсула, токсин, V-W) переходит в авирулентную форму.
- утрата пигментообразования – потеря вирулентности.
- утрата пестициногенности – штамм становится авирулентным для лабораторных животных, но остается вирулентным для основного носителя.
- культивирование при 4°C - снижение вирулентности. Восстанавливается при пассировании на чувствительном животном.

Лекция № 17. Микробиология риккетсиозов.

Порядок – Rickettsiales

Семейства: Bartonellaceae

Anaplasmataceae

Rickettsiaceae состоит из 3 триб:

Ehrlichieae

Wolbachieae

Rickettsieae делится на 3 рода:

Rickettsia

Rochalimaea

Coxiella

Риккетсии - группа мелких полиморфных грамотрицательных бактерий, являющихся паразитами членистоногих, различных животных и человека. Заболевания, вызываемые ими называются - риккетсиозы.

Морфология.

Имеют форму палочек, кокковидную, нитевидную. Капсул и спор не образуют. За исключением возбудителя траншейной лихорадки, являются строгими внутриклеточными микроорганизмами, т.е. на обычных питательных средах не растут.

Жизненный цикл.

- состоит из 2 стадий: вегетативной и покоящейся. Риккетсии в вегетативной стадии имеют палочковидную форму, размножаются путем бинарного деления, подвижны.

- риккетсии покоящейся стадии имеют сферическую форму, не размножаются.

- риккетсии- прокариоты: имеется клеточная стенка, наружная мембрана (грам(-) бактерии), цитоплазматическая мембрана, ядерный аппарат не ограниченный ядерной мембраной. Обладают собственными системами биосинтеза белка и мобилизации энергии. Но они не совершенны. Для их функционирования необходимы компоненты этих систем эукариотных клеток хозяина.

Культивирование риккетсий:

заражение

1. животных (морские свинки, белые мыши).

2. куриных эмбрионов.

3. культур клеток.

Классифицируют риккетсиозы по группам болезней на 5 групп

1. группа сыпного тифа

-клещевой пятнистой лихорадки

-цуцугамуши

-пневмориккетсиозов

-параксизмального риккетсиоза

Группа сыпного тифа

Входят:

1. эпидемический сыпной тиф.

2. болезнь Бриля.

3. эндемический (крысиный) тиф.

4. канадский риккетсиоз.

I. Эпидемический сыпной тиф

Острое инфекционное заболевание, характеризующееся глубокой общей интоксикацией, сыпью, специфическим эндопереваскулитом с образованием тромбов при капиллярном разветвлении артерий.

Возбудитель- *Rickettsia prowazekii* – палочки размером от 0,3-0,6 до 0,8-2.0 мкм. Располагаются одиночно или короткими цепочками. Размножаются : а) в желточном мешке куриного эмбриона при 35 С, гибель вызывают через 6-13 дней.

б) в различных культурах клеток с образованием на 8-10 сут бляшек.

в) чувствительны морские свинки- через 1 нед – лихорадка, у самцов – скротальный эффект(периорхит). Очень редко протекает бессимптомно. У погибших животных обнаруживаются в большом количестве в мозге, а также выделяются из крови, селезенки, почек.

Антигенное строение.

1.Термостабильный групповой антиген, общий с *R.typhi* , *R. canada*.

2.Термолабильный видоспецифический, располагающийся поверхностно

Резистентность. Малоустойчив во внешней среде . Гибель при 80 С в течении 1 мин. Жизнеспособны в течении 2-3 мес в высохших экскрементах вшей, особенно при низких Т.

Факторы патогенности.

-факторы адгезии инвазии

-эндотоксин (ЛПС)

-в капсулоподобном слое имеется высокотоксичный термолабильный белок

-заражение белых мышей: - в/в – гибель через 4-24 часа от о. интоксикации, интраназально – смертельная пневмония.

