**Занятие 14**

**Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых патогенными анаэробами (роды *Clostridium* и *Bacteroides*), и зоонозных инфекций (роды *Bruсella, Bacillus, Yersinia, Francisella*).**

**Возбудители газовой гангрены**

* К возбудителям анаэробной инфекции относятся бактерии рода *Clostridium* семейства *Bacillaceae.* Обычно заболевание обусловливается действием нескольких видов возбудителей рода *Clostridium в* ассоциации с различными аэробными бактериями (стафилококки, стрептококки и др.) .
* Основным возбудителем газовой гангрены (примерно 90%) является *C.perfringens*.

**Морфо-биологические свойства *Clostridium* *perfringens***. *C. perfringens –* крупные, грамположительные, неподвижные, образующие в организме капсулы полиморфные палочки. Образуют споры, расположенные центрально или субтерминально.

**Биохимически активны.** Расщепляют углеводы с образованием кислоты и газа. Протеолитическая активность слабая. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка, напоминающего пену на волнах. Этот феномен известен как штормовая реакция.

**Культуральные свойства.** *C.perfringens –* аэротолерантные анаэробы. Растут на питательных средах, приготовленных из гидролизата мяса и казеина при температуре 37-420C, pH 7,2-7,4 в течение 3-8 часов. Рост на жидких питательных средах проявляется помутнением и интенсивным газообразованием. При росте в глубине пробирки с агаром вызывает разрыв столбика среды вследствие бурного образования газа.Образует S-, R-, а иногда и слизистые М-колонии на твердых питательных средах. В начале культивирования образует прозрачные округлые, куполообразные, с ровными краями S-колонии, затем матовые, серовато-белого цвета. R-колонии неправильной формы, пузырчатые, с неровными краями.На плотных питательных средах с добавлением крови образует колонии с двойной зоной гемолиза. Вокруг колоний полный гемолиз образуется за счет действия гемолизинов, на отдалении – неполный за счет действия лецитиназы.

**Ферментативная активность.** *C*.perfringens обладает высокой биохимической, в особенности сахаролитической активностью. Углеводы - лактозу, глюкозу, сахарозу, мальтозу, ксилозу, галактозу, маннозу, крахмал и гликоген расщепляет с образованием кислоты и газа, не сбраживает маннит и дульцит. От прочих клостридий отличается способностью восстанавливать нитраты, расщеплять лактозу и образовывать лецитиназу. Протеолитическая активность слабая - интенсивно створаживает молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка («штормовая реакция»), медленно разжижает желатин, не разлагает казеин.

**Антигенная структура.** Выделяют 6 серотипов – А, В, С, D, Е, F, различающихся по антигенным свойствам продуцируемых экзотоксинов. Серотип A является обитателем нормальной микрофлоры кишечника, но может вызывать газовую гангрену и пищевые токсикоинфекции у человека. Серотип B вызывает кишечные расстройства у ягнят. Серотип C вызывает некротический энтероколит у человека и крупного рогатого скота. Серотип D вызывает энтеротоксинемию у животных.

 **Факторы патогенности.** Токсин обладает летальным, некротическим и гемолитическим свойствами и объединяет как минимум 14 факторов,обозначаемых греческими буквами.

* ***Альфа (α)-токсин (фосфолипаза С) -*** продуцируют все серотипы*C.perfringens,* является основным фактором патогенности всех возбудителей газовой гангрены***.*** **α**-токсин являясь цитотоксином, обладает лецитиназной активностью .
* ***Teта (θ)-токсин*** –перфринголизин, ***кaппа (κ)-токсин*** – коллагеназа, ***ми (μ)-токсин*** –гиалуронидаза, ***ни (ν)-токсин***–ДНК-аза и др. в отдельности не оказывают действия, только усиляют действие α-токсина.
* *C.perfringens серотипа* A образуют энтеротоксин, вызывающий пищевые токсикоинфекции.

**Экология.** *C. perfringens* обычно обитает в кишечнике человека и животных, откуда распространяется в окружающую среду с фекалиями, поэтому широко распространен в почве, воде и сточных водах. Серотип А чаще выявляют в почве и фекалиях. C. perfringens — одна из санитарно-показательных бактерий почвы.

**Источник инфекции и пути передачи.** Естественный резервуар возбудителя инфекции – почва. Путь передачи - контактный. Заражение раны происходит при попадании клостридий с почвы или с загрязненными почвой предметами. Газовая гангрена наиболее чаще наблюдается в ранах, где развиваются анаэробные условия (в глубоких слоях мышечной ткани, в раневых карманах, некротических тканях). Заболеваемость значительно возрастает во время военных действий у раненых. В мирное время чаще заражаются строители, шахтеры, работники сельского хозяйства. Заражение газовой гангреной может развиться и после автомобильных аварий, операций на брюшной полости, внебольничных абортов

***Clostridium perfringens* (вызываемые заболевания).**

* ***Газовая гангрена***
* ***Пищевая токсикоинфекция (***развивается при употреблении пищи, контаминированной *C.perfringens)*
* ***Некротический энтерит***

**Газовая гангрена.** Споры *Cl.perfringens* после попадания в рану с почвой или инородными телами развиваются и при соответствующих условиях переходят в вегетативные формы. Токсины, выделяемые возбудителями, разрушают здоровые клетки (альфа-токсин) и расширяют зону некроза за счет разрушения соединительной ткани (гиалуронидаза, коллагеназа). Ферментация гликогена в мышечной ткани с образованием молочной кислоты, углекислого газа и водорода вызывает один из основных симптомов газовой гангрены — крепитацию: в результате скопления образовавшегося газа в промежутках между мышцами возникает звук и при пальпации области раны выслушивается похожее на «шуршание снега». Некротические изменения сосудов вызывают образование отека.

**Пищевая токсикоинфекция.** В основном вызывается серотипом А *C. perfringens*. Возбудитель не размножается в желудочно-кишечном тракте, бактериальные клетки, попадающие в тонкий кишечник с пищей, в процессе спорообразования выделяют энтеротоксин. Через 6-24 часа после еды проявляется болями в животе, диареей, иногда рвотой и лихорадкой.

**Некротический энтерит.** Вызывается C. perfringens серотипа C. Причиной этого заболевания, основным симптомом которого является кровавый понос, является бета-токсин, синтезируемый *C. perfringens,* размножающийся в тонком кишечнике.

**Микробиологическая диагностика газовой гангрены:**

**Материалы для исследования**: кусочки пораженной ткани, экссудат, гной, раневое отделяемое.

* **Микроскопический метод**. Обнаружение в мазке крупных грамположительных палочек, окрашенных по Граму – диагностический признак возбудителя.
* **Бактериологический метод**. Посев исследуемого материала на тиогликолевую среду, среду Китта-Тароцци и кровяной агар для выделения чистой культуры и идентификации возбудителя.Для идентификации *C.perfringens*  проводят инокуляцию в молоко.Бактерииствораживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов. Лецитиназную активность определяют в средах, содержащих яичный желток. Идентификация завершается проведением реакции нейтрализации токсинов со специфическими антитоксическими сыворотками.
* C.perfringens створаживает молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов (“штормовая реакция”)
* Тест Неглера –при температуре 35ºC в анаэробных условиях лецитиназаположительные бактерии образуют непрозрачные поля вокруг штрихов.

**Профилактика газовой гангрены**

**Неспецифическая профилактика**. Хирургическая обработка ран, удаление некротизированных тканей и инородных тел, применение антисептиков могут в значительной степени предотвратить развитие заболевания.

**Специфическая профилактика.** Применяют полианатоксин, содержащий анатоксины наиболее частых возбудителей газовой гангрены. С целью экстренной серопрофилактики при травмах вводится поливалентная антитоксическая сыворотка против газовой гангрены.

**Лечение газовой гангрены:**

Антибиотики - пенициллин G (бензилпенициллин)

Специфическое лечение - ***aнтитоксическая сыворотка***

**Прочие возбудители газовой гангрены:*Clostridium novyi, Clostridium septicum,******Clostridium histolyticum***  - подвижные, за счет перитрихиально расположенных жгутиков, что отличает их от ***C.perfringens***; капсулу не образуют.

