**Тема: Факультативно- анаэробные грамположительные палочки. Особо опасные инфекции.**

**Лекция № 4.1. 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; diphtherа – 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\* 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 агаэробы.

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

рН- 7,6-7,8.

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

1. Среда Ру – свернутая лошадиная сыворотка;

2. Среда Леффлера – ¾ свернутой бычьей сыворотки и ¼ часть сахарного бульона. Через 8-10 часов бразуются выпуклые колонии кремового цвета, которые не сливаются – «шагреневая 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 теллуритом калия;

5. КТА – кровяной теллуритовый агар. Порлочка дифтерии восстанавливает теллурит калия до металлического теллурита, который накапливается в колониях. Рост в виде крупных колоний диаметром 2-3 мм серовато- черного цвета. Теллурит 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 С. 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°С – гибель через 10-15 минут;

100°С – 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 С. diphtheria в организме не проявляя своих своиств.

3. Белковая поверхностная ***микрокапсула***. 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 гликопеп***тид (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 С. diphtheria, инфицированные бактериофагом (β-фаг), несущим tox-ген. Нетоксигенные штаммы С. 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 бумажки пропитанную антитоксином (антитоксической сыороткой). 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 24-48часов.

2. Биопроба на морских свинках.

в/к – дермонекротическая проба;

п/к – смертьот 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 вывления 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 спецмфмческой, 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 50-6-%, в настоящее время- 3-6%.

- Экзотоксин, циркулирующий в крови избирательно поражает сердечную мышцу, надпочечники, нервную ткань. Смерть от отстрого 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 0,03АЕ, 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 № 4.2. Микробиология коклюша. Род *Bordetella.***

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

*Bordatella pertus*- возбудитель коклюша, B. рarapertussis- 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 СО2. 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 выростают мелкие колонии, напоминающие капельки ртути или жемчужины, маслянистой консистенции, легко снимающиеся с поверхности среды – S- колонии. Гемолиз #. При стериомикроскопии 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 Bordatella pertussis, 12 – B. bron-chiseptica. 14 – B. рarapertussis.

**Эпидемиология**. Путь передачи – воздушно-капельный.

**Факторы патогенности B. pertussis.**

- гистаминсенсибилизирующий 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 – выздоравления, длится 4-6 нед.

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

**Лекция № 4. 3. Микобактерии.**

**Лекция № 4.1. Микробиология туберкулеза. *Mycodacterium tuberculosis.***

Семейство – Mycobacteriaceae

Род - Mycodacterium

5 групп микобактерий:

1 группа - патогенные, относятся:

М. tuberculosis, М. bovi, М. Micorti, М. Africanum, М. Аvium, М. Leprae. М. 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 наклонность к хроническому течению. Заболевание известно с древних времен. В развитии болезни играет роль социальные условия. Возбудители распространенны в природе: встречаются в почве, воде, организме тепло - и холоднокровных. Открыт Р. Кохом в 1882 г.

**Возбудители туберкулеза:**

М. tuberculosis;

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

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

Животные болеют М. tuberculosis и М. 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 tbс.

**Морфология.**

- грам (+), прямые или изогнутые палочки;

- в старых культурах образуют нитевидные формы;

- «зерна Муха» - кокковидные формы - кислотостабильные гранулы, состоящие из метофосфата, могут распологаться 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% СО2.

- М.bovis – короткие, толстые палочки, в отличие от М. 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 tbс:**

***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 - **tbс** 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 высохшей 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 **- тригалоза 6,6´ димиколат (корд- фактор).** Оказывает токсическое действие на ткани и защищает от фагоцитоза - блокирует окислительное фосфорилирование в митохондриях макрофагов. Микобактерии **tbс** 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).

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

М. tuberculosis, М. africanum, М. Kansasii, М. Bovis, М. avium - медленнорастущие, нефотохромогенные.

**Культуральные свойства:**

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

***Метод Прайса*** - культивирование мазка мокроты на стекле в сосуде с цитратной кровью. Мазок предварительно обработывают 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 М. 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 ТВС (ВК+), реже – больные животные.

Открытая форма - есть очаг с казеозным распадом и сообщением с внешней средой через бронхи, свищи, мочевыводящие пути. Может выделятся 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. М.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 бронхопневмонического фокуса из которого возбудитель по л/сосудам проникает в регионарные л/у. Бронхопневмонический 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, плазмоцитами, 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». Иммунитет 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 бактериами 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 сенсибилизация (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°С 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 лечении 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;

- антибиотикограмма.

