**Занятие 15**

**Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых патогенными бактериями родов *Corynebacterium, Bordetella, Haemophilus*, *Gardnerella, Legionella***

**Коринебактерии (*Corynebacterium*).**

* Род *Corynebacterium* имеет патогенные, условно-патогенные (обычно называемые дифтероидами) для человека, а также сапрофитные виды, многие из которых входят в состав нормальной микрофлоры кожи и слизистых оболочек верхних дыхательных путей, желудочно-кишечного и мочеполового трактов человека и животных.
* *Corynebacterium diphtheriae*, типичный вид рода, вызывает дифтерию у людей.

**Морфология.** Тонкие, слегка изогнутые или прямые грамположительные полиморфные палочки размером 1-1.2x0,3-0,8 мкм. Неподвижны, не имеют капсулу, не образуют спор. Они утолщены на концах за счет наличия зерен волютина (зерен Бабеша-Эрнста). Зерна волютина легко выявляются при окраске по Нейссеру в виде гранул темно-синего или сине-черного цвета соответственно.

C. diphtheriae неподвижна, спор и капсул не образует, на ее поверхности обнаруживаются фимбрии. Крайне полиморфен, кроме типичных форм встречаются карликовые, гигантские, нитевидные, разветвленные, иногда коккообразные формы.

Непатогенные коринебактерии из рода Corynebacterium - дифтероиды в микропрепаратах часто располагаются параллельно в виде частокола, волютиновые гранулы либо отсутствуют, либо располагаются на одном конце.

***Corynebacterium diptheriae –* культуральные свойства.**

* В настоящее время для культивирования возбудителей дифтерии используют селективные питательные среды - среда Клауберга (сыворотка крови и среда с добавлением теллурита калия), а также кровяной агар, кровяно-теллуритный агар (среда Клауберга II).
* При росте в этих средах C. diphtheriae развивается быстрее, чем другая микрофлора, и через 8-14 часов образует изолированные колонии. *C.diphtheriae* на теллуритовых средах растут в виде черных или черно-серых колоний в результате восстановления теллурита до металлического теллура.
* ***Среда Клауберга*** (среда с добавлением кровяной сыворотки и теллурита калия)
* ***Среда Клауберга II*** (кровяной теллуритовый агар)

***Дифференциальные признаки бактерий рода Corynebacterium***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Вид** | **Способность разлагать:** | **Восстановление нитратов** |
| **Цистин** | **Мочевина** | **Глюкоза** | **Крахмал** |
| **C.diphtheriae** **gravis** **mitis** **intermedius** **belfаnti** | **+****+****+****+** | **-****-****-****-** | **+****+****+****+** | **+****-****-****-** | **+****+****+****-** |
| **C.pseudodiphtheriae** | **-** | **+** | **-** | **-** | **+** |
| **C.хerosis** | **-** | **+** | **+** | **-** | **+** |
| **C.ulcerаns** | **-** | **+** | **+** | **-** | **+** |
| **C.jeikeum** | **-** | **+** | **+** | **-** | **-** |
| **C.sistidis** | **-** | **+** | **+** | **+** | **-** |
| **C.minitissumum** | **-** | **+** | **+** | **-** | **-** |

***C.diphtheriae* (антигенное строение).**

* C. diphtheriae имеет О- и К-антигены. Термостабильный О-антиген перекрестно реагирует с антигенами микобактерий и нокардий.
* Поверхностный термолабильный К-антиген обладает иммуногенностью и обеспечивает видоспецифичность. По этому антигену C.diphtheriae делят на 58 типов.
* Биовар mitis более антигенно сложен и состоит из 40 сероваров, биовар gravis — из 14 сероваров, а биовар intermedius — из 4 сероваров.
* ***Устойчивость к внешним факторам окружающей среды.*** C.diphtheriae относительно устойчива к факторам внешней среды. Может жить во окружающей среде месяцами и не теряет за это время своей вирулентности. Имеет свойство размножаться в молоке.
* Разрушается за 10-15 мин при 60°С и 1 мин при 100°С. Чувствителен к прямому солнечному свету. Устойчив к воздействию высыхания. Обычные концентрации дезинфицирующих средств разрушают в течение нескольких минут.

