***Занятие 8***

**Микробиологическая диагностика туберкулеза, лепры, актиномикоза и нокардиоза**

***Mycobacterium tuberculosis***

**Морфо-биологические особенности.** *M. tuberculosis* – палочковидная бактерия длиной 0.4-3 мкм. Встречается в виде полиморфных палочек, а также кокковидных и нитевидных форм. В одной и той же культуре встречаются прямые, изогнутые, колбовидные, очень мелкие, фильтрующиеся через бактериальные фильтры, могут содержать кислотолабильные гранулы (зерна Муха) в цитоплазме. Неподвижны, спор и капсул не образуют, имеют микрокапсулу. Облигатные аэробы. *Отличительное культуральное свойство –* растут медленно и только на специальных питательных средах. ***Метод Циля-Нильсена –*** в окрашенных препаратах микобактерии располагаются одиночно, либо в виде скоплений , напоминающих цифру V, красного цвета *кислотоустойчивые палочки* (за счёт высокого содержания в клеточной стенке липидов, состоящих из миколoвых кислот.)

**Культуральные свойства.** Отличительным культурным свойством M.tuberculosis, по типу дыхания относящемуся к облигатным аэробам, является его потребность в питательных средах и постепенное развитие. Развитие и размножение происходит в основном делением или, что сложнее, почкованием. Причиной медленного роста в культуре является то, что M.tuberculosis очень поздно делится, примерно каждые 18-20 часов.

***Культивация M.tuberculosis***

* ***Полусинтетический питательный агар:***

*Среды Миддлбрука 7H10*  и  *7H11*

* ***Яичные питательные среды:***

*Среды Левенштейна-Йенсена, Финна-2*

* ***Жидкие среды***:

Среды *Миддлбрука 7H9* и *7H12*

* Полусинтетические среды (например, среды *Middlebrook 7H10 и 7H11*) – содержат соли, кофакторы, витамины, альбумин, каталазу и глицерин. Среда Middlebrook 7H11 также содержит гидролизат казеина. M.tuberculosis развивается в этой среде в течение нескольких недель. Эти среды в основном используются для изучения культуральных свойств, а также для тестов на чувствительность.
* Среда, содержащая желток (например, среда Левенштейна-Йенсена, Finna II) - среда Левенштейна-Йенсена содержит соли, глицерин и сложные органические ингредиенты (яичный желток, картофельная мука и т. д.). M.tuberculosis развивается на этой среде в течение 3-6 недель, так как для первоначального культивирования необходимо небольшое количество инокулята, эти среды используют при первоначальном культивировании микобактерий. Среда Левенштейна-Йенсена рекомендована ВОЗ в качестве стандартной среды для культивирования микобактерий.
* В отличие от среды Левенштейна-Йенсена, в среде Финна II аспарагин заменяется глутамином, и микобактерии растут в этой среде несколько быстрее.

Жидкие среды (например, среды *Middlebrook* 7Н9 и 7Н12) позволяют получить первичную культуру микобактерий быстрее, чем комплексные среды, и с использованием меньшего количества инокулята

***M.tuberculosis*** –образуют через 15-20 дней в виде сухого налёта светло-кремовые колонии с неровными краями, напоминающие цветную капусту (вирулентные R-колонии )

* На жидких средах дают рост через 5-7 дней в виде сухого, плотного, морщинистого налёта кремового цвета. Под этим налётом питательная среда остаётся прозрачной.

***Mycobacterium tuberculosis (биохимические особенности)***

* *M.tuberculosis* обладает слабой биохимической активностью.
* ***Ферменты:***

***- Ферменты каталаза и пероксидаза*** – чувствительные к изониазиду штаммы обладают высокой каталазной и пероксидазной активностью, а резистентные – низкой за счет мутации в гене Kat G

