

## Занятие 7.

**Микробиологическая диагностика  
заболеваний, вызываемых коринебактериями,  
бордетеллами, гемофильными бактериями,  
гарднереллами и легионеллами**

# Обсуждаемые вопросы:

- 1. Коринебактерии. Морфобиологические особенности возбудителя дифтерии, отличительные признаки от дифтероидов, факторы патогенности, патогенез дифтерии.
  - Микробиологические методы диагностики дифтерии
  - Принципы специфического лечения и профилактики дифтерии
  - Дифтероиды и их роль в патологии человека
- 2. Бордетеллы. Морфобиологические особенности, отличительные признаки, факторы патогенности, патогенез возбудителей коклюша и коклюшеподобных заболеваний.
  - Методы микробиологической диагностики коклюша и коклюшеподобных заболеваний
  - Принципы специфического лечения и профилактики коклюша
- 3. Гемофильные бактерии, классификация. *Haemophilus influenzae*, морфобиологические особенности, серотипы, патогенез вызываемых ими заболеваний, микробиологическая диагностика
  - *Haemophilus aegypticus*, роль в патологии человека.
  - Возбудитель мягкого шанкра, морфобиологические особенности, патогенез мягкого шанкра, микробиологическая диагностика.
- 4. *Gardnerella vaginalis*, морфобиологические особенности, патогенетическая характеристика гарднереллеза, микробиологическая диагностика.
- 5. Легионеллы, классификация, морфобиологические и экологические особенности, патогенез и микробиологическая диагностика легионеллеза,

## Цель занятия:

- дать информацию о морфобиологических особенностях, бактерий родов *Corynebacterium*, *Bordetella*, *Haemophilus*, *Gardnerella* и *Legionella*, патогенезе, микробиологической диагностике, принципах специфического лечения и профилактики, вызываемых ими заболеваний.

# 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.

## *Corynebacterium diphtheriae*

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.

## *Corynebacterium diphtheriae*

*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.

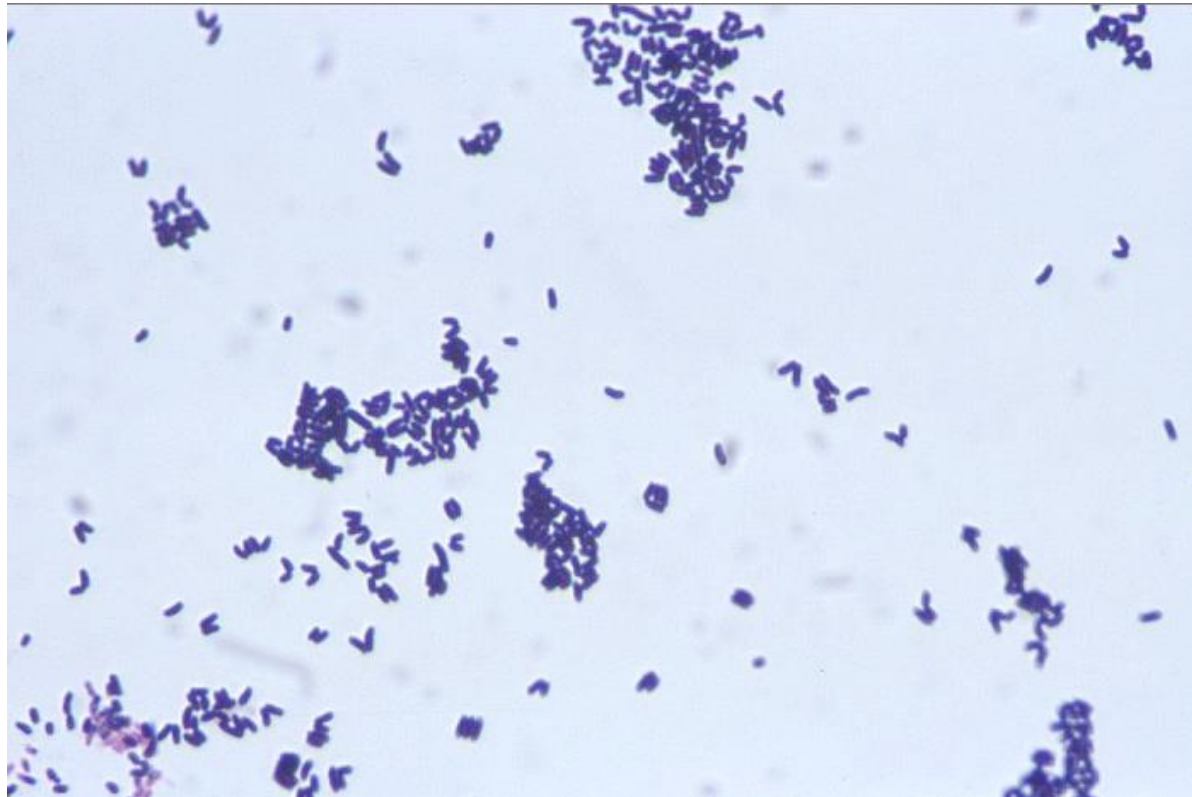
# *Corynebacterium diphtheriae*



*Волютиновые зерна (в мазках окрашенных по Нейссеру)*

# Дифтероиды

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





# *Corynebacterium diphtheriae*

- 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.