**Факторы патогенности:**

* ***Поверхностные структуры*** (вещества липидной и белковой природы способствуют адгезии микроба)
* ***Фимбрии*** (микропили)
* ***Ферменты агрессии и инвазии*** ( способствуют проникновению в кровь и ткани)
* *гиалуронидаза*
* *нейраминидаза*
* *фибринолизин*
* *дермонекротоксин*
* *экзотоксин( гистотоксин ) – основный фактор патогенности*
* *C. diphtheriae* имеет поверхностные структуры липидной и белковой природы, в том числе фимбрии (микрофиламенты), обеспечивающие адгезию. Поверхностные структуры обеспечивают адгезию микробов на входах инфекции, препятствуют фагоцитозу бактерий, оказывают токсическое действие на клетки макроорганизма, разрушают митохондрии.
* Ферменты агрессии и инвазии C.diphtheriae (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолиз и дермонекротоксин) обеспечивают его проникновение в ткани и кровь.
* Некротоксин вызывает некроз клеток в месте локализации возбудителя. Фибриноген плазмы, выходящей из сосудов, вступает в контакт с тромбокиназой некротизированных клеток макроорганизма и превращается в фибрин, в результате чего развивается дифтерийное воспаление.
* C. diphtheriae защищена от действия иммунной системы макроорганизма тем, что находится внутри дифтерийной оболочки и продуцирует экзотоксин (гистотоксин).
* ***Экзотоксин*** является основным патогенным фактором C.diphtheriae, нетоксигенные штаммы не вызывают заболевания.
* Этот токсин обладает всеми свойствами, характерными для экзотоксинов - высокой токсичностью, термолабильностью, иммуногенностью, нейтрализацией антитоксической сывороткой, превращением в анатоксин и др.

**Источник инфекции и пути заражения**

* Источником инфекции являются больные и носители токсигенных штаммов C.diphtheriae.
* Заболевание в основном передается воздушно-капельным путем. Поскольку возбудитель устойчив во внешней среде, важное значение в передаче инфекции имеют воздушно-пылевой и контактно-бытовой пути.

**Патогенез и клинические проявления дифтерии**

* Возбудитель попадает в организм через слизистые оболочки верхних дыхательных путей (небные миндалины и окружающие ткани), носа, гортани, трахеи, а также глаз и половых органов, через поврежденную кожу, раны или ожоги.
* Вследствие действия токсина C.diphtheriae на входных воротах инфекции возникает некроз эпителиальных клеток, образуется обильный экссудат в результате повреждения эндотелиальных клеток сосудов. Экссудат коагулирует и плотно связывается с тканью. Таким образом, образуется твердая фибринозная оболочка - псевдомембрана, состоящая из сгустков фибрина, некротизированных эпителиальных клеток и бактерий. Серовато-белая сыпь, образующаяся при входе инфекции, является характерным признаком дифтерии.

*Дифтерия зева –* в области входных ворот инфекции развивается воспалительная реакция, сопровождающаяся некрозом эпителиальных клеток, отеком, выходом фибриногена из сосудистого русла и превращением его в фибрин. Это ведет к образованию налета белого цвета с сероватым оттенком, содержащего большое количество бактерий продуцирующих экзотоксин – фибринозная пленка. Пленка с трудом снимается тампоном и при попытке снять ее слизистая оболочка кровоточит.

* ***Дифтерия зева -*** чаще (90-95%). Проявляется высокой температурой и болью в горле на фоне симптомов интоксикации. Распространение процесса из гортани в нижние дыхательные пути вызывает дифтерию гортани (истинную дифтерию).
* ***Гипертоксическая форма*** является наиболее тяжелой формой. При этом на первый план выступают признаки поражения миокарда, почек, надпочечников, центральной и периферической нервной системы.

**Иммунитет**

* После перенесенного заболевания формируется длительный антитоксический и антибактериальный иммунитет. Бывают случаи рецидива.
* Дети на грудном вскармливании не болеют дифтерией, так как обладают пассивным иммунитетом, приобретенным от матери трансплацентарным путем.
* Наличие антитоксического иммунитета, обусловленного наличием антител к токсину, можно определить по реакции Шика.