- аминотрансфераза

- эстераза

- трегаллоза

- амидаза

* Редуцирует нитраты в нитриты
* *M.tuberculosis* обладает слабой биохимической активностью. Имеет такие ферменты, как аминотрансфераза, эстераза, трегаллаза и амидаза. Особый интерес представляют ферменты каталаза и пероксидаза. Вирулентность M.tuberculosis и его устойчивость к препаратам из группы гидразидов изоникотиновой кислоты (изониазид) связаны с этими ферментами (активность гена KatG). Изониазидчувствительные штаммы возбудителей туберкулеза обладают высокой, а изониазидрезистентные - слабой каталазной и пероксидазной активностью.
* В отличие от M.bovis и условно-патогенных микобактерий M.tuberculosis продуцирует никотиновую кислоту (ниацин). Поскольку никотиновая кислота накапливается в больших количествах в жидкой питательной среде, ее можно обнаружить с помощью ниацинового теста в культуральной жидкости. Этот тест основан на образовании бледно-желтого комплексного соединения с никотиновой кислотой в растворе цианида калия и хлорамина Б.
* Резистентные к изониазиду штаммы не синтезируют ниацин.
* В отличие от M.bovis, M.tuberculosis восстанавливает нитраты до нитритов
* ***Ниациновый тест*** - В отличие от *M.bovis* и условно-патогенных микобактерий, *M.tuberculosis* выделяет никотиновую кислоту (ниацин). Тест основан на образовании комплексного соединения цианида калия и раствора хлорамина Б с никотиновой кислотой который дает при этом ярко желтое окрашивание.

**Факторы патогенности.**

* ***Липиды:*** составляют до 10-40% сухого остатка микробов и обеспечивают микобактериям кислотоуйчивость.
* ***Белки:*** до 60%, обусловливают антигенные свойства
* ***Полисахариды****:* 15%, участвуют в развитии гиперчувствительности замедленного типа и образовании антител
* В связи с наличием соединения миколовой кислоты и углеводов (трегалоза - 6,6 -димиколат) - ***«корд» фактора,***  возбудители туберкулёза растут в виде жгутов или кос (англ., *cord* – верёвка, шнур) в микрокультуре, и под микроскопом видны в виде параллельных цепочек.
* ***«Корд» фактор:***
* *-* Ослабляет миграцию лейкоцитов
* - Участвует в развитии хронической гранулёмы
* - Играет роль иммунологического адьюванта

***«Старый туберкулин Коха»*** состоит из концентрата, полученного из фильтрата 6-ти недельной глицериновой бульонной культуры.

«***Новый туберкулин***» *-* получен при химической очистке старого туберкулина Коха, называется PPD (англ., *purified protein derivate* – очищенный дериват белка). Его биологическая активность определяется в «туберкулиновых единицах» (TЕ).

**Чувствительность животных.** В естественных условиях животные менее восприимчивы к M.tuberculosis.Среди подопытных животных более чувствительны к этой бактерии морские свинки, при подкожном заражении которых развивается инфекция, сопровождающаяся генерализацией и гибелью в течение 2-3 мес.

**Источник инфекции и пути передачи**. Источником инфекции являются больные туберкулёзом, выделяющие возбудителей с мокротой в окружающую среду. Заражение происходит воздушно-капельным и воздушно-пылевым путём. Возможно заражение плода трансплацентарным путём. В редких случаях заражение происходит пищевым путём при употреблении термически не обработанных мясо-молочных продуктов. Это характерно для туберкулёза, вызванного *M.bovis*

**Патогенез туберкулёза.** Туберкулёз это первичное хроническое заболевание, которое сопровождается поражением различных органов и систем. В основе патологического процесса лежит образование в тканях специфических гранулём. Инкубационный период длится от нескольких недель до нескольких лет, иногда более длительный период. Первичный туберкулёз – попадание аэрогенным путём большой дозы высоковирулентного возбудителя туберкулёза, который сопровождается в легких формированием первичных очагов и образованием первичного туберкулёзного комплекса. Диссеминированный туберкулёз. Вторичный туберкулёз – наблюдается у ранее зараженных людей при активации старого эндогенного очага.

***Незавершенный фагоцитоз -***в слизистых оболочках микобактерии, подвергнутые фагоцитозу макрофагами, переносятся в регионарные лимфатические узлы где они долго сохраняются в латентном состоянии.