**Морфо-биологические свойства *Clostridium* *tetani.*** *C.tetani –* грамположительные палочки с закругленными концами длиной 4-8 мкм и толщиной 0.4-1.0 мкм. Обладают подвижностью за счет перитрихиальных жгутиков; образуют споры округлой, реже овальной формы, расположенные терминально и придающие бактерии вид «барабанной палочки». Не образуют капсулу.

**Культуральные свойства.** Облигатные анаэробы, хорошо растут на средах с соблюдением анаэробных условий. На средах Китта-Тароцци образуют помутнение, на среде Вильсона-Блера вызывают почернение среды.

Обладают слабой биохимической активностью. Не ферментируют углеводы, проявляют слабые протеолитические свойства. Медленно свертывают молоко и разжижают желатин.

**Clostridium *tetani (биохимические свойства).*** C. tetani обладает слабой биохимической активностью. Не расщепляет углеводы, но есть штаммы, ферментирующие глюкозу. Обладает слабыми протеолитическими свойствами. Постепенно расщепляет белки и пептоны до аминокислот, восстанавливает нитраты до нитритов, слабо портит молоко, слабо расщепляет желатин.

**Clostridium tetani (антигенное строение)***.* Имеет О- и Н-антигены. По составу Н-антигена делится на 10 серотипов. Все серотипы имеют один и тот же О-антиген и секретируют экзотоксин с одинаковыми антигенными свойствами.

**Устойчивость к факторам внешней среды**. Вегетативные формы C. tetani при 60-70°С разрушаются в течение 30 мин. Так как споры стойкие, они долго сохраняются во внешней среде – почве. Может размножаться в почве регионов с теплым климатом. Может выдерживать кипячение несколько часов, растворы 5% фенола, 1% формалина убивают через 5-6 часов.

**Чувствительность животных к столбняку.** В естественных условиях столбняком болеют лошади и мелкий рогатый скот. Из экспериментальных животных к возбудителю столбняка восприимчивы белые мыши, крысы и кролики. Столбняк у животных протекает при явлениях спастических сокращений поперечно-полосатой мускулатуры и поражения пирамидальных клеток передних рогов спинного мозга. Вначале в процесс вовлекаются конечности, а затем туловище (восходящий столбняк). Смерть наступает вследствие паралича сердечной мышцы.

**Экология.** *C. tetani* широко распространена в окружающей среде — в почве, сюда она попадает с фекалиями людей и животных. Поэтому почвы, удобренные навозом, особенно богаты спорами. Столбняк чаще встречается в регионах с теплым климатом, где есть условия для длительного выживания спор, превращения их в вегетативные формы и размножения.

**Источник инфекции и пути передачи.** Входные ворота инфекции - поврежденная кожа и слизистые оболочки. Столбняк острая раневая токсинемическая инфекция. Больше половины заболевших это лица, живущие в сельской местности, работники сельского хозяйства, занимающиеся строительством дорог, домов и др. Наибольшую опасность представляют загрязненные почвой глубокие, слепые и пазушные раны, где создаются благоприятные условия для развития анаэробной инфекции.

**Факторы патогенности и патогенез.**

* *Тетаноспазмин (экзотоксин)* поступает в кровь из первичного очага инфекции. Связываясь с рецепторами на пресинаптической мембране моторных нейронов, проникает в них и посредством ретроградного аксонного транспорта попадает в ЦНС, где может внедриться в тормозящие нейроны. Механизм действия токсина связан с подавлением высвобождения тормозных нейромедиаторов, в частности глицина и γ-аминомасляной кислоты, что вызывает перевозбуждение моторных нейронов и ведет к спастическим параличам, гиперрефлексии и судорогам.

**Клинические проявления столбняка.** Инкубационный период составляет 1-2 недели. Основным проявлением заболевания является судорожный синдром, сопровождающийся болезненным мышечным *спазмом* (столбняк) и длительным напряжением мышц (мышечная ригидность). У человека заболевание проявляется нисходящим столбняком. Судороги мышц шеи и жевательных мышц (*тризм*) — одно из первых проявлений столбняка у человека. Затем появляется спазм мимических мышц лица — симптом форсированного (сардонического) смеха, затем спазмы распространяются на мышцы туловища и конечностей. Поскольку мышцы спины сильнее мышц живота, наблюдается состояние *опистотонуса*, которое сопровождается изгибом позвоночника назад: больной, лежа на спине, находится в положении «мостик», касаясь шейного и пяточного отделов.

**Клинические проявления столбняка.** C. tetani может заразить новорожденных детей через пуповину, в этом случае возникает «столбняк новорожденных». Клинические проявления столбняка у новорожденных такие же, как и у взрослых.

**Иммунитет.** Поскольку токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже дозы иммуногенной, иммунитет не формируется и отмечаются повторные случаи заболевания. Однако обратная зависимость смертности от болезни от продолжительности ее инкубационного периода позволяет предположить, что роль могут играть антитоксические антитела к токсину. С другой стороны, летальные исходы чаще встречаются на ранних стадиях заболевания.

**Микробиологическая диагностика.** При столбняке обычно микробиологическая диагностика не проводится в виду выраженной картины болезни. С другой стороны, не всегда удается обнаружить возбудителя на месте входных ворот инфекции. Большое значение в выявлении входных ворот инфекции имеют анамнестические данные.

**Лечение.** Специфическое лечение направлено на нейтрализацию столбнячного токсина антитоксином. С этой целью используют противостолбнячную антитоксическую сыворотку, либо противостолбнячный иммуноглобулин

**Профилактика.** *Неспецифические профилактические* меры. Большое значение имеет хирургическая обработка ран при травмах. Могут быть использованы Антибиотики – пенициллин G, цефалоспорины, метронидазол и др., чтобы ослабить развитие возбудителя, а также другой микрофлоры.

* *Специфическая* *профилактика* столбняка основана на создании искусственного активного иммунитета. Для этого используют столбнячный анатоксин (токсоид), адсорбированный в гидроксиде алюминия. Столбнячный анатоксин входит в состав многих вакцин - адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакцины (АКДС), адсорбированной дифтерийно-столбнячной вакцины (АДС) и секстанатоксиновых вакцин.Первичную вакцинацию проводят детям в 3-месячном возрасте с АКДС 3 раза с интервалом 30-40 дней. Затем проводят периодическую ревакцинацию согласно календарю прививок.Травмы, ожоги и обморожения, укусы животных, внебольничные аборты и др. в таких случаях проводят экстренную профилактику столбняка *анатоксином*. Для непривитых совместно со столбнячным анатоксином применяют донорский иммуноглобулин или *противостолбнячную антитоксическую сыворотку.*

*Clostridium* *botulinum*

**Морфо-биологические свойства.** *C.botulinum –* подвижные полиморфные палочки с закругленными концами размером 4-9x0.6-1.0 мкм. Молодые культуры окрашиваются грамположительно, старые культуры –грамотрицательно. Капсулу не образуют. При неблагоприятных условиях образуют споры, располагающиеся субтерминально, что придает бактериям форму «теннисной ракетки».

**Культуральные свойства.** Облигатные анаэробы. На кровяном агаре с глюкозой образуют колонии неправильной формы с нитевидными ответвлениями и зоной гемолиза. На кровяном агаре образуют S-колонии в виде капелек росы, или R-колонии с неровными краями. На жидких средах (среда Китта-Тароцци, печеночный бульон) вызывают помутнение среды и газообразование. Биохимически активны: ферментируют углеводы до кислоты и газа, сбраживают молоко, образуют желатиназу, лецитиназу, сероводород и аммиак .

***Clostridium* *botulinum* (биохимические свойства).** C. botulinum биохимически активен. Расщепляет многие углеводы — лактозу, глюкозу, мальтозу, глицерин — с образованием кислоты и газа. Вырабатывает желатиназу, лецитиназу, аммиак и сероводород.

**Антигенная структура.** Серологическая идентификация *C.botulinum* основана на выявлении продуцируемого ими экзотоксина, по их антигенной структуре бактерии разделяют на 8 сероваров: A, B, C1, C2, D, E, F и G .