Эпидемиология

Антрапоз. Источник инфекции - только больной человек, у которых возбудитель находится в крови. Опыт самозаражения - Мочутковский О.О. В 1910 г Шарль Николь доказал роль платяных вшей в передаче возбудителя от больного здоровому. Головная и лобковая вши могут быть переносчиками, но неохотно покидают тело больного. Вошь легко заражается при повторном сосании крови больного, потребляет 1 мг крови сразу, при этом опорожняет кишечник.. Риккетсии проникают в эпителиальные клетки кишечника , размножаются в них и выделяются с экскрементами. Вошь становится заразной через 4-5 дней, погибают от смертельного риккетсиоза через 2-3 нед. Укус не заразен , но вызывает зуд и раздражение, человек втирает в ранку риккетсии. Акт питания через каждые 5 час. Оптимальная температура-30°C, при повышении ее до 39-40°C, вошь покидает хозяина и поселяется на белье другого человека.

Патогенез и клиника.

Восприимчивость 100%. Попадают в кровь_ избирательно поражают эндотелии прекапиллярных разветвлений артерий, вызывает деструктивно-пролиферативный тромбоз эндопереваскулит. Приводит к обширным инфарктам, асептическим некрозам в мозговой ткани, надпочечниках, миокарде и коже. Присоединяется сильнейшая общая интоксикация(эндотоксин и токсический белок).

И.п.-10-12 дней. Заболевание начинается остро: Т 39-40°C, сильная головная боль, бред, психоз, явления менингоэнцефалита. На 4-6 день появляется характерная сыпь на боковых поверхностях туловища, спине и сгибательных поверхностях рук. Лихорадка продолжается 1,5-2 нед, Т падает критически до нормы. Выздоровление медленное из-за астенизации больного, остаются осложнения со стороны ЦНС и ССС. Летальность в период эпидемии- 20-40%.

Иммунитет.

Длительный, стойкий, нестерильный(возбудитель сохраняется в организме длительное время в виде покоящихся форм).У переболевших иногда через 10-15-20 лет может наблюдаться рецидив – болезнь Бриля- Цинссера. Связано с ослаблением иммунитета, протекает легко, без осложнений, при этом отсутствует вшивость и источник заражения. Иммунитет носит гуморальный характер.

Диагностика.

1.Бактериологический (применяют методы для выращивания вирусов):

- заражение морских свинок или белых мышей;
- куриных эмбрионов в желточный мешок;
- культур клеток.

Дорогостоящий, применяется только для научных целей.

2.Серологические реакции.

-развернутая пробирочная реакция агглютинации с сыпнотифозным антигеном из Р. Провачека и Р. Музера(возбудитель эндемического сыпного тифа). Реакция «+» с 4-5 дня болезни (1:100); с 12-14 и до 30 дня титр антител максимальный и через 3-5 мес АТ исчезают. Диагностический титр в активной фазе -1:160, для ретроспективной диагностики не применяется.

-РСК. Комплементсвязывающие АТ появляются с 5-6 дня болезни, максимальные титры- 14-16 день, через 1-1,5 мес. титры антител снижаются, но эти антитела сохраняются на протяжении многих лет. Активная форма- 1:160. ретроспективный диагноз- 1:10.

- РПГА при сыпном тифе позволяет отличить активную форму заболевания и ближайшую реконвалесценцию от ранне перенесенного. Титр АТ в активной фазе-1:1000.

-реакция Вейля-Феликса (1916г) . Сыворотка больного сыпным тифом дает «+» реакцию агглютинации с *Proteus vulgaris* OX19 и OX2 (неподвижные варианты) за счет перекрестно-реагирующих общих полисахаридных АГ-диагностический титр 1:160. Реакция отрицательная при болезни Бриля.

-реакция иммунофлуоресценции – РИФ - дифференцирует IgM и IgG. На мазки из диагностикумов наносят последовательные разведения сыворотки, затем – антиглобулиновую люминесцентную сыворотку.

-ИФА в модификации «захват» АТ класса Ig M.

3. В/к аллергическая проба (ГЗТ).