**Микробиологическая диагностика:**

* **Материалы для исследования:**
* Отделяемое зева
* Отделяемое носа
* Отделяемое из подозрительных поражений кожных покровов Забор материала проводят с использованием стерильных дакроновых тампонов.
* ***Mикроскопический метод* – в мазках, окрашенных метиленовой синью или по Граму дифтерийные палочки не всегда бывают морфологически типичными (полиморфизм бактерий затрудняет идентификацию).**
* ***Бактериологический метод*** *– проводят с целью выделения чистой культуры C.diphtheriae и идентификации по морфологическим, культуральным, биохимическим и токсигенным свойствам. Для этого патологический материал засевают на кровяной агар, среду Леффлера или среды с теллуритом.*
* ***Реакция преципитации в агаре основана на способности дифтерийного экзотоксина взаимодействовать с антитоксическими антителами.***
* ***Метод Элека –*** на чашку Петри с фосфатно-пептонным агаром накладывают полоску фильтровальной бумаги пропитанной дифтерийным антитоксином, а исследуемые культуры засевают бляшками по обе стороны полоски на расстоянии 7-9 мм. Через 48 часов инкубации в результате встречной диффузии токсина и антитоксина в месте их контакта образуется линия преципитации .
* ***Полимеразная цепная реакция*** – обнаружение гена дифтерийной палочки в патологическом материале
* ***Иммуноферментный анализ (ИФА)***  *-* применяют для обнаружения токсина *C.diphtheriae* в клиническом материале.
* ***Иммунохроматографический метод*** – экспресс-метод, используемый для обнаружения дифтерийного токсина из патологического материала с помощью специальных тест-полосок , панелей или тест-кассет.

***Специфическая профилактика***

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

 Вакцинацию проводят начиная с трехмесячного возраста

**Лечение**

* Лечение начинают немедленно при клиническом подозрении на дифтерию , поскольку длительность лабораторных тестов недопустимо опасна!

* ***Основу специфической терапии составляет противодифтерийная сыворотка.***
* ***Антибиотики***

 пенициллин

 бета-лактамные антибиотики

 макролиды

**Бордетеллы (Род *Bordetella* )**

* Для человека патогенны *B.pertussis и*  *B.parapertussis,* которыевызывают коклюш и паракоклюш соответственно.
* *B.bronchiseptica* вызывают заболевания у животных , в частности у собак (коклюшеподобное заболевание). Иногда у человека со сниженным иммунитетом вызывают респираторные инфекции и бактериемию .
* *B.avium* вызывают заболевания у птиц , в частности у индеек*.*  Прочие виды рода: *B.binzii* вызывают респираторные инфекции и бактериемию, *B.bolmseii* – бактериемию у лиц со сниженным иммунитетом , *B.trematum* – отит и раневые инфекции.
* Для человека патогенны *B.pertussis и*  *B.parapertussis,* которыевызывают коклюш и паракоклюш соответственно.
* *B.bronchiseptica* вызывают заболевания у животных , в частности у собак (коклюшеподобное заболевание). Иногда у человека со сниженным иммунитетом вызывают респираторные инфекции и бактериемию .
* *B.avium* вызывают заболевания у птиц , в частности у индеек*.*  Прочие виды рода: *B.binzii* вызывают респираторные инфекции и бактериемию, *B.bolmseii* – бактериемию у лиц со сниженным иммунитетом , *B.trematum* – отит и раневые инфекции.

***Морфо-биологические свойства***

* *B*.*pertussis* və *B.parapertussis –*
* *очень мелкие грамотрицательные коккобациллы , образующие капсулу. Неподвижны ,спор не образуют.*

**Культуральные свойства**

* Облигатные аэробы
* Для культивирования применяют казеиново-угольный агар (КУА) или среду Борде-Жангу (картофельно-глицериновый агар с добавлением 20% крови и 0,5мкг/мл пенициллина G )
* Посевы инкубируют при температуре 35-370C в течение 3-7 дней при высокой влажности воздуха
* На среде Борде-Жангу *B*.*pertussis* образует мелкие сероватые колонии, напоминающие капли ртути или жемчужины, у вирулентных штаммов – с небольшой зоной гемолиза.
* *B.parapertussis, B.bronchiseptica, B.avium* и др. виды могут расти на простых питательных средах, образуя видимые колонии уже через 1-2 дня культивирования.

***Внутривидовая дифференциация рода Bordetella***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Признаки** | **B.pertussis** | **B.parapertussis** | **B.bronchiseptica** |
| Подвижность | - | - | + |
| Рост на простых питательных средах | - | + | + |
| Пигментообразование | - | + | - |
| Продолжительность культивирования на среде Борде-Жангу | 3-6 дней | 2-3 дня | 1-2 дня  |
| УреазаОксидаза КаталазаВосстановление нитратов | -++- | +-+- | ++++ |
| Специфический термолабильный антиген1-ыйфактор 12-ый фактор14-ый фактор | +-- | --+ | -+- |

**Антигенная структура:**

* ***Родовые антигены*** – являясь термостабильным соматическим O-антигеном опосредуют агглютинацию бактерий гомологичными и гетерологичными антисыворотками.
* ***Видовые антигены*** – является термолабильным К-антигеном, состоящий из 14 фракций обозначенных арабскими буквами. 7-ой фактор является общим для всех бордетелл. Специфическим для *B*.*pertussis* является 1-ый фактор, для *B.parapertussis -*  14-ый фактор , а для *B.bronchiseptica* - 12-ый.
* К-антиген бордетелл выявляют реакцией агглютинации, называют агглютиногеном.