**Устойчивость к факторам окружающей среды.** Вегетативные формы C.botulinium при 80 С разрушаются в течение 30 мин. Споры устойчивые и долго сохраняются во внешней среде – почве. Устойчивы к кипячению в течение нескольких часов (до 5 часов), а в 5% растворе фенола сохраняется сутки. Споры при температуре 160-170°С разрушаются в течение 60-120 мин.

**Экология, источник инфекции и пути передачи.** *C.botulinium* широко распространен в почве и воде (загрязнение испражнениями животных и рыб). Из почвы споры могут попадать на продукты питания (в частности, мясные, рыбные, овощные консервы домашнего приготовления), где при возникновении анаэробных условий прорастают и выделяют экзотоксин. Употребление в пищу этих продуктов приводит к тяжелой пищевой токсикоинфекции - ботулизма. Наиболее часто заболевания вызывают типы А, В, и Е. Тип F редко вызывает заболевания у человека. Бактерии типа Е в основном вызывают заболевания при использовании в пищу рыбных продуктов. Употребление в пищу консервированных мясных, рыбных и овощных продуктов представляют наибольшую опасность ботулизма!

**Факторы патогенности.** *C.botulinium в процессе размножения или при аутолизе вырабатывают зкзотоксин – ботулотоксин.* Ботулотоксин – белок с молекулярной массой 150 кDa состоит из двух связанных дисульфидной связью белковых субъединиц (тяжелой и легкой цепи). Токсин термолабилен, для полной инактивации необходимо кипячение в течение 20 минут.

**Действие ботулотоксина.** Ботулотоксин – функциональный блокатор. Всасывание ботулотоксина происходит в желудке и частично в тонком кишечнике, откуда с током крови токсин попадает в органы и ткани. Ботулотоксин связывается с рецепторами на поверхности пресинаптической мембраны двигательных нейронов периферической нервной системы и проникает в нейроны путем эндоцитоза. Легкая цепь (А-компонент) ботулотоксина, отвечающая за токсигенность, блокирует выброс ацетилхолина в нервно-мышечных окончаниях двигательных нервов (расщепляет синаптобревин, синтаксин, целлюбревин), что обусловливает характерные параличи мышц.

**Клинические проявления ботулизма.** Первые симптомы заболевания проявляются после короткого инкубационного периода, примерно 1-3 дня, иногда несколько часов в виде тошноты, рвоты, болей в животе. При этом возникают головная боль и нервно-паралитические симптомы — нарушение глотания, глазные симптомы — диплопия (двоение в глазах), птоз (опущение век), анизокория (поражение сфинктера зрачка). Позже возникает паралич шеи, конечностей, дыхательной и сердечной мышц. Ботулизм у детей до 6 месяцев имеет легкое течение. В тяжелых случаях клинические признаки аналогичны таковым у взрослых, но смертность не очень высока. Ботулизм является одной из основных причин синдрома внезапной детской смерти (СВДС). У грудных детей ботулизм проявляется как инфекционный процесс, то есть выделение токсина происходит в результате вегетации спор, попавших в толстую кишку. Раневой ботулизм может возникать в ряде случаев из-за того, что возбудитель поражает область раны, размножается в ней и выделяет токсины.

Нервно-паралитические явления – нарушение глотания, диплопия (двоение в глазах), птоз (опущение век), анизокория (поражение сфинктера зрачка ).

**Микробиологическая диагностика.** Исследованию подлежат остатки пищевых продуктов, рвотные массы, промывные воды желудка , испражнения, моча , кровь , секционный материал. *Биологическая проба*  - проводится для обнаружения токсина на белых мышах или морских свинках. *Реакция нейтрализации* – определение ботулотоксина и его типа: белым мышам вводят смесь исследуемого материала с диагностической антитоксической сывороткой типов А, В, E и F. *Реакция пассивной гемагглютинации, радиоиммунный метод*  - позволяют определить ботулотоксин в исследуемом материале . *Выделение культуры возбудителя* – проводят для уточнения диагноза ботулизма у младенцев при помощи бактериологического метода исследования испражнений .

**Лечение.** *Для лечения больному внутривенно вводят (по Безредко) поливалентную (типов А, В и Е) антитоксическую сыворотку.* После лабораторного выявления типа возбудителя вводят сыворотку только против данного типа.

**Профилактика.** Неспецифическая профилактика - при производстве консервированных (мясных, рыбных, овощных) продуктов необходимо соблюдать санитарно-гигиенические условия стерилизации и их хранения, исключающие накопление токсина в продукте. Специфическая профилактика - применяют ботулинический полианатоксин, содержащий анатоксины А, В и Е. Для экстренной профилактики используется поливалентная антитоксическая сыворотка.

**Морфо-биологические особенности *Clostridium difficile.*** *C.difficile –* грамположительные, овальные, подвижные, палочковидные бактерии. Образуют субтерминально или центрально распложенные споры. Образуют капсулу in vivo. Облигатные анаэробы. В селективной среде – на желточно-фруктозном агаре с добавлением циклосерина и цефокситина – образуют мутные стеклоивидные желтые колонии. На кровяном агаре образуют негемолитические колонии с запахом « лошадиного навоза».

**Биохимически мало активны***.* Из углеводов расщепляет глюкозу и маннит, гидролизует желатин, образует индол, не обладает лецитиназной и липазной активностью*.*

**Экология.** *C. difficile —* повсеместно распространенная бактерия, встречающаяся в окружающей среде — почве, воде, кишечнике человека и животных. Носительство C.difficile парадоксально велико (до 90%) у новорожденных, но случаи заболевания у них наблюдаются редко. Предполагается, что токсин C.difficile не может взаимодействовать с энтероцитами новорожденных. С увеличением возраста при развитии нормальной микрофлоры число носителей снижается и среди взрослых не превышает 3%.

**Патогенность.** *C.difficile* вызывает псевдомембранозный энтероколит клинически проявляющийся диареей. Заболевание возникает в результате дисбаланса между анаэробными бактериями – бактероидами и бифидобактериями, играющими важную роль в формировании колонизационной резистентности, возникшего на фоне нерациональной антибиотикотерапии. *C.difficile* вырабатывает два экзотоксина.

 *- A токсин* оказывает энтеротоксическое, а также цитотоксическое действие. Связывается с эпителием кишечника через специфические рецепторы к микроворсинкам

 *- B токсин* - цитотоксическое действие.

**Псевдомембранозный колит.** Псевдомембранозный колит проявляется коликообразными болями в области живота, жидким или кровянистым поносом, лейкоцитозом и гипертермией. Эндоскопически можно выявить некротизированные остатки слизистой, фибрин, лейкоциты которые образуют *псевдомембрану* в пораженной части кишечника.

**Микробиологическая диагностика.** Проводится путем *микроскопического* и *бактериологического* исследования кала. При *микроскопическом* исследовании обнаруживаются крупные грамположительные бактерии. Бактериологический метод основывается на культивировании материала в селективных питательных средах в анаэробных условиях. Посев производится на желточно-фруктозный агар с добавлением циклосерина и цефокситина (CCFA агар). Бактерии образуют матовые стекловидные желтые колонии. Воздействие токсина *C.difficile* на чувствительные клетки (эмбриональные фибробласты человека).Выявление токсинов *C.difficile* в кале основывается на определении влияния на культуру клеток (эмбриональные фибробласты) и имеет важное дагностическое значение.

**Микроскопическое и бактериологическое исследование кала.** *При микроскопическом исследовании* обнаруживаютсякрупные грамположительные бактерии.

**Лечение**

* Ванкомицин и метронидазол
* *Энтерол* препарат, содержащий дрожжевые грибы (*Saccharomyces boulardi*).

**Не образующие спор анаэробные бактерии**

Грамотрицательные анаэробные бактерии:

* *Bacteroides*
* *Prevotella*
* *Porphyromonas*
* *Fusobacterium*
* *Leptotrichia*

*Mobilincus*

Бактероиды (род *Bacteroides* )

* *Входят в семейство Bacteroideaceae*
* Являются представителями нормальной микрофлоры слизистой ротовой полости, верхних дыхательных путей, кишечника и половых органов.