**Klauberq mühiti**

# *Corynebacterium diphtheriae*

## *культуральные свойства:*

- *Среда Клауберга* (среда с добавлением кровяной сыворотки и теллурита калия)
- *Среда Клауберга II* (кровяной теллуриновый агар)



А- биовар *gravis*

Сухие матовые серовато-черные  
R-колонии

*«цветок маргаритки»*

В-биовар *mitis*

Гладкие, блестящие, черные полупрозрачные  
S-колонии

## *Дифференциальные признаки бактерий рода Corynebacterium*

| Вид                        | Способность разлагать: |          |         |         | Восстановл<br>ение<br>нитратов |
|----------------------------|------------------------|----------|---------|---------|--------------------------------|
|                            | Цистин                 | Мочевина | Глюкоза | Крахмал |                                |
| <b>C.diphtheriae</b>       |                        |          |         |         |                                |
| <b>gravis</b>              | +                      | -        | +       | +       | +                              |
| <b>mitis</b>               | +                      | -        | +       | -       | +                              |
| <b>intermedius</b>         | +                      | -        | +       | -       | +                              |
| <b>belfanti</b>            | +                      | -        | +       | -       | -                              |
| <b>C.pseudodiphtheriae</b> | -                      | +        | -       | -       | +                              |
| <b>C.xerosis</b>           | -                      | +        | +       | -       | +                              |
| <b>C.ulcerans</b>          | -                      | +        | +       | -       | +                              |
| <b>C.jejikeum</b>          | -                      | +        | +       | -       | -                              |
| <b>C.sistidis</b>          | -                      | +        | +       | +       | -                              |
| <b>C.minutissimum</b>      | -                      | +        | +       | -       | -                              |

# *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.

# *C.diphtheriae*

- *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°C и 1 мин при 100°C. 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 ) – основной фактор патогенности

# Факторы патогенности :

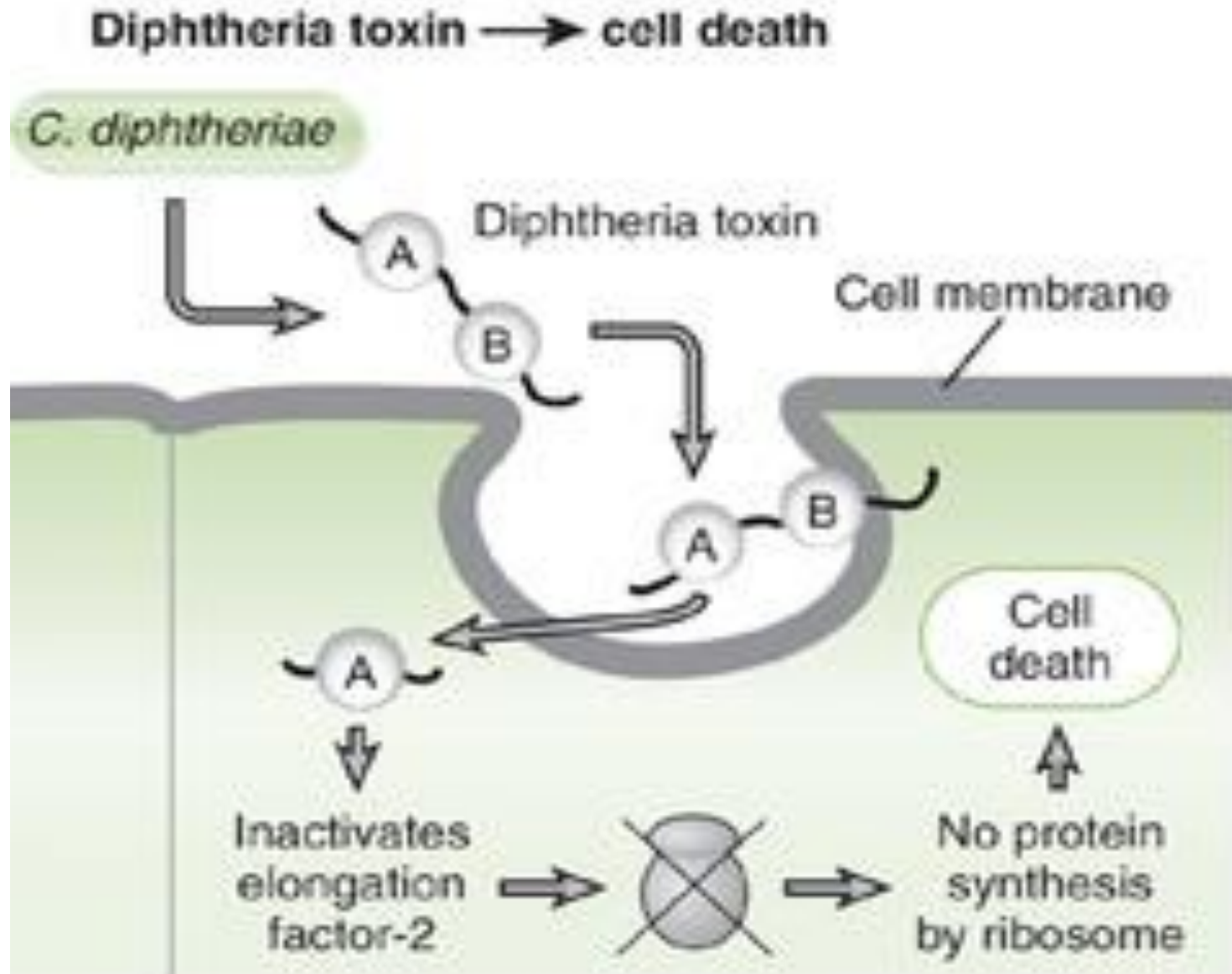
- *C. diphtheriae* имеет поверхностные структуры липидной и белковой природы, в том числе фимбрии (микрофиламенты), обеспечивающие адгезию. Поверхностные структуры обеспечивают адгезию микробов на входах инфекции, препятствуют фагоцитозу бактерий, оказывают токсическое действие на клетки макроорганизма, разрушают митохондрии.
- Ферменты агрессии и инвазии *C. diphtheriae* (гиалуронидаза, нейраминидаза, фибринолиз и дермoneкротоксин) 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).