**Факторы патогенности:**

* *Вирулентные гены B.pertussis*: *bvgA*  və *bvgS*
* ***Факторы адгезии и***  токсины играют роль в адгезии бактерий к мерцательному эпителию дыхательных путей  *(*бронхов, трахеи)
* ***Микроворсинки (пили , фимбрии) –*** покрывают поверхность клеток вирулентных штаммов *B.pertussis*, являются агглютиногенами.
* ***Филаментозный гемагглютинин -*** белок, способный избирательно связываться с гликолипидными рецепторами ресничек эпителия трахеи и бронхов.
* ***Пертуссис-токсин****(пертуссин, экзотоксин) –* стимулирует работу аденилатциклазы в клетках респираторного тракта путем ингибирования регуляторного белка G. Накопление цАМФ в клетках приводит к нарушению их функции .
* ***Специфический (трахеальный) цитотоксин –*** ингибирует синтез ДНК в эпителиоцитах дыхательных путей, приводящий к гибели и десквамации клеток.
* ***Эндотоксин –*** стимулирует выработку цитокинов, оказывая повреждающее действие на эпителий респираторного тракта.

**Источник инфекции и пути заражения:**

Коклюш и коклюшеподобные заболевания относятся к антропонозным инфекциям. Источником инфекции являются больные, иногда бактерионосители. Коклюш очень заразен.

* Передается воздушно-капельным путем.

**Патогенез и клинические проявления**

* Бордетеллы, попавшие в дыхательные пути, прикрепляются к поверхности эпителия трахеи и бронхов и размножаются. Поскольку возбудитель не обладает способностью к инвазии, он не может проникать в клетки и кровь.
* Инкубационный период длится 7-10 дней, иногда до 20 дней.
* Различают катаральный, пароксизмальный периоды и период реконвалесценции.
* Катаральный период - длится 1-2 недели, сопровождается гриппоподобными симптомами - легким кашлем и чиханием, иногда незначительно повышается температура.
* Парлксизмальный период – проявляется повторными приступами спазматического кашля. Синюшность лица (цианоз) наблюдается при гипоксии, вызванной приступами кашля. В конце приступов кашля, особенно у детей раннего возраста, наблюдается инспираторный стридор, напоминающий «петушиный голос», вызванный спазмом гортани. Пароксизмальный период длится 2-4 недели.
* Восстановительный период – количество и интенсивность приступов кашля постепенно уменьшается. Этот период длится долго – 4-6 недель.
* Заболевание похожее на коклюш – возникает редко, носит эпизодический характер, протекает легче коклюша.

При коклюше приступы спастического кашля сопровождаются тяжелой гипоксией , цианозом, судорожным синдромом и нередко заканчивается рвотой **Иммунитет**

* После перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет. Рецидивы редки и имеют легкое течение.Иммунитет видоспецифичен. Антитела против B.pertusis не могут защитить организм от заболеваний, вызываемых B.parapertusis и B.bronchiseptica.

**Микробиологическая диагностика**

* Материал исследования – слизь с задней стенки глотки
* ***Бактериологический метод*** – материал из носоглотки забирают с помощью специальных тампонов из альгината кальция , смоченные в растворе пенициллина , или методом *«кашлевых пластинок » -* во время приступа кашля чашку Петри со средой Борде-Жангу держат непосредственно перед лицом пациента .

 Серологический метод – применяют РИФ со специфической флюоресцирующей сывороткой и материалом из носоглотки больного.

* ***Молекулярно-генетический метод (ПЦР)*** – тест проводится с использованием праймеров *B.pertussis* и *B.parapertussis* .

**Специфическая профилактика**

* ***AКДС вакцина*** (адсорбированный коклюшно-дифтерийно-столбнячный анатоксин). Иммунизацию проводят начиная с 3-месячного возраста, троекратно, с интервалами между введением препарата в 4-6 недель.
* Для экстренной профилактики коклюша у контактирующих с больными лиц назначают нормальный человеческий иммуноглобулин и эритромицин в первые 5 дней после контакта с заболевшим.