Профилактика

1.Живая комбинированная сыпнотифозная вакцина (ЖКСВ-Е)- риккетсии Провачека авирулентного штамма Мадрид Е, выращенные в желточных мешках куриных эмбрионов в комбинации с растворимым антигеном вирулентного штамма Брейнль риккетсий Провачека. Иммунитет с

образованием комплементсвязывающих антител развивается через 4-4 нед после прививки.

2. Вакцина сыпнотифозная химическая – иммуногенная субстанция из растворимого антигена риккетсий Провачека, выращенных в желточных мешках куриных эмбрионов.

II. Крысиный сыпной тиф.

Возбудитель - риккетсии Музера. Имеют свой специфический термолabile АГ. В цитоплазме пораженных клеток мезотелия грызунов образуют огромные скопления, замещающие цитоплазму. Вызывает у морских свинок скротальный феномен.

III. Канадский риккетсиоз.

В естественных условиях болеют зайцы и кролики.

Группа пятнистой клещевой лихорадки.

1. пятнистая лихорадка Скалистых гор.
2. Марсельская лихорадка.
3. Клещевой сыпной тиф Северной Азии (Сибирский риккетсиоз).

Резервуар.

Иксодовые и гамазовые клещи и их прокормители (грызуны). Трансмиссивная инфекция. Культивируют на куриных эмбрионах при 35 С, вызывают их гибель через 4-5 дней. Место размножения в эукариотных клетках - ядро, цитоплазма.

Группа цуцугамуши.

Японская речная лихорадка. Резервуар возбудителя и переносчик - краснотелковые клещи. Место размножения в эукариотной клетке - цитоплазма.

Встречается в Японии, Юго-Восточной Азии, на Дальнем Востоке.

Группа параксизмального риккетсиоза.

Волынская (траншейная, окопная) лихорадка.

Возбудитель- *Rochalimaea Quintana*.

Размножается на поверхности эукариотных клеток, могут расти на искусственных питательных средах: 6% инактивированная лошадиная сыворотка и 4% лизированных лошадиных эритроцитов. Растет в аэробных условиях с повышенным содержанием СО₂.- появляются на 12-14 день линзообразные, мукоидные колонии при 37 С. Куриные эмбрионы и культуры клеток не заражают. АГ отличаются от других видов рода Риккетсий. Морские свинки и белые мыши не восприимчивы.

Переносчик – платяная вошь.

И.П.-9-13 дней.

Иммунитет. Выражен слабо, сохраняется при носительстве риккетсий.

Диагностика.

- бактериологический - посев крови больного;
- серологический - РА, РСК, РПГА с использованием риккетсиозных антигенов.

Специфическая профилактика не разработана.

Группа пневмориккетсиоза.

Ку- лихорадка.

Острое риккетсиозное заболевание, протекает с лихорадкой, интерстициальной пневмонией на фоне отсутствия сыпи.

Возбудитель - *Coxiella burnetii*.

Эндемична для многих стран.

Отличаются от других риккетсий:

- размножаются в фаголизосомах эукариот;
- в покоящейся стадии образует эндоспоры;
- проходят через бактериальные фильтры;
- не образуют жгутиков и капсул;
- обладают собственными системами биосинтеза белка и мобилизации энергии, но являются строгими внутриклеточными паразитами;
- проявляют большую устойчивость к физико-химическим факторам, но чувствительны к действию жирорастворителей.

Пути заражения человека:

- аэрогенный (больные животные выделяют возбудитель с испражнениями, мочой, дыханием).
- алиментарный (молоко и мясо).
- водный (купание, питьевая вода, зараженная мочой).
- через укусы клещей.

Основной резервуар риккетсий - крупный и мелкий рогатый скот.

Клиника: лихорадка, пневмония не сильно выражена (только при аэрогенном пути заражения). Течение пестрое.

Постинфекционный иммунитет - прочный, длительный, антимикробный, формируется ГЗТ.

Диагностика.