***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 (ВCG***)(ИБП п. 6.1) –вакцина Кальмета и Жерена. 13 лет пассировали культуру М bovis (270 пересевов) на среде с солями желчи. Эт живые аттенуированные штаммы. Утрачен корд- фактор, но сохранены антигенные свойства. Вызывает клеточный иммунитет и сенсибилизацию организма. Формируется нестерильный иммунитет т.к. в организме есть М 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.

**Тема: «Возбудители бактериальных респираторных и других воздушно-капельных инфекций»**

**Вопросы:**

1. Возбудители легионеллеза.

2. Возбудитель дифтерии.

3. Возбудитель коклюша.

4. Возбудитель туберкулеза.

Пневмонии – полиэтиологические заболевания, возбудители которых относятся к разным группам микроорганизмов: бактериям, грибам, вирусам и простейшим. Выделяют внебольничные и госпитальные пневмонии. Они различаются не только по месту возникновения, но и по существенным клиническим особенностям и, что особенно важно, по спектру возбудителей.

Основным возбудителем внебольничных пневмоний у людей среднего и пожилого возраста является пневмококк (50-90%). Кроме этого, возбудителями пневмоний могут быть *Haemophilus influenza*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Klebsiella pneumonia* и др.

Возбудителями госпитальных пневмоний чаще всего являются факультативно-анаэробные условно-патогенные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumonia* – грам(-), а также *Staphylococcus aureus - грам(+)*.

**1. Возбудители легионеллеза**

Легионеллы относятся к семейству ***Legionellaceae***, роду ***Legionella***, включающему более 30 видов, половина из которых вызывает пневмонии. Наиболее частым возбудителем является *Legionella .pneumophila*.

**Легионеллы** – грамотрицательные палочки средней величины с заостренными концами, полиморфны, спор, капсулы не образуют. Подвижны, живут в воде, в открытых водоемах. 41

Легионеллы – факультативные внутриклеточные паразиты. Размножаются в тканевых культурах, развивающихся куриных эмбрионах, в организме экспериментальных животных, на специальных сложных по составу искусственных питательных средах. На питательных средах видимый рост появляется на 3-5 сутки. Колонии крупные, выпуклые, блестящие, могут иметь пигмент коричневого цвета.

По антигенному строению делятся на 14 сероваров.

К важнейшим **факторам патогенности** легионелл относят эндотоксин и внутрифагоцитарный паразитизм.

Легионеллез – сапронозная инфекция.

Путь заражения – воздушно-капельный. Для распространения легионелл характерно наличие мелкодисперсного источника распыления воды (кондиционеры, душевые установки и т.д.). Попав в организм, легионеллы, как внутриклеточные паразиты, размножаются преимущественно в альвеолярных макрофагах, полиморфно-ядерных нейтрофилах, моноцитах.

Болезнь легионеров – острая, тяжело протекающая пневмония, сопровождаемая поражением других органов.

**Материалом для исследований** служит мокрота и сыворотка крови. Основными методами микробиологической диагностики являются иммуноиндикация (ИФА) и генодиагностика (ПЦР-анализ).

**2. Возбудитель дифтерии**

Возбудитель дифтерии относится к роду *Corynebacterium*, виду *Corynebacterium diphtheriae*. Этот вид включает токсигенные коринебактерии, которые являются возбудителями дифтерии, и нетоксигенные, не вызывающие заболевания.

*. Corynebacterium diphtheriae* – палочки средней величины с булавовидными утолщениями на концах. В мазках нередко имеют характерное расположение под углом друг к другу. В цитоплазме по 42

полюсам клетки локализуются метахроматические гранулы, или зерна волютина, которые выявляются при окраске мазков по методу Нейссера. Спор, капсулы не образуют, неподвижны. Грамположительны. Факультативные анаэробы.