**Лечение**

* *Эритромицин* – применяют в катаральной стадии.
* *Нормальный человеческий иммуноглобулин* – применяют для лечения тяжелых или осложненных форм коклюша.
* *Кислородные ингаляции.*

*Aнтигистаминные или седативные препараты*

**Гемофильные бактерии**

* Обычно растут в питательных средах, обогащенных кровью (с этим связано и название рода: греч., haima — кровь, philos — любить). Для их развития необходимы факторы роста X и V, содержащиеся в эритроцитах.
* **Фактор X** представляет собой термостабильный тетрапиррол, входящий в состав гематина и гемина эритроцитов. Виды, нуждающиеся в этом факторе, не способны синтезировать протопорфирин из дельта-аминолевулиновой кислоты. Эта характеристика используется при идентификации гемофильных бактерий.
* **Фактор V** представляет собой термолабильное вещество, содержащее никотинамидадениннуклеотид (НАД) или никотинамидадениннуклеотидфосфат (НАДФ). Этот фактор входит в состав витаминов группы В, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях в бактериальных клетках.
* Род *Haemophilus* принадлежит к семейству Pasteurellaseae и включает около 20 видов.
* *Haemophilus influenzae,* типичный вид рода, имеет более важное значение в патологии человека.

**Морфология.** *H. influenzae —* мелкие грамотрицательные полиморфные бактерии размером 0,3–0,4x1–1,5 мкм. Морфология зависит от срока получения чистой культуры или вида питательных сред. В основном коккобациллы или палочки, иногда образующие пары, короткие цепочки или длинные нити. Неподвижны, спор не образуют, имеют пили (фимбрии). Некоторые штаммы образуют полисахаридную капсулу.

**Культуральные свойства.**Поскольку в кровяном агаре вокруг колоний гемолитических бактерий эритроциты лизируются, вокруг колоний гемолитических бактерий эритроциты лизируются высвобождаются факторы X и V, обеспечивающие развитие гемофилов. Таким образом, наблюдается ускорение развития гемофильных бактерий - явление сателлитизма.

***Дифференциация бактерий из рода Haemophilus***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  ***Виды*** | ***Факторы роста*** | ***Гемолиз***  |
|  ***X-фактор*** |  ***V- фактор*** |
| ***H.Influenzae (H.aegyptius)***  |  ***+***  |  ***+*** |  ***-*** |
| ***H.parainfluenzae*** |  ***-*** |  ***+*** |  ***-*** |
| ***H.haemolyticus*** |  ***+***  |  ***+***  |  ***+*** |
| ***H.parahaemolyticus*** |  ***-*** |  ***+*** |  ***+*** |
| ***H.aphrophilus***  |  ***-*** |  ***-*** |  ***-*** |
| ***H.ducreyi***  |  ***+*** |  ***-*** |  ***-*** |

**Антигенная структура**

* *H. influenzae* имеет соматический О-антиген, а капсульные варианты также имеют полисахаридсодержащий К-антиген.
* В зависимости от особенностей строения капсульного антигена *Н. influenzae* подразделяют на 6 серотипов (а, b, c, d, e, f).
* Капсульный антиген серотипа b представляет собой полимер (полирибофосфат), состоящий из рибозы и рибитола в сочетании с фосфатной кислотой.
* Большинство штаммов *H. influenzae*, представителей нормальной микрофлоры дыхательных путей, не образуют капсулы.

**Факторы патогенности:**

*H. influenzae* не продуцирует экзотоксин. ЛПС наружной мембраны играет важную роль в процессе адгезии и инвазии гемофильных бактерий в качестве эндотоксина.

* Эндотоксин также парализует реснички защитного эпителия дыхательных путей человека, вызывая оседание микробов в верхних дыхательных путях.
* Основным фактором патогенности *H. influenzae* является капсула, которая защищает от фагоцитоза и обеспечивает выживание в организме. Не случайно капсулярные штаммы типа b вызывают более тяжелые инфекции.
* *H. influenzae* секретирует IgA-протеазу, которая может инактивировать антитела. Клетки возбудителей и IgA-протеаза играют ведущую роль в их адгезии и оседании на эпителии дыхательных путей.

**Источник инфекции и пути заражения:**

* H. influenzae - бактерия, патогенную только для человека.
* Источником инфекции являются больные и носители бактерий.
* Заражение происходит в основном воздушно-капельным путем.