*Принципы классификации бактериоидов*

* Рост на средах с содержанием желчных солей
* Пигментообразование
* Чувствительность к aнтибиотикам (канамицин, ванкомицин и колистин )

Бактерии группы B.fragilis устойчивы к желчным солям, не образуют пигмент, резистентны к канамицину, ванкомицину и колистину .Бактероиды, не относящиеся к группе B.fragilis, чувствительны к желчным солям, характеризуются образованием пигментов или отсутствием этого признака

**Бактерии группы B.fragilis.** Бактерии рода *Bacteroides* *(B.thetaiotaomicron, B.ovatus, B.vulgatus, B.distasonis B.uniformis, B.caccae, B.merdea, B.stercoris, B.ureolyticus, B.gracilis)* близкие к виду *B.fragilis* по морфо-биологическим свойствам и экологической нише включены в группу *B.fragilis .* Бактерии этой группы входят в состав нормальной облигатной микрофлоры толстого кишечника.Бактерии группы *B.fragilis* в мазках из клинического материала, окрашенных по Граму представлены бледными полиморфными палочками с закругленными концами или коккобациллами. Часто неравномерно окрашиваются по Граму за счет внутриклеточных вакуолей

**Патогенность бактероидов.** В связи с тем, что бактероиды относятся к нормальной микрофлоре человека, подавляющее большинство анаэробных инфекций, вызываемых ими, носят эндогенный характер. При снижении резистентности организма, а также при нарушении целостности слизистой оболочки бактерии транслоцируются через тканевые барьеры и вызывают гнойно-септические процессы, чаще всего абсцессы.

**Микробиологическая диагностика.** С целью выделения чистой культуры бактерий производят посевы на соответствующие питательные среды и культивирование в анаэробных условиях Идентификацию выделенных чистых культур проводят на основании изучения морфологических, культуральных, тинкториальных свойств и ферментативной активности. *Неспособность к росту на средах с содержанием желчных солей, пигментообразование, чувствительность к канамицину, ванкомицину и колистину – ключевые диагностические признаки*. *Для экспресс-диагностики анаэробной инфекции применяют метод газожидкостной хроматографии (ГЖХ).* ГЖХ основан на хроматографическом определении летучих жирных кислот - метаболических маркеров облигатных анаэробных бактерий. Обнаружение в исследуемом материале одной или нескольких летучих жирных кислот, особенно изокислот с разветвленной углеродной цепочкой, является доказательством наличия облигатных анаэробных бактерий.

Лечение заболеваний, вызываемых бактероидами:

* имипенем
* клиндамицин
* левомицетин
* производные нитроимидазола - метронидазол, тинидазол орнидазол

***Fusobacterium.*** *Ангина Венсана – экссудативный фарингит,* вызываемый *Fusobacterium necrophorum* в ассоциации с другой анаэробной микрофлорой ротовой полости. На поверхности небных миндалин образуется дифтериеподобный налет. Патогенность фузобактерий связана с секрецией ими фосфолипазы А, облегчающей инвазию в ткани, и лейкоцидина, оказывающего цитотоксическое действие на различные клетки.

* F. necrophorum и F. nucleatum играют важную роль в патологии человека.
* F.necrophorum - вместе с другой анаэробной микрофлорой полости рта вызывает экссудативный фарингит, называемый ангиной Винсета.

*Propionobacterium acnes –* входит в состав нормальной микрофлоры кожи. Участвует в расщеплении свободных жиров до жирных кислот, которые вызывают воспалительный процесс- акне (прыщи)

**Медицинские значимые виды Brucella**

* *Brucella melitensis*
* *Brucella abortus*
* *Brucella suis*
* *B.ovis*
* *B.canis*

***Бруцеллы***  - мелкие, неподвижные , грамотрицательные палочки или кокобациллы размером 0.5-0.6x0.6-1.5 мкм. Полиморфны. Спор не образуют. Неподвижны. Некоторые виды при росте на среде с иммунологической сывороткой формируют нежную капсулу. Под действием антибиотиков превращаются L-формы.

**Культуральные свойства. А**эробы (B.abortus развивается в атмосфере с 5-10% углекислым газом). На обычных питательных средах не растут. Медленно развивается на сложных питательных средах (сывороточно-декстрозный и 5% агар с овечьей кровью). Печеночный агар является оптимальной питательной средой. На плотной питательной среде образуют мелкие, приподнятые, гладкие, мутные негемолитические S-колонии. В жидкой питательной среде образуют легкий осадок и диффузное помутнение. Бруцеллы также можно культивировать в желточном мешке куриных эмбрионов.

**Биохимические свойства.** обладают очень слабой биохимической активностью.

* Каталаза и оксидаза положительны (кроме B.ovis и B.neotomae).
* Преобразует нитраты в нитриты (кроме B.ovis)
* не образуют индол.
* Реакция Фогеса-Проскауэра отрицательная.
* Образуют сероводород

**Внутривидовая дифференциация бруцелл**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Вид**  | **Бактериостатическое действие красителей** | **Образование H2S** |
| **фуксин** | **тионин** |
| **Brusella melitensis** | **+** | **+** | **-** |
| **Brusella abortus** | **+** | **-** | **+** |
| **Brusella suis** | **-** | **+** | **+** |

**Антигенная структура.** Имеют соматический O- и капсульный K- антигены. Различные виды бруцелл схожи по антигенной структуре, что затрудняет дифференциацию видов реакцией агглютинации. Различные виды бруцелл различаются количественным соотношением двух основных поверхностных антигенов: A (*abortus*) и M (*melitensis*) . Такое соотношение у  *B.abortus составляет*  20:1, у *B.melitensis* - 1:20, *у B.suis -* 1:2. Бруцеллы имеют общий антиген с *V.cholerae*.

**Резистентность к факторам окружающей среды.** Бруцеллы могут сохраниться в воде до 5 мес, в почве до 3 мес, в молоке до 45 сут, в сыре до 60 сут, в замороженном мясе более 5 мес. В 1% растворе фенола погибают в течение15 мин. Менее устойчивы к высокой температуре, при быстром кипячении – в короткое время, при 60 С - в течение 30 мин. Поскольку пастеризация уничтожает бруцеллы, пастеризованное молоко не представляет опасности заражения.

**Чувствительность животных.** В природных условиях разные виды бруцелл вызывают заболевания у разных животных:

* -B. abortus в основном у крупного рогатого скота,
* - у мелких рогатых животных (коз и овец) – B. melitensis,
* - у свиней – B. suis,
* - у собак – B. canis-
* у овец – B.ovis

Бруцеллы обладают способностью мигрировать, то есть передаваться от одного естественного хозяина к другому. Например, B. abortus также может вызывать заболевание у мелких рогатых животных. У самцов заболевание сопровождается воспалением яичек — орхитом, а у самок - абортом. Кроме того, у больных животных возможно поражение суставов, похудание, выпадение шерсти и др. симптомы. Бруцеллез может иметь латентное течение у животных, что приводит к распространению инфекции.

**Факторы патогенности.** Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами.

* высокая инвазивная способность
* капсула и эндотоксин
* низкомолекулярные вещества, ингибирующие слияние фагосом с лизосомам

Бруцеллы – факультативные внутриклеточные паразиты. Обладают низкомолекулярными субстанциями, препятствующими слиянию фагосом и лизосом. Благодаря высокой инвазивности бруцеллы легко преодолевают кожный и слизистый барьеры. Эндотоксин и капсула являются основными патогенными факторами бруцелл. Эндотоксин обладает аллергенными свойствами.

**Источник инфекции и пути передачи.** Бруцеллез - зоонозная инфекция, резервуаром возбудителя в природе являются животные. Основной источник инфекции для человека – сельскохозяйственные и домашние животные.

* ***Алиментарный путь***
* ***Контактный путь***
* ***Аэрогенный путь***

Больной человек не заразен. Однако работники лабораторий заражаются при работе с патологическим материалом, взятых у больных бруцеллезом.