Требовательны к питательным средам. Хорошо растут на питательных средах со свернутой сывороткой (среда Ру), образуя характерные изолированные, не сливающиеся друг с другом колонии («шагреневая кожа»). Для выделения коринебактерий используют элективные питательные среды, в частности, среду Клауберга, содержащую кровь и теллурит калия. Ее применение основано на резистентности коринебактерий к высоким концентрациям теллурита калия (или натрия), ингибирующим рост сопутствующей микрофлоры. В процессе роста на теллуритовых средах *C.diphtheriae* восстанавливают это соединение в аккумулирующийся внутри бактерий металлический теллур, который и обусловливает темный цвет колоний.

На среде Клауберга *C.diphtheriae* образуют колонии трех типов: крупные, серые, с неровными краями, радиальной исчерченностью, напоминающей цветок маргаритки (биовар gravis);

мелкие, черные, выпуклые, с ровными краями (биовар mitis);

похожие на колонии обоих типов (биовар intermedius).

В жидких средах тип gravis дает зернистый осадок и пленку, mitis - равномерное помутнение бульона.

Биохимическая активность *C.diphtheriae* достаточно высока. Ключевыми признаками, которые используются для дифференциации от других представителей рода, являются: ферментация глюкозы, цистеина (проба Пизу), неспособность разлагать сахарозу и мочевину.

К **факторам вирулентности** *C.diphtheriae* относятся фимбрии, обеспечивающие их адгезию, ферменты агрессии (гиалуронидаза, нейраминидаза, протеаза), отвечающие за инвазивность возбудителя. Основной фактор патогенности дифтерийных бактерий – образование 43

экзотоксина, который блокирует синтез белка в клетках макроорганизма, что приводит к их гибели и некрозу пораженной ткани.

Дифтерия – антропонозная инфекция, в основном передаваемая воздушно-капельным и контактно-бытовым путями. Возбудитель остается на месте входных ворот, а все проявления дифтерии связаны с действием токсина. Дифтерия характеризуется локальным фибринозным воспалением с образованием специфической плотной, спаянной с подлежащей тканью пленки, развитием отека и некроза ткани в месте внедрения возбудителя. Наблюдаются общая интоксикация с поражением сердечнососудистой системы, почек и надпочечников, дыхательной мускулатуры, нервной системы. Чаще встречается дифтерия зева, гортани (дифтерийный круп), носа, реже – половых органов, кожи, ран.

После перенесенного заболевания развивается достаточно стойкий антитоксический иммунитет.

**Микробиологическая диагностика** основана на бактериологическом исследовании, материал для которого берется из очага поражения.

Специфическая профилактика дифтерии проводится дифтерийным анатоксином. Он может использоваться как в виде отдельного препарата, так и в составе АДС-анатоксин, или в форме АКДС-вакцины.

**3. Возбудитель коклюша**

Возбудитель коклюша относится к роду ***Bordetella***, виду ***Bordetella pertussis***.

***Bordetella pertussis*** – мелкие, овоидные палочки с закругленными концами, располагаются чаще поодиночно, спор не имеют, неподвижны, могут образовывать микрокапсулы. Грамотрицательны. Строгие аэробы. Очень требовательны к питательным средам. Для их культивирования используют сложные питательные среды, например, среду Борде-Жангу. На среде Борде-Жангу (картофельно-глицериновый агар с добавлением крови) образуют характерные гладкие, блестящие, куполообразные с жемчужным 44

или ртутным оттенком колонии, напоминающие капельки ртути, окруженные зоной гемолиза. Колонии формируются на 3-4 день.

Основным **фактором вирулентности** является продукция экзотоксинов. **Экзотоксин** – это специфический цитотоксин, который вызывает местные повреждения, приводящие к гибели и десквамации (слущиванию) мерцательного эпителия верхних дыхательных путей, и обладает тропизмом к нервной и сосудистой тканям. Для эндотоксина характерно сенсибилизирующее и общетоксическое действие. Кроме токсинов, возбудитель коклюша продуцирует ферменты агрессии, которые повышают проницаемость сосудистой стенки, обладают сенсибилизирующим действием и вызывают гибель эпителиальных клеток.

**Коклюш** – антропонозная инфекция. Возбудитель передается воздушно-капельным путем. Для клиники коклюша характерны приступы спазматического кашля (обусловлены действием токсина на блуждающий нерв), заканчивающиеся выделением мокроты. Помимо поражения дыхательных путей (гортани, трахеи, бронхов), нарушается функция нервной и сосудистой систем. Болеют в основном дети.

После перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет.