Наиболее часто заражение происходит через дыхательные пути. Попавшие в организм микобактерии захватываются альвеолярными и легочными макрофагами. В месте попадания может развиться первичный аффект. Далее возбудитель транспортируется в регионарные лимфоузлы, вызывая воспалительную реакцию - лимфангоит и лимфаденит. Первичный аффект, лимфангоит и лимфаденит - первичный комплекс (первичный очаг туберкулеза), характеризующийся образованием по ходу лимфатических путей и узлов гранулем в виде бугорков (бугорчатка или туберкулез). Образование гранулем представляет собой клеточную реакцию ГЗТ на ряд химических компонентов микобактерий. В центре гранулемы в очаге некроза (казеозного распада) находятся микобактерии. Очаг окружен гигантскими многоядерными клетками Пирогова - Лангханса, их окружают эпителиоидные клетки а по периферии - лимфоциты, плазматические и мононуклеарные клетки. В гранулемах обычно замедляется или прекращается размножение возбудителя. Вокруг гранулёмы образуется соединительнотканная капсула, происходит заживление очага, воспаление рассасывается, некротические массы уплотняются и в результате скопления солей кальция очаг обызвествляется, таким образом образуется очаг Гона. В результате микобактерии переходят в L-формы и длительно сохраняются в организме.

***Каверна*** – при снижении резистентности гранулёмы подвергаются некрозу и L-формы бактерий переходят в вирулентную форму. В результате этого процесс активируется, возбудители проникают в окружающие ткани, иногда в ткани лёгких образуя полости – *каверны*.

**Клинические формы туберкулёза.**

В зависимости от локализации различают 3 клинические формы:

* ***Первичная туберкулёзная интоксикация у детей и подростков*** ;
* ***Туберкулёз органов дыхания*** (лёгких и внутренних лимфатических узлов грудной полости) ;
* ***Туберкулёз других органов и систем*** ( туберкулёз желудка и кишечника, туберкулёз почек, туберкулёзный менингит, туберкулёз костей, туберкулёз кожи и др.)

**Иммунитет.**

* Нестерильный, инфекционный
* Антитела не обладают протективной активностью
* Факторы клеточного иммунитета играют решающую роль

-Фагоцитоз носит незавершенный характер

* Развивается гиперчувствительность замедленного типа.

**Микробиологическая диагностика.**

* *Материал для исследования при лёгочной форме:*

- мокрота

- бронхиальный смыв

- плевральная жидкость

* *Материал для исследования при других формах заболевания:*

- цереброспинальная жидкость

- моча

- асцитическая жидкость

- биоптаты из соответствующих органов

*В микробиологической диагностике туберкулёза могут быть применены все микробиологические методы!*

* ***Метод микроскопии*** – прямая микроскопия мазка приготовленного из патологического материала и окрашенного по Цилю-Нильсену.
* ***Люминесцентная микроскопия*** –основана на способности липидов микобактерий окрашиваться люминесцентными красителями и люминесцировать (светиться) под влиянием ультрафиолетовых лучей.
* ***Бактериологический метод* -** *«золотой стандарт»,* получение культуры возбудителя, его идентификация и изучение чувствительности к химиотерапевтическим препаратам*.*
* ***Метод микрокультуры Прайса*** –применяется для ускоренной диагностики (1-2 недели) .
* ***Метод автоматизированной культивации*** – используется система *BACTEC MGIT*. Внутри системы культивации *BACTEC* в пробирках *MGIT* (*Mycobacteria Growth Indicator Tube*) имеется модифицированный питательный бульон *Middlebrook 7H9.*
* ***Молекулярно-генетический метод (ПЦР)*** – позволяет сократить время исследования до двух дней, чувствительность 55-90%, специфичность около 100%.
* ***Серологический метод*** *-* ИФА, служит для обнаружения в сыворотке крови специфических антител к возбудителю туберкулёза. С помощью ИФА определяют не заболевание, а инфицирование.
* ***Биологический метод –*** обнаружение возбудителей туберкулёза в патологическом материале основано на заражении лабораторных животных.

* **Кожно-аллергическая проба** основана на реакции ГЗТ (латентная туберкулёзная инфекция) к туберкулину. Для этого определённая доза туберкулина (PPD) вводится в виде внутрикожной инъекции на передней поверхности предплечья ***(проба Манту)***. Эта проба широко используется для массового обследования населения, и своевременного выявления первичного заражения (виража) детей и подростков.
* Положительная туберкулиновая проба показывает не заболевание, а инфицирование.