**Патогенез бруцеллеза.** Бруцеллы проникают в организм через кожу или слизистые оболочки, распространяются по лимфатическим путям и депонируются в лимфоузлах. В период инкубации бактерии размножаются в макрофагах регионарных лимфатических узлов. Из лимфоузлов бруцеллы попадают в кровоток и диссеминируют в печень, селезенку и костный мозг. В дальнейшем бактерии могут попадать в молочные железы человека и появиться в грудном молоке. В органах бруцеллы, вследствие способности к внутриклеточному паразитизму, длительно сохраняются и формируют очаги некроза, окруженные инфильтратами. Заболевание характеризуется хроническим течением со сменой обострений и ремиссий. При обострениях процесса бруцеллы вновь усиленно размножаются, попадают в кровоток, вызывая повторные волны генерализации.

**Клинические проявления бруцеллеза.** Инкубационный период бруцеллеза длится 1-6 недель. Заболевание начинается постепенно, иногда остро. Различают латентную, острую и хроническую формы заболевания.

* Первично-латентная форма – имеет бессимптомное течение, может переходить в острую септическую и первично-хроническую форму на фоне ослабления резистентности.
* Острая септическая форма - проявляется высокой температурой (39-40°С) без признаков интоксикации. Характерны генерализованная лимфаденопатия, увеличение печени и селезенки. Лихорадка держится 3-4 недели.
* При первично-хроническом и вторично-хроническом бруцеллезе на фоне общей интоксикации (субфебрилитет, слабость и др.) наблюдаются метастазы. Поражение опорно-двигательного аппарата протекает по типу полиартрита, больные жалуются на боли в суставах и мышцах. Воспаление тазобедренного сустава – сакроилеит – важный диагностический признак. Также может произойти поражение нервной системы, половой системы и органа зрения.

**Микробиологическая диагностика.**

* кровь
* пунктат костного мозга
* моча
* испражнения
* молоко и молочные продукты
* кусочки органов
* **Бактериологический метод –** инокуляция исследуемого материала в определенные питательные среды, чистую культуру возбудителя получают через 3-4 недели инкубации.Возбудителей выделяют из крови (гемокультура), пунктата костного мозга (миелокультура ), мочи (уринокультура). Для дифференцировки полученной культуры используют способность к образованию сероводорода, чувствительность к бактериостатическому действию анилиновых красителей.
* ***Серологический метод -*** основной диагностический метод при бруцеллезе. Уже на 1-й неделе заболевания в сыворотке крови больного появляется İgM , достигая максимального титра к 3-й неделе и обнаруживается при хронической форме бруцеллеза. На 3-й неделе заболевания появляются İgG и İgA, достигая максимального титра к 6-8-й неделе, которые обнаруживаются при хроническом течении бруцеллеза .

Реакция Xедельсона (ориентировочная, микроагглютинация на стекле) позволяет определять антитела в сыворотке крови больного.

С помощью реакции Райта (развернутая агглютинация) определяют титр антител. Высокий титр антител (выше 1:80) отмечается при остром бруцеллезе .

Реакция Кумбса ставится для определения неполных блокирующих антител .

Иммуноферментный анализ позволяет определять антитела İgA, İgG, İgM.

* ***Биологический метод основан на заражении (подкожно)***  лабораторных животных – белых мышей и морских свинок.
* ***Аллергическая проба (проба Бюрне***) применяют для выявления гиперчувствительности замедленного типа к бруцеллам. Больному в средней трети предплечья вводят внутрикожно 0,1 мл (протеиновый экстракт из культуры бруцелл). Положительной реакцией считают инфильтрат , покраснение размером 4-6 см, которые возникают через 24-48 часов .

**Профилактика.** Людям, занимающимся животноводством, вакцинацию проводят по эпидемическим показаниям с использованием живой бруцеллезной вакцины. Вакцина является реактогенной и не обладает высоким защитным эффектом.

**Лечение.** Бруцеллы чувствительны к тетрациклину и стрептомицину. При хронической форме бруцеллеза применяется специфическая иммунотерапия убитой лечебной бруцеллезной вакциной или бруцеллина.

**Род Bacillus**

* *Относятся роду Bacillus семейства Bacillаceаe*
* *Род Bacillus* включает 48 видов. Некоторые виды , в том числе *B.cereus* и *B.subtilis* – сапрофиты , широко распространенные в природе , и отличаются подвижностью.
* *B.cereus ,* как типичный представитель рода *Bacillus , при попадании в* пищевые продукты образуют энтеротоксин и вызывают пищевые отравления.
* Некоторые виды вызывают у лиц с иммунодефицитом оппортунистические инфекции.
* Возбудителем сибирской язвы является патогенный для человека вид *Bacillus* *anthracis* .

**Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus* *anthracis.*** *B. anthracis* представляет собой бактерию размером 1x3-4 мкм, усеченной формы, крупную, грамположительную, цеповидную (стрептобацилла), неподвижную, палочковидную бактерию. Имеет капсулу. Имеет центрально расположенную спору.

**Культуральные свойства.** Аэроб, или факультативный анаэроб. Хорошо растет на обычных питательных средах. На твердых питательных средах образует шероховатые с неровными краями R-колонии. Под лупой колонии напоминают *«львиную гриву»,* или  *«голову медузы»*. B. anthracis является аэробной или факультативно анаэробной бактерией. К питательным средам не требователен, выращивается на простых питательных средах. На плотных питательных средах (мясно-пептонный агар) образует шероховатые зубчатые колонии диаметром 2-3 мм (R-колонии). Нитевидные выступы по краям придают колониям форму, напоминающую под увеличительным стеклом «львиную гриву» или «голову медузы». Не вызывает гемолиза в кровяном агаре. Образует сферопласты в культуре, выращенной на среде с добавлением пенициллина. Сферопласты располагаются в мазке в виде цепочки, напоминающей под микроскопом ожерелье (проба «жемчужное ожерелье»). Растет в жидкой среде, образуя хлопьевидный осадок без помутнения. B. anthracis обладает высокой биохимической активностью. Расщепляет глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу, крахмал и инулин до кислоты. Протеолитическая активность: разлагает молоко, образуя индол и сероводород. Превращает нитраты в нитриты. При прививке бактериологической иглой расплавляет столбик желатина, принимая форму, напоминающую перевернутую елку.

***Дифференциация бактерий рода Bаcillus* :**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Признак**  | **B.anthracis** | **B.cereus** | **B.subtilis** | **B.mesentericus** | **B.megaterium** |
| **Капсула**  | **+** | **-** | **-** | **-** | **-** |
| **Подвижность** | **-** | **+** | **+** | **+** | **+** |
| **Гемолиз**  | **-** | **+** | **-** | **±** | **-** |
| **Патогенность**  | **+** | **-** | **-** | **-** | **-** |

**Устойчивость к факторам внешней среды.** Вегетативная форма во внешней среде неустойчива. при температуре 100 С погибает мгновенно, при температуре 60 С – через 30 мин. обычные концентрации дезинфицирующих растворов убивают вегетативные формы в течение нескольких минут.Споры достаточно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятилетиями — до 10 лет в воде, до 30 лет в почве и более. Они устойчивы к кипячению и в течение 5-10 мин., автоклавированию - 20 минут.1% раствор формалина и 10% натриевая щелочь убивают споры через 2 часа. Растворы хлорамина и перекиси водорода обладают спороцидным действием.

**Антигенные свойства.**Содержит термостабильный полисахаридный соматический антиген, состоящий из D-галактозы и N-ацетилглюкозамина клеточной стенки . Против этого антигена антитела не обладают протективным действием. Он длительно сохраняется в культурах и трупном материале . На обнаружении его основана реакция термопреципитации по Асколи .

* ***Капсульный антиген*** белкового происхождения, представлен полипептидом, в состав которого входит D-глутаминовая кислота. Антитела к капсульным антигенам не обладают протективным действием.