Основным методом **микробиологической диагностики** коклюша является бактериологическое исследование, материалом для которого служит отделяемое верхних дыхательных путей.

**4. Возбудитель туберкулеза**

Возбудитель туберкулеза относится к семейству ***Mycobacteriaceae***, роду ***Mycobacterium*.** Помимо возбудителей туберкулеза, этот род включает еще 48 видов условно-патогенных (нетуберкулезных) микобактерий, которые могут вызывать у человека **микобактериозы** – патологические процессы во внутренних органах, лимфоузлах.

К возбудителям туберкулеза относятся ***Mycobacterium tuberculosis*** и ***Mycobacterium bovis***. 45

**Микобактерии туберкулеза** – длинные тонкие палочки, могут быть слегка изогнуты. В цитоплазме обнаруживаются зерна Муха, спор, капсул не образуют. Неподвижны. Отличаются высоким содержанием липидов в клеточной стенке, что придает этим бактериям устойчивость к кислотам, щелочам и спирту. По этой же причине они плохо красятся анилиновыми красителями. Грамположительны, но по методу Грама окрашиваются с трудом. Для их окраски используют метод Циля-Нильсена. Аэробы.

Требовательны к питательным средам. Оптимальной для их культивирования является яичная среда с добавлением глицерина (среда Левенштейна-Иенсена). Могут использоваться также синтетические среды. Микобактерии туберкулеза растут медленно, через 28-35 дней на плотных средах формируются морщинистые, сухие, с неровными краями, изолированные, не сливающиеся друг с другом колонии. На жидких средах растут в виде морщинистой пленки.

Для дифференциации микобактерий различных видов используют различия их биохимических свойств (ниациновый тест, редукция нитратов, расщепление мочевины, никотинамида).

**Факторы вирулентности** возбудителей туберкулеза представлены токсическими компонентами клеточной стенки – высшими жирными кислотами (миколовой, туберкулостеариновой, фтионовой), эндотосином-туберкулином и корд-фактором (димиколат трегалозы).

**Основной источник заражения** – больной человек. Эпидемическую опасность представляют только больные с открытой формой туберкулеза, которые выделяют возбудитель в окружающую среду.

**Основной путь заражения** – воздушно-капельный, но возможен и контактно-бытовой. Источником заражения могут быть больные туберкулезом домашние животные.

Туберкулез – хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся образованием в различных органах, чаще в легких, специфических воспалительных изменений. По локализации различают ряд 46

клинических форм: туберкулез легких, туберкулез почек, костно-суставной туберкулез, туберкулез половых органов, туберкулезный менингит.

При первичном инфицировании в раннем детском возрасте с обычной локализацией в легких формируется первичный туберкулезный комплекс, который включает воспалительный очаг в паренхиме легкого, лимфангоит и регионарный лимфаденит. Со временем первичный комплекс может инкапсулироваться и кальцинироваться с образованием петрификата. Однако этот процесс не завершается освобождением организма от микобактерий. Они сохраняются в организме на протяжении многих лет, поддерживая состояние инфицированности. Вторичный туберкулез развивается в более позднем возрасте при повторном инфицировании или активации эндогенной инфекции.

Иммунитет при туберкулезе имеет свои особенности. Во-первых, он нестерилен, т.е. поддерживается бактериями, персистирующими в организме и обеспечивающими состояние инфицированности. Во-вторых, он неустойчив, т.е. те самые бактерии, которые обеспечивают инфицированность, могут стать причиной эндогенной инфекции. В-третьих, антитела не играют существенной роли в противотуберкулезном иммунитете. Основной механизм противотуберкулезного иммунитета – клеточный, реализуемый через гиперчувствительность замедленного типа.

Для **микробиологической диагностики** туберкулеза используют разные методы:

микроскопия мазков, окрашенных по Цилю-Нильсену;

бактериологический – материал для исследований определяется формой заболевания. При туберкулезе легких – это мокрота. Применяются также методы иммуноиндикации, молекулярно-генетические (ПЦР-анализ).

При массовых обследованиях населения используют кожно-аллергическую пробу Манту.

**Специфическая профилактика** осуществляется живой вакциной БЦЖ. Первичная вакцинация проводится всем детям на 3-5 день после рождения, ревакцинация – определенным возрастным группам лиц с отрицательной пробой Манту.

**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.\_\_