- выделение и идентификация возбудителя путем в/б заражения морских свинок;
- серологические реакции - РСК, РПГА, ИФА ставят с парными сыворотками - должно быть нарастание титра АТ. Агглютинины появляются с 10-20 дня, комплементсвязывающие антитела - с 7-8 дня болезни;
- аллергическая проба с убитыми риккетсиями, ставится в/к. Положительна с 3-8 дня болезни. Сохраняется более 4 лет.

Профилактика.

Живая ослабленная вакцина из штамма М-44, н/к в виде скарификации.

Эрлихиозы.

Размножаются только в цитоплазме лейкоцитов человека, диких и домашних животных. Располагаются одиночно или образуют компактные колонии, напоминающих морулу (тутовая ягода).

Резервуар - собаки. Человек заражается через укусы клещей Рипицефалис сангуинеус. **Клиника.** Страдает специфический и неспецифический иммунитет. Развивается иммунодефицит.

Диагностика: РИФ.

Контрольные вопросы к итоговому занятию по теме: «Факультативно-анаэробные грамположительные палочки, ООИ»

1. Морфология и культуральные свойства *Bacillus anthracis*.
2. Антигенная структура *Bacillus anthracis*.
3. Факторы патогенности *Bacillus anthracis*.
4. Чувствительность к антибиотикам и изменчивость *Bacillus anthracis*.
5. Эпидемиология и клиника сибирской язвы.
6. Сибирезвездный гаммаглобулин: получение, применение.
7. Вакцина СТИ и сибирезвездная комбинированная вакцина.
8. Антраксин: получение, применение.
9. Отличительные признаки *Bacillus anthracis* от антракоидов.
10. Реакция термопреципитации Асколи.
11. Культуральные свойства *Yersinia pestis*.
12. Антигенная структура *Yersinia pestis*.
13. Факторы патогенности *Yersinia pestis*.
14. Эпидемиология, патогенез и клиника *Yersinia pestis*.
15. Лабораторная диагностика *Yersinia pestis*.
16. Изменчивость *Yersinia pestis*.
17. Спецпрофилактика чумы.
18. Морфология, способы окраски *Corynebacterium diphtheriae*.
19. Избирательные среды для роста *Corynebacterium diphtheriae*.
20. Биовары *Corynebacterium diphtheriae*.
21. Факторы патогенности *Corynebacterium diphtheriae*.
22. Биохимические свойства *Corynebacterium diphtheriae*.

23. Методы определения токсигенности *Corynebacterium diphtheriae*.
24. Эпидемиология, патогенез и клиника дифтерии.
25. Методы определения противодифтерийного иммунитета.
26. Лечение дифтерии.
27. Вакцина АКДС. Состав, применение.
28. Морфология, культуральные свойства *M. tuberculosis*.
29. Свойства туберкулезных палочек, определяемые высоким содержанием липидов.
30. Факторы патогенности *M. tuberculosis*.
31. Классификация микобактерий по скорости роста и пигментообразованию.
65. Патогенез туберкулеза, судьба первичного туберкулезного комплекса.
31. Особенности иммунитета при туберкулезе. Феномен Коха.
32. Туберкулиновая проба: препараты, постановка, учет результатов.
33. Бактериоскопический метод диагностики туберкулеза.
34. Вакцина БЦЖ: получение, схема вакцинации.
35. Микобактериозы. Этиология, клиника.
36. Морфология, культуральные свойства коклюшных палочек.
37. Антигенная структура *Bordetella pertussis*.
38. Факторы патогенности, патогенез и клиника коклюша.
39. Лабораторная диагностика коклюша.
40. Морфология и свойства, определяющие особенности болезни *M. leprae*.
41. Патогенез и клиника лепры.
42. Иммунитет при лепре