**Факторы патогенности.**

* ***Белковый токсин (антракс токсин)*** – состоит из трех компонентов: протективный антиген, летальный и отечный факторы. По отдельности эти компоненты не способны проявлять токсическое действие :
* ***Протективный антиген не обладает токсическим действием,***  он формирует поры в мембранах клеток человека, что позволяет отечному и летальному факторам проникнуть в клетку.
* ***Летальный фактор*** проявляет цитотоксический эффект.
* ***Отечный фактор*** проявляет эффект аденилатциклазы, повышает концентрацию внутриклеточной цАМФ и вызывает развитие отеков различных тканей.

**Источник инфекции и пути передачи.** Источником инфекции являются больные животные, в частности крупный рогатый скот, а также овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи.  ***Основные клинические признаки болезни у животных*** – судороги и диарея с примесью крови. Человек заражается чаще всего контактным путем, реже –алиментарно, аэрогенно и другими путями, при уходе за больными животными, убое, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов. Больной человек не является источником инфекции.

**Патогенез и клинические проявления сибирской язвы.** *B.anthracis* проникает через поврежденную кожу, слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Продолжительность инкубационного периода составляет 2-6 суток. Возбудитель из входных ворот заносится макрофагами в регионарные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление без серьезных нарушений барьерной функции, в силу чего генерализация процесса не наступает или наступает в относительно поздние сроки. Диссеминация при всех клинических формах заболевания сопровождается бактериемией и менингитом. Генерализованные формы в 100% случаев заканчиваются летально.

**Клинические формы сибирской язвы:**

* ***Кожная форма*** встречается часто (приблизительно 95%случаев ) На месте внедрения возбудителя в кожу развивается ***сибиреязвенный карбункул*** – очаг геморрагически-некротического воспаления глубоких слоев дермы на границе с подкожной клетчаткой, сопровождающийся отеком и деструкцией тканей.
* ***Легочная форма*** (5% случаев)
* ***Желудочно-кишечная форма*** (встречается крайне редко)
* **Септическая форма** – возможна диссеминация, сопровождающаяся бактериемией и менингитом .

**Микробиологическая диагностика сибирской язвы.** Соблюдение всех мер безопасности при работе с особо опасными инфекциями. Материалы исследования – содержимое карбункула, мокрота, испражнения, кровь и моча. По эпидемиологическим показаниям исследуют различные объекты внешней среды, а также и животные.

* ***Микроскопический метод.*** В мазках, приготовленных из содержимого карбункула и крови мертвых животных, окрашенных по Граму обнаруживают крупные грамположительные бациллы, расположенные цепочками. Люминесцентная микроскопия применяется для выявления сибиреязвенных бацилл в мазке, обработанных люминесцентной сывороткой .
* ***Бактериологический метод.*** Проводят посев исследуемого материала на простые питательные среды для выделения чистой культуры с последующей ее идентификацией .
* ***Биологическая проба*** – пробы с исследуемым материалом или выделенной чистой культурой ставят на белых мышах и морских свинках в целях обнаружения возбудителя.
* ***Серологический метод –*** для выявления специфических антител в сыворотке крови больного используют реакцию латекс агглютинации и РПГА. В последнее время для определения антител к летальному токсину и фактору , вызывающему отек используют РИФ.
* ***Кожные аллергические пробы с антраксином.*** **Ставят реакцию термопреципитации по Асколи** на наличие в исследуемом материале (шкуры , органы павшего животного , разложившийся или мумифицированный труп животного, кожа и изделия из нее) сибиреязвенного термостабильного полисахаридного антигена.

**Профилактика включает неспецифические профилактические мероприятия**

* ***Неспецифические профилактические мероприятия*** сводятся к санитарно-ветеринарным мероприятия. Изоляция больных и подозрительных животных, санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья, обеззараживание мест содержания больных животных и др. мероприятия.
* В США и Англии производят бесклеточную вакцину из авирулентных штаммов возбудителя, адсорбированных на гидрооксиде алюминия. В состав вакцины входят все компоненты токсина возбудителя сибирской язвы.
* Иммунизацию проводят по эпидемическим показаниям лицам группы высокого риска 3 раза через каждые две недели. Затем проводят ревакцинацию через 6,12 и 18 месяцев . Далее проводят иммунизацию раз в год.
* Наряду с вакцинацией проводится химическая профилактика с целью предотвращения массового заражения и применением ципрофлоксацина или доксициклина в течение 4 недель .
* Химическая профилактика проводится невакцинированным лицам в течение 8 недель.

**Лечение.**

* В последнее время при лечении сибирской язвы назначают в основном ципрофлоксацин.
* Используют также комбинации пенициллина G с гентамицином и стрептомицином.

***Род Listeriа.*** Листерии, вызывающие у человека листериоз, получили название в честь английского хирурга Д . Листера .

Род *Listeria* включает в себя несколько видов . В патологии человека наибольшее значение имеет вид *L.monocytogenes.* Характерный признак заболевания – выраженный мононуклеоз у экспериментальных животных, что обусловило видовое название возбудителя.

***Род Listeriа* (морфо-биологические свойства).** *Listeria monocytogenes* представляет собой небольшую грамположительную неспорообразующую бактерию размером 1-2x0,5 мкм. Имеет перитрихиально расположенные жгутики, при 22-28°C - подвижна, культивирование при 37°C приводит к потере подвижности, а также жгутиков.Является факультативным анаэробом, легко растет на простых питательных средах. На кровяном агаре образует мелкие полупрозрачные колонии, окруженные зоной гемолиза.Культура имеет запах сыра или творога (в результате накопления промежуточных продуктов углеводного обмена).L. monocytogenes расщепляет глюкозу и ряд углеводов с образованием кислоты. Каталазоположительна. Не образует сероводород и индол, не растворяет желатин, не расщепляет маннит и крахмал.

**Экология и устойчивость к факторам внешней среды.** *L. monocytogenes* широко распространена в окружающей среде, в почве, воде в свободном виде или в симбиозе с примитивными микроорганизмами, в некультивируемой форме, вызывая образование эндемичных очагов листериоза.Многие дикие животные, главным образом грызуны, а также домашние животные (крупные и мелкие рогатые, свиньи, собаки, кошки и др.) и птицы заражаются листериозом преимущественно через воду или корма. У жвачных животных (например, овец) листерии вызывают бактериемию, или менингоэнцефалит, а у мелких животных, например, кроликов и кур, септицемию, сопровождающуюся очаговыми абсцессами в печени и сердечной мышце. У животных листериоз протекает на фоне моноцитоза, они выделяют листерии во внешнюю среду с фекалиями и мочой.*L. monocytogenes* длительное время живет и размножается в мясе и молоке животных при температуре 4-60°С. Может сохраниться в кормах для животных до 3 лет. При закипании 3-5 мин. разрушается внутри, чувствителен к действию дезинфицирующих средств.

**Источник инфекции и пути заражения.**

* Алиментарный путь
* Контактный путь
* Трансплацентарное заражение
* Заражение во время родов

Человек заражается в основном через продукты питания, зараженные овощи, сырое молоко, сыр и другие молочные продукты, недостаточно термически обработанное мясо, а также воду. При уходе за больными животными, при контакте и вдыхании загрязненной пыли также отмечаются случаи воздушно-пылевого заражения. Случаев передачи от человека к человеку не выявлено. Однако возможно трансплацентарное заражение плода от больной матери и во время родов. Чувствительность людей не так высока. Заболевание в основном возникает на фоне иммунодефицита.

В зависимости от пути заражения входными дверями инфекции могут быть участки микротравм слизистых оболочек дыхательных путей и глаз, а также кожи.

Однако L. monocytogenes попадает в организм преимущественно алиментарным путем - через слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта, преимущественно в результате приема сыра и растительных пищевых продуктов.

**Факторы патогенности:**

* ***интерналин*** – обеспечивает проникновение бактерий в клетки (поглощение фагоцитами).
* ***листериолизин O –*** повреждает мембраны фаголизосом и обеспечивает миграцию бактерий в цитоплазму макрофагов и эпителиальных клеток .
* ***АctА –*** полимеризует актин инфицированных клеток, облегчая процесс распространения
* ***Филоподы –*** удлиненные выросты, с помощью которых листерии транспортируются из одной клетки в другую.