**Определение чувствительности возбудителя туберкулёза к химическим терапевтическим препаратам:**

* ***Метод точной концентрации -*** основан на культивации *M.tuberculosis* на питательных средах с добавлением противотуберкулёзных препаратов в определённой концентрации.
* ***Резазуриновый тест*–**основан на редукции резазурина и изменения цвета среды, позволяет более быстро оценивать рост микобактерий.
* ***Определение генов резистентности с помощью ПЦР***
* Мутация в гене *InhA,* кодирующем ферменты миколовой кислоты – чувствительность к изониазиду
* Мутация в гене *rpsL,* кодирующем рибосомальный протеин – чувствительность к стрептомицину
* Чувствительность к рифампицину, возможно, связана с изменениями субкомпонента b в РНК-полимеразе (мутация в гене *rpoB*)

**Лечение туберкулёза:**

* *Препараты первого ряда*: изониазид, рифампицин, пиразинамид, этамбутол и стрептомицин
* *Препараты второго ряда :* канамицин, этионамид, циклосерин, хинолоны, (офлоксацин, ципрофлоксацин) более токсичные и мало эффективные
* *Современный стандарт химиотерапии туберкулёза* – лечение проводится четырьмя препаратами первого ряда – комбинацией изониазида, рифампицина, пиразинамида, этамбутола непрерывно в течение 6-9 месяцев.

**Профилактика туберкулёза:**

* ***Специфическая профилактика* –** проводят с помощью вакцины BCG (*bacillus Calmette-Guerin*)
* ***Bакцина BCG*** вводится новорожденным на первой неделе жизни в виде внутрикожной инъекции.
* Ревакцинация в 7 и 12 лет, затем до 30 лет через каждые 5-6 лет.
* Недоношенных детей иммунизируют слабо реактогенной вакциной BCG-M , в которой количество бактерий в 2 раза меньше.

***Mycobacterium bovis***

* Возбудителем около 5% случаев является микобактерия бычьего типа - *Mycobacterium bovis* .
* *M.bovis* отличается от *M.tuberculosis* по морфо-биологическим показателям .
* Для дифференциации *M.bovis* и *M.tuberculosis*  применяют ниациновый тест и биопробы на кроликах. *M.bovis* не образует никотиновую кислоту (ниацин) и непатогенна для кроликов.
* *Mycobacterium africanum* по морфобиологическим показателям часто идентифицируется как *M.bovis* .
* *M.africanum* встречается, в основном, в Африке и только в 5% случаев является возбудителем туберкулёза в других странах.
* Является патогеноой для морских свинок, мышей и, в меньшей степени, кроликов.

***Атипичные микобактерии***

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Атипичные бактерии**  **классификация Раньона** | | |
| **I группа** | **Медленно развивающиеся фотохромогенные микобактерии.** | *M.kansasii M.marinum, M.simiae* и др. |
| **II группа** | **Медленно развивающиеся скотохромогенные микобактерии.** | *M.scorfulaceum, M.szulgai,* *M.flavescens, M.gordonae* и др. . |
| **III группа** | **Медленно развивающиеся нехромогенные микобактерии.** | (*M.avium complex, M.xenopi*, *M.ulserans, M.gastri, M.celatum* и др. . |
| **IV группа** | **Быстро развивающиеся микобактерии.** | *M.chelonei* qrupu, *M.fortuitum* qrupu, *M.smegmatis, M.phlei* и др. . |

**Возбудитель лепры (*Mycobacterium leprae*)**

***M.leprae –*** прямые либо слегка изогнутые палочки длиной 4-5 мкм.

По морфо-биологическим показателям напоминает возбудитель туберкулёза. Грамположительные неподвижные палочки, спор и капсул не образуют, имеется микрокапсула.

В связи с устойчивостью к кислоте и спирту, окрашиваются по *Цилю-Нильсену* в *красный цвет*.

* У большинства броненосцев через 15 месяцев после заражения большими дозами *M.leprae* развивается специфический генерализованный процесс.
* У этих животных развиваются такие же клинические симптомы, как у людей при лепроматозной форме лепры. Но, в отличие от людей, у броненосцев повреждение тканей лёгких происходит быстрее и интенсивнее.
* В поражённых тканях броненосцев концентрация возбудителя в сотни раз больше, чем в эквивалентных тканях у заболевших людей.