43. Виды бруцелл, вызывающие заболевание.
44. Морфология, культуральные и биохимические свойства бруцелл.
45. Антигенная структура бруцелл, биовары.
46. Факторы патогенности бруцелл.
47. Эпидемиология, патогенез, клиника бруцеллеза.
48. Реакция Райта.
49. Реакция Хеддельсона.
50. Реакция Бюрне.
51. Специфическая профилактика бруцеллеза.
52. Морфология, культуральные свойства *Francisella tularensis*.
53. Факторы патогенности *Francisella tularensis*.
54. Эпидемиология, патогенез и клиника туляремии.
55. Серологическая диагностика туляремии.
56. Проба с тулярином.
57. Специфическая профилактика туляремии.
58. Способ окраски ВК.
59. Эпидемический сыпной тиф: этиология, эпидемиология.
60. Эпидемический сыпной тиф: патогенез, клиника, иммунитет.
61. Диагностика сыпного тифа.
62. Специфическая профилактика сыпного тифа.
63. *Coxiella burnetii* – отличия от других риккетсий.
64. Ку- лихорадка. Диагностика, специфическая профилактика.
65. Бактериологический метод диагностики туберкулеза.

Лекция № 18. Патогенные грибы.

Группа одно- или многоклеточных организмов.

- аэробы или факультативные аэробы, эукариоты;
- сапрофиты, симбионты или паразиты;
- из многих тысяч видов лишь около 400 патогенны для человека.

Сближает с растениями:

- неограниченный рост;
- необходимость прикрепления к субстрату;
- неподвижность в вегетативном состоянии;
- размножение и распространение спорами;
- способность к синтезу витаминов;
- наличие клеточных стенок;
- питание (осмотрофы).

Сближает с животными клетками:

- способность синтезировать хитин;
- гетеротрофы;
- нуждаются в витаминах;
- образование мочевины и гликогена (а не крахмала);
- нет фотосинтетических ферментов.

Царство - грибы (Mycota, Fungi).

Отделы - грибы-слизевики (Mухомycota);
- настоящие грибы (Eumycota).

Подразделяют на семь классов.

Первые четыре – это низшие грибы.

Возбудители микозов относят к условному классу Fungi Imperfecti (несовершенные грибы).

1. Сумчатые (Ascomycetes)- самая многочисленный, относят Penicillium, Aspergillus. Половая форма размножения.

2. Базидиальные (Basidiomycetes) – возбудитель криптококкоза.

3. Несовершенные (Deuteromycetes) – высшие грибы-имеют септированные гифы, размножаются вегетативно и бесполом путем с помощью конидий - возбудители микозов.

4. Zygomycetes-половое размножение (Mucor). Низшие грибы.

Морфология.

Грибы размножаются с помощью зародышевых клеток- спор, которые в благоприятных условиях прорастают в ростовую трубочку и превращается в нить - **гифу**, за счет удлинения дистального конца. В гифе могут возникать перегородки- **септы**. Низшие грибы несептированные, высшие - септированные. Разрастание гиф называется **мицелий**.

-истинный мицелий - клетки покрыты общей оболочкой.

-псевдомицелий - клетки не связаны друг с другом, каждая покрыта собственной оболочкой (дрожжеподобные грибы рода Candida). Различают мицелии субстратный - растущий в питательную среду и воздушный.

Мицелий дает характерные **образования** в зависимости от вида:

- Penicillium –форма кисточки;
- аспергиллы - форма лейки;
- дерматофиты - форма спирали, завитки(трихофития), гребешки, рога оленя(фавус).

Споры служат для распространения и размножения во внешней среде.

Эндоспоры- возникают внутри мицелия- **спорангии** (кокцидиозный микоз, риноспоридиоз).

Экзоспоры - на мицелии, на его ветвях или на спороносных гифах. По происхождению их подразделяют:

1. артроспоры - образуются путем расчленения мицелия.
2. бластоспоры - при почковании материнской клетки(дрожжи и дрожжеподобные грибы).
3. хламидоспоры - с шероховатой оболочкой, располагаются по ходу или на концах мицелия.
4. алейрии-за счет клеточного содержимого мицелия, располагаются кучками или поодиночке.
5. конидии - по бокам или концах мицелия, прикрепляясь непосредственно к нему или на тонкой ножке (Aspergillus, Penicillium)

Размножение.

-вегетативное:

а) почкование - клетки не отделяются друг от друга - образуется псевдомицелий(кандида)

б) бинарное деление- делящиеся клетки не расходятся, формируется истинный мицелий. Имеется четкая перегородка.