**Клинические проявления листериоза:**

* Оппортунистические инфекции
* У лиц с нормальным иммунным статусом заболевание может протекать в виде легкого недомогания, респираторного заболевания или ангины.
* У иммунодефицитных лиц – менингит и сепсис
* У беременных женщин – перинатальный листериоз. Перинатальный листериоз имеет 2 формы:

 - септико-гранулематозная (внутриутробное заражение)

 - менингиты(заражение плода во время родов)

**Микробиологическая диагностика:**

* **Бактериологический метод** – материалом для исследования при бактериологическом методе служат ликвор, кровь, пунктат лимфоузлов, слизь из носоглотки, отделяемое влагалища, околоплодные воды, плацента, трупный материал, из которых выделяют чистую культуру возбудителя. Перед посевом патологический материал следует хранить в течение нескольких дней при температуре +40C.
* **Серологический метод –** ставят РА с листериозным диагностикумом для выявления антител. Реакция специфична и положительна со второй недели с последующим нарастанием титра антител.
* **Молекулярно-генетический метод -ПЦР**

**Лечение:**

* *L.monocytogenes* не чувствительны к цефалоспоринам и фторхинолонам.
* Положительный результат достигается при использовании ампициллина или эритромицина или триметоприм-сульфаметоксазола внутривенно.
* Часто применяемая комбинация антибиотиков ампициллин +гентамицин не оказывает должного эффекта поскольку гентамицин не способен проникать в клетки хозяина и повреждать листерии.

**Род Yersinia**

* Возбудитель чумы – *Yersinia pestis.*
* Возбудителем кишечного иерсиниоза является Yersinia enterocolitica.
* Возбудителем ложного туберкулеза (псевдотуберкулеза) является Yersinia pseudotuberculosis.
* Все представители рода Yersinia являются грамотрицательными палочковидными овоидными бактериями с размерами 1-2x0,4-0,7 мкм. Не образуют спор. Виды *Y.pseudotuberculosis и Y.enterocolitica* подвижны.

**Yersinia pestis (морфобиологические свойства).** Грамотрицательная палочковидная бактерия размером 1-2x0,4-0,7 мкм, неподвижна, спор не образует, овальной формы. Образует нежную капсулу. Полиморфна. Поскольку цитоплазма распределена неравномерно, она окрашивается интенсивнее на концах. Это называется биполярным окрашиванием.

**Культуральные свойства.** Факультативный анаэроб, растет на обычной питательной среде. Селективными средами являются казеиновая среда и гидролизат тромба.В плотной питательной среде образует шероховатые колонии. Вирулентные бактерии через 48 часов инкубации образуют колонии в R-форме, напоминающие кружевные платочки., а слабовирулентные – гладкие S-колонии.При выращивании на жидкой питательной среде на поверхности бульона образует пленку, внутри образуя хлопья. Позже от поверхности бульона внутрь прослеживаются нити, напоминающие сталактиты.Обладает слабой биохимической активностью. Ферментирует декстрин, не расщепляет рамнозу и сахарозу, не растворяет желатин, не разлагает карбамид, не образует индол.

 ***Дифференциация на виды внутри рода Yersinia***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Показатель*** | ***Y. pestis*** | ***Y.enterocolitica*** | ***Y.pseudotuberculosis*** |
| ***Подвижность*** | ***-*** | ***+*** | ***+*** |
| ***Продукция индола*** | ***-*** | ***±*** | ***-*** |
| ***Гидролиз желатины*** | ***-*** | ***-*** | ***-*** |
| ***Реакция Фогеса – Проскауэра*** | ***-*** | ***±*** | ***-*** |
| ***Рамноза*** | ***-*** | ***-*** | ***+*** |
| ***Сахароза*** | ***-*** | ***+*** | ***-*** |
| ***Декстрин*** | ***+*** | ***-*** | ***-*** |
| ***Эскулин*** | ***+*** | ***±*** | ***-*** |
| ***Уреаза*** | ***-*** | ***+*** | ***+*** |
| ***Лизиндекарбоксилаза*** | ***-*** | ***-*** | ***-*** |
| ***Oрнитидиндекарбоксилаза*** | ***-*** | ***+*** | ***-*** |

**Aнтигенная структура и факторы патогенности.** Чумная палочка обладает комплексом антигенов, многие из которых относятся к факторам патогенности.

* ***O-антиген (эндотоксин) -*** токсичный для человека и животных .
* ***Фракция I (F1-antigen)*** –капсульный антиген, защищает бактерии от фагоцитоза, не оказывает токсического действия, не проявляет иммуногенные свойства.
* ***Фракция II (F2-antigen)***, антагонист адренергических рецепторов, представлен белковоподобным веществом, локализованным внутриклеточно. Вызывает шок и смерть лабораторных животных: LD50 для мышей менее 1 мг (также токсичен для крыс). Мышиный токсин” обладает способностью ингибировать дыхательную активность митохондрий, понижая активность НАДФ-редуктазы.

**Aнтигенная структура и факторы патогенности:**

* ***V/W (Vi***)-антиген состоит из белка (V-фракции) и липопротеина (W-фракции). Он проявляет антифагоцитарные свойства и способствует внутриклеточному размножению бактерий. Штаммы, содержащие только V/W-Ar, вирулентны для мышей.
* ***Активатор плазминогена*** — протеаза, активирующая лизис фибриновых сгустков, препятствующих диссеминированию возбудителя, и инактивирующая С3b и С5а компоненты комплемента.
* Кроме этого, *Y.pestis* синтезирует ферменты агрессии, такие как плазмокоагулаза, гемолизин, лецитиназа, гиалуpонидаза и РНК-аза.

**Устойчивость**. Очень чувствителен к воздействию высокой температуры и высыхания. При 100С погибает мгновенно, при 80С - 5 мин. Прямые солнечные лучи убивают за 2-3 минуты.

* Устойчивы к низким температурам. Сохраняются при 0 С - 6 месяцев, в замороженных трупах и блохах - до 1 года.
* Обычные концентрации дезинфицирующих растворов убивают их в течение 5-10 минут. Y.pestis особенно чувствителен к действию раствора HgCl2 и фенола.

**Источник инфекции и пути передачи.** Источник инфекции – больные животные, в частности грызуны. Эпидемии чумы среди людей обычно следуют за эпизоотиями среди животных.Восприимчивость людей к чуме очень высокая. Индекс контагиозности приближается к единице.

**Пути передачи:**

* Трансмиссивный путь (через укусы инфицированных блох)
* Контактный путь (при разделке шкур и мяса зараженных животных)
* Алиментарный путь (продукты, обсемененные чумными микробами)
* Воздушно-капельный путь (от больных легочной формой чумы)

**Патогенез и клинические проявления чумы:**

* ***Кожная форма чумы***
* ***Бубонная форма чумы***
* ***Кожно-бубонная форма***
* ***Вторичные бубоны***
* ***Первично-септическая форма***
* ***Вторично-септическая форма***
* ***Первично-легочная форма***
* ***Вторично-легочная форма***
* ***Кишечная форма***

**Патогенез и клинические признаки заболевания** зависят от путей заражения. Возбудители попадают в организм в основном трансмиссивно, либо контактно, через кожные покровы. В редких случаях (3-4%) наблюдают местный воспалительный процесс в виде пустулы и карбункула в месте проникновения возбудителя (кожная форма чумы).Чаще всего возбудители не вызывают воспалительных изменений кожи и с током лимфы распространяются в регионарные лимфатические узлы (преимущественно подмышечные и паховые). В лимфатических узлах развивается серозно-геморрагическое воспаление, которое иногда увеличивается до размеров куриного яйца и становится болезненным. Увеличенный лимфатический узел напоминает горошину и называется бубоном (бубонная форма чумы).В ряде случаев бубонная форма заболевания наблюдается совместно с кожной формой заболевания (кожно-бубонная форма).Нарушение барьерной функции лимфатических узлов приводит к генерализации процесса. Возбудители могут распространяться гематогенно в периферические лимфатические узлы и образовывать вторичные бубоны, а также может протекать вторичная септическая форма с развитием септически-пиемических очагов во внутренних органах. Гематогенное поступление возбудителей чумы в легкие приводит к развитию вторично-легочной формы болезни.