**Патогенез и клиника**

* *H. influenzae*, попавшая в верхние дыхательные пути, прилипает к защитному эпителию и оседает там. У людей со слабым иммунитетом переходит в подслизистый слой и с помощью своих эндотоксинов вызывает местные гнойно-воспалительные процессы, такие как отит, синусит (воспаление придаточных пазух носа), бронхит, пневмонию.
* Капсульные штаммы *H.influenzae*, особенно серотипа b, могут распространяться либо локально в верхних дыхательных путях, либо гематогенно, вызывая генерализованные инфекции, такие как септицемия, менингит и др.
* Согласно мировой статистике, гемофильная палочка является одной из основных причин детской смертности. Особенно опасны эти бактерии для детей до 5 лет: наряду с пневмококками они являются одним из основных этиологических факторов гнойных заболеваний среднего уха (отит), носовых карманов (гайморит), верхних дыхательных путей (ларинготрахеит, эпиглоттит), и мозговых оболочек (менингит).
* Эпиглоттит является одним из наиболее серьезных заболеваний, вызываемых H. influenzae серотипа b. Эпиглоттит - прогрессирующая инфекция гортани и окружающих тканей флегмонного типа, чаще всего встречается у детей в возрасте 2-5 лет. Эпиглоттит может быстро привести к смерти от удушья.
* Наряду с пневмококками и менингококками H. influenzae является ведущим этиологическим фактором менингита у детей раннего возраста.

**Микробиологическая диагностика:**

Материалы для исследования

- слизь из носоглотки

- кровь

- мокрота

- ликвор (при менингите)

* При гнойном менингите мазок, приготовленный из спинномозговой жидкости, можно окрасить по Граму и подвергнуть микроскопии.
* ИФР можно применять для обнаружения капсульных штаммов в спинномозговой жидкости.
* В остальных случаях микроскопический метод менее информативен.
* Получение и идентификацию возбудителя из патологического материала проводят бактериологическим методом.
* Материал высевают на шоколадный или кровяной агар.
* Дифференциацию *H. influenzae* от других грамотрицательных бактерий проводят на основании их потребности в X- и V-факторах, отсутствии гемолиза в кровяном агаре, феномене сателлизма и других признаках.

**Лечение**

* В качестве препаратов выбора применяют цефалоспорины III поколения, например, цефтриаксон, цефотаксим и др.
* Некоторые штаммы H. influenzae серотипа b чувствительны к ампициллину и хлорамфениколу, но многие штаммы синтезируют бета-лактамазу.

**Пофилактика**

* Вакцина, используемая для специфической профилактики заболеваний, вызванных Н. influenzae типа В, включает очищенный капсульный антиген.
* Поскольку эта вакцина имеет слабую иммуногенность у младенцев, ее конъюгируют с белком-носителем для усиления ее действия. В качестве носителей используют дифтерийный или столбнячный анатоксин, а также белки наружной мембраны менингококков группы В.
* После вакцинации отмечается значительное снижение менингита, вызванного H. influenzae.

***Haemophilus aegyptius.***

* известен как биовар aegyptius H. influenzae.
* Биовар аegyptius не отличается от других биоваров *H.influenzae* по своим морфо-биологическим признакам, но отличается слабой биохимической активностью.
* В отличие от других биоваров, не обладает D-ксилозной активностью.

***Haemophilus aegyptius -* Микробиологическая диагностика**

* Микробиологический диагноз основывается на бактериологическом исследовании гнойного содержимого, взятого со слизистой оболочки глаза при конъюнктивите, и крови при бразильской лихорадке.
* Возбудитель идентифицируют по реакции агглютинации с использованием специфических сывороток.

***Haemophilus ducreyi* (возбудитель мягкого шанкра)**

Это 0,2-2 мкм, овальной формы, неподвижные палочковидные бактерии, под микроскопом располагаются параллельными цепочками («железнодорожные пути»), группами или парами

Для роста *H. ducreyi* требуется фактор X, но не фактор V. На кровяных питательных средах твердой консистенции образует мелкие серовато-желтые светлые колонии, напоминающие колонии стрептококков, на жидких питательных средах не образует помутнений.

**Микробиологическая диагностика:**

* В мазках, приготовленных из содержимого шанкра, характеристика основана на микроскопическом обнаружении мелких грамотрицательных бацилл с характерной морфологией.
* Получить культуру возбудителя и идентифицировать можно путем посева патологического материала на соответствующие питательные среды.