-половое - связано с образованием **асков** (сумок) и аскоспор. В асках в результате мейоза образуются гаплоидные аскоспоры. В каждом аске- 2-8 споры. Все совершенные грибы имеют половое размножение. Класс Ascomycetes, Zygomycetes.

Несовершенные грибы - половой процесс и спорообразование не обнаружены (кандида, криптококкус, торулопсис).

Биология.

Все патогенные грибы строгие аэробы, гетеротрофы. Размножаются в диапазоне рН от 3 до 10, оптимум 6- 6,5.

Оптимальная °Т для развития:

- мицелиарных форм 25-30°С;
- дрожжевых и дрожжеподобных – 36-37°С.

Ферментативная активность разнообразная: у одних – выраженная сахаролитическая, у других - протеолитическая, у третьих - липолитическая.

Потребность в **факторах роста** - витаминах.

На жидких средах образуют осадок, а затем – пристеночное кольцо или пленку;

На плотных - отмечается большое разнообразие (кожистые, ворсистые, пушистые, мучнистые, мелкозернистые и т.д.).

Окраска воздушного мицелия - разнообразная. Одни пигменты растворимы в воде, другие в спирте, ацетоне и т.д. Пигментообразование стимулирует аэрация и добавление в среду солей магния, железа. Субстратный мицелий и

обратная сторона колоний - бесцветные.

Строение грибов. Клеточная стенка включает полисахариды, преимущественно хитин(с низким содержанием азота), глюканы и маннаны. ЦПМ - двуслойная, содержит стероиды (АБ). Цитоплазма содержит вакуоли, микротрубочки, ЭПС, митохондрии, ядро с двойной ядерной мембраной, лизосомы, включения гликогена и волютина.

Классификация микозов.

1. системные, глубокие - поражение внутренних органов (кокцидиоидоз, гистоплазмоз, криптококкоз, северо- и южноамериканский бластомикозы). Обычно затрагивают легкие- о. пневмония. Могут распространяться гематогенным путем по всему организму, образуя абсцессы или гранулемы в любых тканях. Наблюдается аллергия с развитием ГЗТ. Неконтагиозны, кроме кокцидиоидоза и гистоплазмоза. Часто- летальный исход.

2. подкожные, субкутанные (споротрихоз, мадуromикоз). Поражение кожи, п\к клетчатки, фасций, костей. Образуются п\к абсцессы и гранулемы, достигающие поверхности кожи- изъязвления, в них могут обнаруживаться друзы- колонии возбудителей (нокардиоз, актиномикоз). Распространяются в регионарные л\у. Происходит обезображивание тела, часто летальный исход.

3. эпидермомикозы - поражение эпидермиса, волос, ногтей. облигатные паразиты человека и животных, передающиеся при контакте с больным. Развивается ГЗТ. Прогноз в нелеченных случаях не тяжелый.

4. поверхностные микозы - поражение волос и рогового слоя эпидермиса (кератомикоз, разноцветный лишай-малассезиоз, черный лишай-кладоспориоз, белая пьедра- трихоспороз).

Возбудители глубоких и субкутанных микозов обычно обнаруживаются в почве.

Системные микозы развиваются после вдыхания спор возбудителя.

Подкожные - при попадании спор или мицелия в кожную рану.

Пневмоцистоз -Pneumocystis carinii-доказана принадлежность к грибам-бластомицетам (в некоторых отечественных источниках - протозойные паразиты). Оппортунистическая инфекция, группа риска - пациенты с иммунодефицитами.

Диагностика микозов.

- микроскопия соскобов и отделяемого слизистых.
- посев на среду Сабуро для идентификации вида. Количественный учет.
- серологическая диагностика - РСК, РПГА, ИФА (обнаружение IgA,G,M), реакции преципитации.
- ПЦР.

Патогенность.