* ***Первично-легочная форма*** чумы развивается при воздушно-капельном заражении. Чумная пневмония сопровождается обильной серозно-геморрагической мокротой (объем мокроты может достигать нескольких литров), содержащей большое количество возбудителей. При отсутствии лечения обычно приводит к смерти.
* Кишечная форма болезни развивается при заражении алиментарным путем.
* После инфицирования быстрая генерализация процесса без местной симптоматики приводит к развитию первично-септической формы.

**Микробиологическая диагностика: Все мероприятия проводят в специализированных лабораториях**. В зависимости от клинической формы материалами для исследования являются пунктаты бубонов, мокрота, кровь, моча, рвотные массы, испражнения, трупный материал и др.

* **Mетоды исследования:** микроскопический, бактериологический , биологический и серологический.
* **Микроскопический метод: микроскопия мазков окрашенных по Граму, Гимзе и метиленовым синим**. В качестве экспресс-диагностики используют реакцию иммунофлюоресценции (РИФ).
* **Бактериологический метод**. Патологический материал засевают на питательные среды; идентификацию выделенных культур проводят на основании морфологических , культуральных , биохимических свойств и чувствительности к бактериофагу.
* **Серологический метод(ИФА)**
* Биологическая проба проводится заражением морских свинок и крыс.
* **Moлекулярно-генетический метод(ПЦР)**

**Профилактика:**

* ***Неспецифическая профилактика*** направлена на предупреждение заражения людей и возникновения эпизоотий в природных очагах. В случае выявления чумы проводятся карантинные мероприятия. Для лиц, состоявших в контакте с больными, назначают профилактическое лечение тетрациклином.
* ***Для специфической профилактики*** используют вакцины из убитых формалином микроорганизмов. Активную иммунизацию проводят лицам, находящимся в эндемических очагах и работающими с возбудителем.

**Лечение.** Для лечения больных чумой используют стрептомицин. Альтернативным препаратом является тетрациклин, который можно использовать в комбинации стрептомицином.

**Y.enterocolitica**

**Морфо-биологические свойства. *Y.enterocolitica*** – грамотрицательные палочки, размером 1.8-2.7x0.3-0.7мкм ,подвижные, спор и капсул не образуют. Факультативные анаэробы, хорошо растут на обычных питательных средах. На мясо-пептонном агаре образуют мелкие блестящие колонии в виде капелек росы. Глюкозу и сахарозу ферментируют до кислоты, не расщепляют рамнозу, продуцируют уреазу.

**Aнтигенная структура** - обладает O-, H-aнтигенами

**Факторы патогенности** -продуцируют энтеротоксин

**Патогенез и клинические проявления кишечного иерсиниоза**

* Кишечный йерсиниоз –инфекционное заболевание с поражением кишечника и развитием мезентериального лимфаденита . Основной симптом – гастроэнтерит
* Поражение суставов – полиартриты .
* *Этиологический агент анкилозирующего спондилита*

**Y.pseudotuberculosis**

***Y.pseudotuberculosis*** – грамотрицательные подвижные бактерии размером 0.8-2x0.4-0.6 мкм не образуют спор, образуют капсулу. Факультативный анаэроб , хорошо растет на простых питательных средах. На плотных питательных средах при температуре 28ºC образует колонии в S-форме, при температуре 37ºC - колонии в R-форме. На жидких средах образует пленку. Биохимически неактивен: ферментируют рамнозу, продуцируют уреазу, не ферментируют сахарозу.

**Антигенная структура** - обладает O-, H-антигенами.

**Факторы патогенности** - эндотоксин (ЛПС).

* Y.pseudotuberculosis – инвазировав слизистую кишечника трансцитозом через М-белки, попадает в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит.
* Клинические симптомы – боли в эпигастральной области, симптомы раздражения брюшины, которые имитируют симптомы острого аппендицита.

**Микробиологическая диагностика:**

**Материалы исследования – испражнения, кровь**

* **Бактериологический метод**. Патологический материал засевают на питательные среды (МПА,
Эндо, Мак Конки). После выделения чистой культуры проводят идентификацию на основании морфологических, культуральных , биохимических свойств.

 **Серологический метод – РПГА или ИФА**

***Возбудитель туляремии - Морфо-биологические свойства:***

***Francisella tularensis –*** мелкие грамотрицательные коккобациллы размером 0,3-0,6x0,1-0,2мкм. Им свойственен полиморфизм: могут иметь сферическую, нитевидную и др. формы, проходящие через бактериальные фильтры. Спор не образуют, неподвижны, могут образовывать нежную капсулу.

**Культуральные свойства.** Факультативный анаэроб. На простых питательных средах не растет. Культивируются на желточных средах (среда Мак-Коя) или на средах с добавлением крови и цистеина( среда Френсиса) при температуре 37-380C.

* *На плотных питательных средах в течение* 4-14 дней образует мелкие колонии молочно-белого цвета диаметром 1-3мм. Вирулентные штаммы образуют S-колонии. При культивировании на искусственных питательных средах вирулентные S-формы превращаются в авирулентные и неиммуногенные R-формы.
* Возбудитель туляремии хорошо культивируется в желточном мешке куриного эмбриона.

**Устойчивость к факторам внешней среды.** Не устойчивы к воздействию высокой температуры, разрушаются мгновенно при 100 С и через 20 минут при 60 С. Может сохраниться 5-6 месяцев при низких температурах и во влажных условиях. Разрушается за 10-15 минут под действием обычных концентраций дезинфицирующих средств.

**Чувствительность животных.** Возбудитель туляремии является патогеном примерно для 150 видов позвоночных и 100 видов беспозвоночных. В природных условиях резервуарами возбудителей являются дикие животные, преимущественно мелкие грызуны и кролики, а также домашние животные - овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

**Источник инфекции и пути заражения.** Туляремия – природно-очаговое заболевание. Источником инфекции в естественных условиях являются главным образом мелкие грызуны (полевые мыши , водяные крысы, ондатры и др.) и зайцы . На территории природных очагов туляремией могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

**Патогенез заболевания.** Возбудитель туляремии - *F.tularensis* попадает в организм человека через кожу, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта. После проникновения в организм возбудитель распространяется с током лимфы. Несмотря на активное поглощение бактерий фагоцитами, полного уничтожения не происходит, что создает предпосылки для депонирования бактерий в лимфатических узлах. Часть возбудителей погибает, что сопровождается выделением эндотоксина, действующего на лимфатические узлы с развитием первичных очагов и формированием туляремийных бубонов. При туляремии также, как и при чуме развиваются первичные (депонирование возбудителя в лимфоузлах) и вторичные бубоны (генерализованная форма). Периодически из сформированных первичных очагов возбудитель проникает в лимфо- и кровоток, что приводит к распространению бактерий в печень, селезенку, легкие, костный мозг и другие органы, образуя вторичные очаги.

**Микробиологическая диагностика:**

* ***Бактериологический метод* –** хотявыделить возбудитель из патологического материала (кровь, пунктат из бубона, отделяемое конъюнктивы, налет из зева, мокрота и др.) возможно, бактериологический метод в диагностике туляремии редко дает положительные результаты.
* ***Серологический метод – РА.*** В качестве диагностикума используют суспензию убитых формалином бактерий . Положительный результат реакции при разведении сыворотки 1:160 и больше выявляют у лиц, болеющих туляремией и перенесших инфекцию***.***
* ***Аллергическая проба*** – ставят накожную или внутрикожную пробу с использованием взвеси бактерий, убитых нагреванием (тулярин). За положительный результат принимают инфильтрат диаметром не менее 5 мм.

**Лечение:**

* Стрептомицин
* Гентамицин
* Тетрациклин

*F.tularensis* не чувствительны бета-лактамным препаратам!

**Профилактика:**

* **Неспецифическая профилактика (**борьба с грызунами)
* **Специфическая профилактика.** Вакцинацию проводят лицам, относящимся к группе риска с использованием живой ослабленной туляремийной вакцины.