***Gardnerella vaginalis***

Это мелкие бациллы или коккобациллы размером 1-2 мкм, не имеют капсулы и жгутиков, не образуют спор. В мазках располагаются одиночно или парами (конец в конец).

Иногда наблюдается V-образное расположение, как у Corynebacterium (поэтому ранее она называлась Corynebacterium vaginalis).

В мазках, окрашенных по Нейссеру, обнаруживаются метахроматические гранулы.

**По методу Грама окрашивается вариабельно**

**Культуральные свойства.** Факультативный анаэроб, но лучше всего растет в атмосфере, богатой углекислым газом. Требовательна к питательным средам, на обычных питательных средах не растет, на средах с добавлением казеина, дрожжевого экстракта, сыворотки и крови, а также на V ("vaginalis") агаре при 35-37°С, через 24-48 ч образует мелкие, выпуклые, гладкие бесцветные колонии. На кровяном агаре образуют очень мелкие (диаметром 0,25-0,5 мм) колонии с зоной α- и β -гемолиза.

* **Патогенез и клиника.** *G. vaginalis —* условно-патогенная бактерия, экологической нишей которой является матка. Гарднерелла, как и другие условно-патогенные микроорганизмы, при определенных условиях вызывает заболевания. Основным клиническим проявлением гарднереллеза у женщин является бактериальный вагиноз.
* Бактериальный вагиноз (ранее называвшийся неспецифическим вагинитом) составляет примерно 40% всех вагинитов. У большинства женщин маточные кровотечения сопровождаются водянистыми однородными выделениями с резким неприятным «рыбным» запахом, ощущением зуда и образованием аномальных аминов. Иногда имеет бессимптомное течение.
* В ряде случаев попадание бактерий в полость матки, маточные трубы и яичники вызывает острую, а также хроническую и рецидивирующую инфекцию в указанных органах - эндометрит и сальпингофорит.
* Занос возбудителя из матки в мочеиспускательный канал может закончиться гарднереллезом мочевыводящих путей, сопровождающимся геморрагическим циститом, пиелонефритом и симптоматической бактериурией.
* G. vaginalis редко вызывает заболевание у мужчин из-за факторов, препятствующих колонизации мужских мочевыводящих путей. В ряде случаев вызывает неспецифический уретрит в ассоциации с другими возбудителями.

**Микробиологическая диагностика:**

* Основана на микроскопии нативных или окрашенных по Граму мазков из материала, взятого из матки и шейки матки.
* В мазке, окрашенном по Граму, поверхность эпителиальных клеток покрыта мелкими коккобациллами различной окраски. Такие эпителиальные клетки называются «ключевыми клетками».
* Очень информативна в диагностике бактериального вагиноза микроскопия мазка с окраской по Граму.
* Бактериологический метод, основанный на получении и выявлении культуры возбудителя, применяется редко из-за сложности культивирования.
* Диагностическим признаком также можно считать рН более 4,5 в материале, взятом из шейки матки. Добавление к материалу нескольких капель 10% КОН дает «рыбный» запах.
* **Лечение. Проводится метронидазолом.**
* **Помимо метронидазола назначают местные вагинальные эубиотики (лактобактерии) для восстановления нарушенной нормальной флоры**
* **Нецелесообразно лечить мужчин, являющихся половыми партнерами больных женщин.**

**Легионеллы (род *Legionella*)**

* *Род Legionella* включает более 30 видов, среди которых наибольшее значение имеют виды L. pneumophila и L. micdadei.
* Легионеллы — грамотрицательные палочковидные, иногда нитевидные, полиморфные бактерии шириной 0,5—1,0 и длиной 2—50 мкм. В мазках из патологических материалов иногда не выявляются, так как они слабо окрашиваются по Граму.
* Имеют полярные, субполярные и латерально расположенные жгутики, подвижны, образуют споры.

**Культуральные свойства.** Культивируют в аэробных условиях на специальных питательных средах - забуференном угольно-дрожжевом агаре с добавлением альфа-кетоглутарата при температуре 35 С, рН 6,9. Легионеллы развиваются медленно, видимые колонии наблюдаются только через 3 дня. Колонии бесцветные, розовые или голубые, полупрозрачные, но могут быстро терять пигмент и прозрачность.