**Источник инфекции и пути передачи:**

* Источником инфекции является больной человек.
* Заболевание передаётся при непосредственном контакте либо воздушно-капельным путём.
* Больные лепрой, в слизи носа у которых находится большое количество *M.leprae,* являются более опасными*.*
* Доказано внутриутробное заражение, но после рождения большинство детей, отдалённых от родителей, не заболевают лепрой.
* ***Слабо контагиозное.***

**Патогенез лепры:**

* ***Туберкулоидная форма*** – доброкачественная. Эта форма характеризуется формированием эпителиоидных и гигантоклеточных гранулём в коже и слизистых оболочках.
* ***Лепроматозная форма*** – Эта форма характеризуется формированием на коже и слизистых оболочках гранулём, состоящих из «лепрозных клеток» (клеток Вирхова), плазмоцитов, лимфоцитов и фибробластов, а также повреждением периферических нервов.
* ***Недифференцированные формы -*** промежуточная форма

**Клинические симптомы лепры:**

* Лепра – первичное генерализованное хроническое заболевание, которое сопровождается гранулематозным повреждением кожи и верхних дыхательных путей, а так же периферической нервной системы и внутренних органов.
* Инкубационный период в среднем составляет 2-10 лет, иногда длиться до 20 лет. Только у 5-10% заражённых развиваются манифестные формы.
* ***Туберкулоидная форма –*** проявляется образованием узелков, состоящих из грануляционной ткани, на коже и слизистых оболочках (название болезни «лепроз» в переводе с греческого означает «бугристый»). Одной из важнейших особенностей этих узлов является их анестезия, т.е. потеря чувствительности.
* ***Недифференцированная форма*** – проявляется образованием кожных высыпаний и поражением периферических нервов, может трансформироваться в туберкулоидную или лепраматозную форму. Кожные высыпания представляют собой резко ограниченные пятна (леприды) различной величины и цвета, сначала гиперестетические, а затем анестезирующие.
* При ***лепроматозной форме*** узелки выглядят как красно-коричневые инфильтраты преимущественно на лице и дистальных отделах конечностей. Нередко у больных выпадают брови и ресницы, а узелки и инфильтраты придают лицу «львиное лицо». Лимфатические узлы, особенно паховые и локтевые, увеличиваются и богаты микобактериями. Обезболивания гранулем не наблюдается, они сохраняются много лет, претерпевают рубцовые изменения или рассасываются.

**Микробиологическая диагностика:**

**Материал для исследования**

- соскоб со слизистой оболочки перегородки носа

- скарификация повреждённых тканей

- тканевая жидкость, полученная при пункции увеличенных лимфатических узлов.

* ***Метод микроскопии*** – обнаружение кислотоустойчивых бактерий в мазках, окрашенных по Цилю-Нельсену.
* ***бактериологический метод*** – инокуляция материала на питательных средах
* ***биологический метод***- не патогенны для морских свинок и кроликов в отличие от возбудителя туберкулеза
* ***Тест на лепромин*** – не имеет диагностического значения, поскольку даёт отрицательный результат при лепроматозной форме и положительный результат при туберкулоидной форме у многих здоровых людей.
* В результате внутрикожной инъекции лепромина через 48 часов развивается первичная ***реакция Фернандеса***, а через 3-4 недели поздняя ***реакция Мицуды***.
* ***Серологический метод*** – с помощью ИФА обнаруживаются антитела к гликолипидам *M.leprae.*
* **Профилактика.** Для специфической профилактики лепры не разработаны препараты. В эндемичных зонах используется вакцина БЦЖ, составной частью которой является лепромин А. Для изоляции больных лепрой размещают в специальные учреждения *лепрозории.*

**Лечение лепры:**

* К противолепрозным препаратам относятся препараты сульфонового ряда, в основном, ***дапсон***. Дапсон считается основным препаратом для лечения всех форм лепры.
* Кроме, этого назначается рифампицин и клофазимин.
* К другим препаратам, эффективным в отношении *M.leprae* относятся **миноциклин, кларитромицин** и некоторые **фторхинолоны**.

**Актиномицеты (классификация)**

Промежуточные между бактериями и грибами микроорганизмы актиномицеты объединены в порядке *Actinomycetales.*

* В этом порядке находятся также патогенные для человека семейства *Actinomycetaceae, Nocardiaceae* и *Streptomycetaceae,* к которым, соответственно, относятся роды *Actinomyces, Nocardia* и *Streptomyces.*
* Для патологии человека наиболее важными являются виды *A.israelii*и*A.naeslundii* . *A.viscosus, A.odontolyticus и A.bovis*  очень редко вызывают заболевания.