1. Гемолизины, эндоплазмокоагулаза, липиды, полисахариды, гидролазы, эндотоксин, адгезины, олигосахариды клеточной стенки (подавляет клеточные реакции), фосфолипазы и кислые протеазы. Способность маскировать рецепторы к компонентам комплемента и опсонинам.

2. Некоторые грибы выделяют вещества с токсическими свойствами:

- растворение эритроцитов;

- повреждение эпителия кожи, ее придатков и слизистых, клеток различных органов;
- гиалуронидазная активность;
- полисахариды (развитие васкулитов);
- липиды.

3. Факторы защиты от внешних факторов:

- капсула. Образуется в организме (дрожжеподобные грибы, криптококки).

Иммунитет

Грибковые клетки и их продукты- сильные иммуногены:

- клеточные реакции - у зараженных развивается ГЗТ (кроме поверхностных микозов) через 10-14 сут.
- гуморальные реакции - высокий титр АТ.

Кандидоз.

Заболевание кожи, слизистых, внутренних органов, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*.

Типичная **аутоинфекция**, т.к. в норме обитатель кожи, ЖКТ, влагалища; сопутствует любой патологии при иммунодефицитах:

- нерациональная антибиотикотерапия;
- лечение кортикостероидами;
- эндокринопатии;
- гиповитаминозы;
- лучевая терапия;
- повреждения кожных покровов, гипергидроз, мацерация;
- прием цитостатиков и иммуносупрессоров;

Образуют псевдомицелии (нет общей оболочки и перегородок), бластоспоры и хламидоспоры.

Дрожжевые формы - крупные овальные клетки.

Клинические формы:

- кандидоз кожи;
- слизистых;
- гениталий;
- ногтевых валиков и ногтей;
- пищеварительного тракта;
- дыхательных путей;
- кандидоз ВИЧ - инфицированных;
- септические формы;
- хронический генерализованный гранулематозный кандидоз детей и подростков;
- аллергические формы кандидоза.

Химиотерапия микозов

- **полиеновые антибиотики** - повреждают клеточную мембрану:

1.**амфотерицин В** –в\в. Очень токсичен, только при тяжелых формах.

2.**нистатин** - не всасывается в кишечнике. Внутрь, местно, интравагинально.

-**азолы** (клотримазол, миконазол, кетоконазол, флуконазол) - блокируют

синтез ферментов, изменяют структуру ЦПМ.

1.Флуконазол (дифлукан) эффективен при кандидозных септицемиях, криптококковых и кокцидиоидных менингитах у больных СПИДом.

- *гризеофульвин* - ингибитор микротубулярного аппарата грибов. Эффективен при дерматомикозах.

Антисептики:

Мирамистин, фенолы, 0,1%сулема, формальдегиды,60% этиловый спирт, 1-2% салициловая и бензойная кислоты, 5% хлорная известь.

Литература:

1. Биргер М.О. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. М.: «Медицина» 1982.- 462 с.
2. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2001. - 736с.
3. Борисов Л.Б., Козьмин – Соколов Б.Н., Фрейдлин И.С. Руководство к лабораторным занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие. – М.: Медицина, 1993. – 240 с.
4. Воробьев А.А. Медицинская и санитарная микробиология: Учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений.- М.: Издательский центр «Академия», 2003. – 464с.
5. Королюк А.М., Сбойчаков В.Б. Медицинская микробиология. Часть первая.- СПб, 2002.- 267 с.
4. Королюк А.М., Сбойчаков В.Б. Медицинская вирусология. Часть вторая.- СПб, 2002.- 163 с.
6. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. Учебник.- СПб: «Специальная литература», 1998. – 592с.
7. Лабинская А.С., Блинкова Л.П., Ещина А.С. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований. – М.: ОАО «Издательство «Медицина», 2005. – 600 с.
8. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998.-1200 с.
9. Райкис Б.Н., Пожарская В.О., Казиев А.Х. Общая микробиология с вирусологией и иммунологией (в графическом изображении). Учебное пособие.- М.: «Триада-Х2, 2002.-352 с.
10. Тэц В.В. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. - М.: Медицина, 2002. – 352 с.