**Антигенная структура.**

* **Существует12 серогрупп видов *L. pneumophila.* Виды Legionella не могут быть дифференцированы по их антигенным свойствам. Разные виды имеют перекрестные антигены**
* **L. pneumophila имеет перекрестные антигены с бактероидами, бордотеллами, псевдомонадами и Chlamydia psittaci.**
* **Экология.** Легионеллы – повсеместно распространенные бактерии водной среды. Они встречаются в естественных и искусственных водоемах, могут размножаться в сине-зеленых водорослях и свободноживущих амебах. Могут сохраняться в нехлорированной питьевой воде более 1 года. Легионелла может колонизировать водопроводные трубы в ассоциации с микроорганизмами, живущими в неорганических конгломератах.
* **Источник инфекции и пути заражения.** Легионеллез – сапронозная инфекция. Возбудитель попадает в организм через дыхательные пути с водными аэрозолями, образующимися в кондиционерах и душевых. Легионелла не передается от больных к здоровым людям.

**Факторы патогенности и патогенез**

Легионеллы секретируют протеазы, фосфатазы, липазы, ДНК-азы и РНК-азы.

* Протеазы обладают гемолитической и цитотоксической активностью.
* Как и все грамотрицательные бактерии, они обладают эндотоксином.
* Легионеллы - факультативные внутриклеточные бактерии, они легко размножаются внутри макрофагов Взаимодействие между макрофагами и легионеллами происходит по типу спонтанного эндоцитоза. Поглощенные легионеллы не активируют микробоцидную систему макрофагов, поэтому способны выживать внутри них. Кроме того, фермент каталаза защищает легионеллу от действия кислородзависимой микробицидной системы макрофагов.
* Воротами инфекции являются дыхательные пути. Агенты поглощаются альвеолярными макрофагами в альвеолах легких. Макрофаги, поглотившие Legionella, выделяют цитокины, которые вызывают воспалительные реакции.
* В паренхиме легких образуются многочисленные абсцессы, некоторые из них вскрываются с образованием каверн. Далее возможно распространение возбудителя с током крови в различные органы и ткани, что приводит к дыхательной недостаточности, а также к системным поражениям - энцефалопатии, дисфункции сердечно-сосудистой системы и др. В результате уничтожения бактерий элиминация эндотоксинов вызывает интоксикацию.

**Клинические проявления легионеллеза.** Различают 3 основные клинические формы легионеллеза.

**Болезнь легионеров** проявляется тяжелой пневмонией, характеризующейся высокой летальностью. Латентный период длится 2-10 дней. Обычно возникает очаговая или крупозная пневмония, сопровождающаяся поражением нижних долей легких. Высокая температура, сухой кашель, слабость, головные боли, одышка, признаки плеврита, диарея, делирий. Иногда развивается инфекционно-токсический шок, приводящий к летальному исходу.

**Лихорадка Понтиак** (Понтиак — название города в США) — респираторное заболевание без пневмонии. Проявляется гриппоподобными симптомами – лихорадкой, мышечной и головной болью, иногда сухим кашлем. Болезнь обычно проходит самостоятельно в течение недели, случаев летального исхода не бывает.

**Лихорадка Форт-Брагга** (Форт-Брагг — название города в США) проявляется острым лихорадочным заболеванием с экзантемой.

**Внутрибольничные инфекции** возникают в результате непрерывных внутрибольничных заражений от общего источника. Основным возбудителем является L. micdadei. Проявляется односторонней или двусторонней пневмонией, сопровождающейся экссудативным плевритом, сердечной и почечной недостаточностью. Летальность достигает 25%.

**Микробиологическая диагностика:**

Легионелла может быть обнаружена в бронхиальном лаваже, плевральной жидкости, биоптатах легких и крови, полученной от больных.

* При культивировании этих материалов возбудитель может быть выделен и идентифицирован с помощью реакции иммунофлюоресценции. Получить легионеллу из мокроты очень сложно, так как она богата нормальной микрофлорой.
* Антитела можно обнаружить в сыворотке крови методом ИФА через 1-3 нед от начала заболевания. Поскольку чувствительность серологических реакций не очень высока, их используют в основном для ретроспективной диагностики.
* Обнаружение антигенов Legionella (L.pneumophila серогруппы 1) в моче моноклональными антителами считается специфическим тестом.
* В патологических материалах возбудитель также может быть обнаружен с помощью ПЦР.

**Лечение**

* Препарат выбора – эритромицин. Этот антибиотик эффективен даже у пациентов с ослабленным иммунитетом.
* при слабом эффекте лечения также используется Рифампицин