**Морфо-биологические особенности:**

* *Род Actinomyces* – грамположительные, тонкие, прямые или слегка изогнутые палочки размером 1-3 мкм. В процессе развития образуют мицелиеподобные филаменты, длинные цепочки, иногда разветвления длиной 10-50 мкм.
* Слабо окрашиваются по Граму, как правило, грам-положительные, некоторые виды кислотоустойчивые.

***Actinomyces bovis- культуральные особенности:***

* Факультативные анаэробы , капнофилы
* Растут на питательных средах в течение 1-2 недель, а на обогащённых средах, таких как кровяной агар с сердечно-мозговым экстрактом через 24-48 часов образуют субстратный мицелий , состоящий их *«паутинных микроколоний»*
* Через неделю микроколонии превращаются в колонии с неровной поверхностью, напоминающей «коренные зубы».

***Основные дифференциальные отличия бактерий рода Actinomyces***

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **Показатели** | ***Виды*** | | | | |
| **A.israelii** | **A.naeslundii** | **A.viscosus** | **A.odontolyticus** | **A.bovis** |
| **Рост в аэробных условиях** | **-** | **+** | **+** | **+** | **+** |
| **Каталаза** | **-** | **-** | **+** | **-** | **-** |
| **Уреаза** | **-** | **+** | **+** | **-** | **-** |
| **Крахмал** | **-** | **-** | **-** | **-** | **+** |
| **Арабиноза** | **±** | **-** | **-** | **-** | **?** |
| **Инозит** | **+** | **+** | **+** | **-** | **?** |
| **Ксилоза** | **+** | **-** | **-** | **-** | **±** |
| **Маннит** | **+** | **-** | **-** | **-** | **-** |
| **Манноза** | **+** | **±** | **+** | **-** | **?** |

**Экология**

* Бактерии *Actinomyces* широко распространены в окружающей среде.
* Находятся в воде, воздухе, различных предметах, телах растений, животных и человека. Основная среда обитания – почва.
* Являются представителями нормальной микрофлоры полости рта и желудочно-кишечного тракта человека и млекопитающих.

**Источник инфекции и пути передачи:**

* Различают эндогенную и экзогенную инфекцию.
* *Эндогенная инфекция* часто развивается в результате проникновения актиномицетов ротовой полости и пищеварительного тракта в окружающие ткани при травмах и хирургических вмешательствах.
* Источником *экзогенной инфекции* является почва. Возбудители обычно проникают в организм при травмах через раневую поверхность.

**Патогенез и клиника:**

* Возбудители оппортунистической инфекции.
* Чувствительность к актиномицетам у людей с нормальным иммунным статусом низкая, а у людей с иммунодефицитом высокая.
* Одним из основных факторов патогенеза является ослабление иммунитета, в особенности, защитных свойств слизистых оболочек.
* Актиномикоз это хроническая гнойно-гранулематозная инфекция. Вокруг актиномицетов, проникающих со слизистой оболочки и повреждённой кожи формируется специфическая гранулёма (***актиномикома),*** внутри которой при взаимодействии актиномицетов с элементами тканей образуются друзы («серные гранулы»).
* В зависимости от локализации различаются три основные формы заболевания – шейно-лицевая, торакальная и абдоминальная.

**Друзы.**

***Друзы-*** желтоватые, округлые образования диаметром 1 мм часто состоят из макрофагов, других тканевых клеток и актиномицетов. С периферической части друз выступают дубинкообразные расширенные эозинофильные клетки актиномицетов.

**Микробиологическая диагностика:**

* ***Материал для исследования:***

- мокрота

- ликвор

- гной

- биоптат из грануляции тканей

* ***Микроскопический метод***:

- Обнаружение друз в нативном материале

- Окраска по Граму: споры окрашиваются в тёмно-фиолоетовый, мицелии в фиолетовый, а друзы в розовый цвет.

- Окраска по Цилю-Нильсену: мицелий окрашивается в синий, а споры в красный цвет.

* ***Бактериологический метод*** – производят посев патологического материала на питательные среды (кровяной агар с сердечно-мозговым экстрактом), культивируют в капнофильных либо анаэробных условиях. Полученную культуру идентифицируют по морфобиологическим особенностям.
* В некоторых случаях ставится ***аллергическая реакция*** с актинолизатом. Положительные и резко положительные результаты имеют диагностическое значение.

- При висцеральном актиномикозе аллергическая реакция часто даёт отрицательный результат.

**Лечение**

* Чувствительны к пенициллину, тетрациклину, эритромицину и клиндамицину.
* Резистентны к антифунгальным препаратам.
* В связи с тем, что антибиотики плохо проникают в полость абсцессов и гранулём, иногда требуется *хирургическое вмешательство*.

**Нокардии**

* Бактерии рода *Nokardia* вызывают у людей заболевания нокардиозы.
* Нокардиозы часто вызываются комплексом *Nocardia asteroides* (*Nocardia farcinica, Nocardia nova, Nocardia abscessus* и др. видами), в редких случаях видами *Nocardia brasiliensis* и  *Nocardia otitidiscaviarum* и в очень редких случаях другими видами.

***Nocardia asteroides - Морфо-биологические свойства:***

***Нокардии* –** это палочковидные бактерии, обладающие сильно разветвлённым воздушным и субстратным мицелием**.** В первые часы мицелий делится на сегменты и состоит из одной клетки. Постепенно, мицелии, образуя перегородки (септы) делятся на палочковидные и кокковидные элементы**.** Они грамположительные и частично кислотоустойчивые**.**

Развивается на обычных питательных средах при температуре 28-370C в аэробных условиях. На питательных средах через несколько дней, или неделю, образуют клубочковые восковидные колонии. Синтезирует и выделяет в питательную среду пигмент от белого до розового, даже красного цвета.

* **Источник инфекции и возбудитель:**

**-** Источник инфекции почва.

*- N.asteroides,* в основном, попадает в организм воздушно-пылевым (аэрогенным) путём и вызывает хроническую инфекцию лёгких.

*- N.brasiliensis -*  заражение происходит при попадании почвы через поврежденную кожу при травмах, в результате образуются подкожные поражения.

* Лечение кортикостероидами, трансплантация органов, СПИД, туберкулёз могут способствовать развитию нокардиозов.
* К основным формам относятся нокардиозы кожи и лёгких.

*-* Наиболее распространёнными являются нокардиоз лёгких, вызванный  *Nocardia asteroides*

*-* нокардиоз кожи, вызванный *Nocardia brasiliensis* и приводящий к подкожным образованиям

**Микробиологическая диагностика :**

* **Материал для исследования:**

- мокрота

- гной

- ликвор

- биоптаты тканей

* ***Микроскопический метод –*** обнаруживаются грам-положительные коккобациллы, а также разветвлённые филаменты.
* ***Бактериологический метод -*** получение культуры возбудителя

**Лечение**

* Препарат выбора **сульфометоксазол-триметоприм (бисептол)**
* Если лечение бисептолом малоэффективно, применяют антибиотики **амикацин, имипинем, цефотаксим** и другие антибиотики.
* Поскольку некоторые антибиотики не проникают внутрь полостей абсцесса и гранулём, в некоторых случаях требуется хирургическое вмешательство.

**Возбудители актиномицетомы:**

* Актиномицетома является одним из видов мицетом и образуется при заражении, в основном, актиномицетами *Nocardia asteroides*, *Nocardia brasiliensis, Streptomyces* *somaliensis* и *Actinomadura madurae* .
* Возбудители актиномицетомы обитают в почве и на поверхности растений.
* Возбудитель проникает в организм через повреждённую кожу. Постепенно образуются папула, глубокие узлы и абсцессы.
* Деструктивный процесс распространяется на фасции, мышцы и кости. Развивается фибринозная ткань. Стопа опухает и процесс, проникая в кости, приводит к деформации стопы. Из фистул, открывающихся на поверхность кожи, выделяется гной.

**Микробиологическая диагностика и лечение:**

***Микроскопический метод*** – основан на обнаружении друз и разветвлённых актиномицетов в гное и биоптатах..

* **Лечение:**

- стрептомицин,

- комбинация сульфометоксазол-триметоприма и дапсона

- хирургическое вмешательство (ампутация поражённой конечности)