## Факторы патогенности :

- *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.



## Механизм действия экзотоксина *C.diphtheriae* :



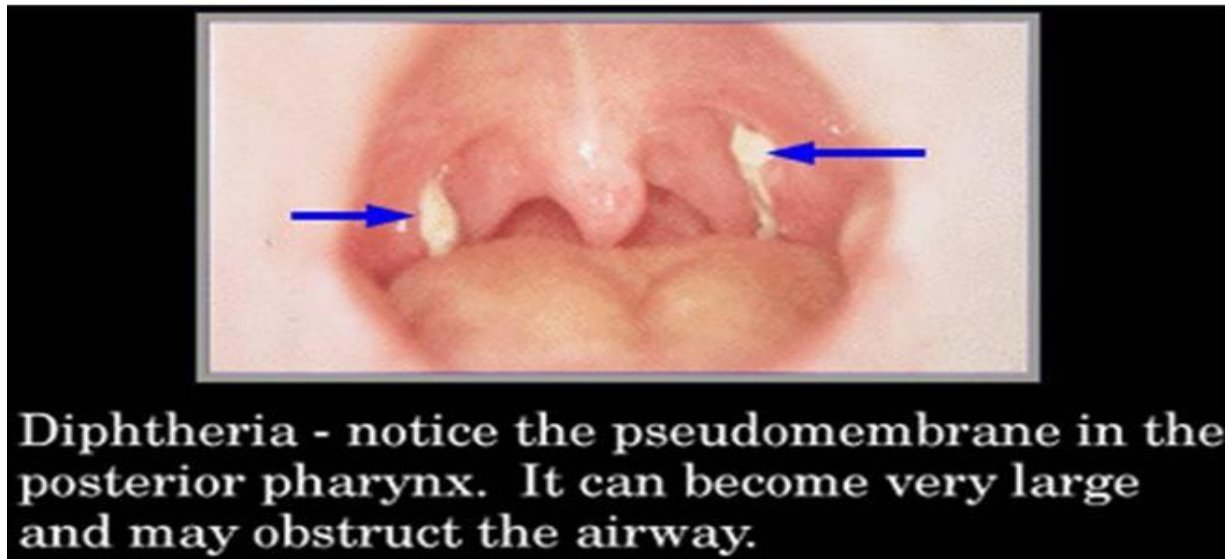
## Источник инфекции и пути заражения

- 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.



# Патогенез и клинические проявления дифтерии

- *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 анитоксический и антибактериальный иммунитет. Бывают случаи рецидива.
- Дети на грудном вскармливании не болеют дифтерией, так как обладают пассивным иммунитетом, приобретенным от матери трансплацентарным путем.
- Наличие анитоксического 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.

- **Микроскопический метод** — в мазках, окрашенных метиленовой синью или по Граму дифтерийные палочки не всегда бывают морфологически типичными (полиморфизм бактерий затрудняет идентификацию).

# *Микробиологическая диагностика*

- ***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 теллуридом.
- ***Реакция преципитации в агаре основана на способности дифтерийного экзотоксина взаимодействовать с антитоксическими антителами.***



## *Определение токсигенности C.diphtheria*

*Метод Элека* – на чашку Петри с фосфатно-пептонным агаром накладывают полоску фильтровальной бумаги пропитанной дифтерийным антитоксином, а исследуемые культуры засевают бляшками по обе стороны полосы на расстоянии 7-9 мм. Через 48 часов инкубации в результате встречной диффузии токсина и антитоксина в месте их контакта образуется линия преципитации .



*Положительный результат теста Элека*

# Микробиологическая диагностика

- **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*

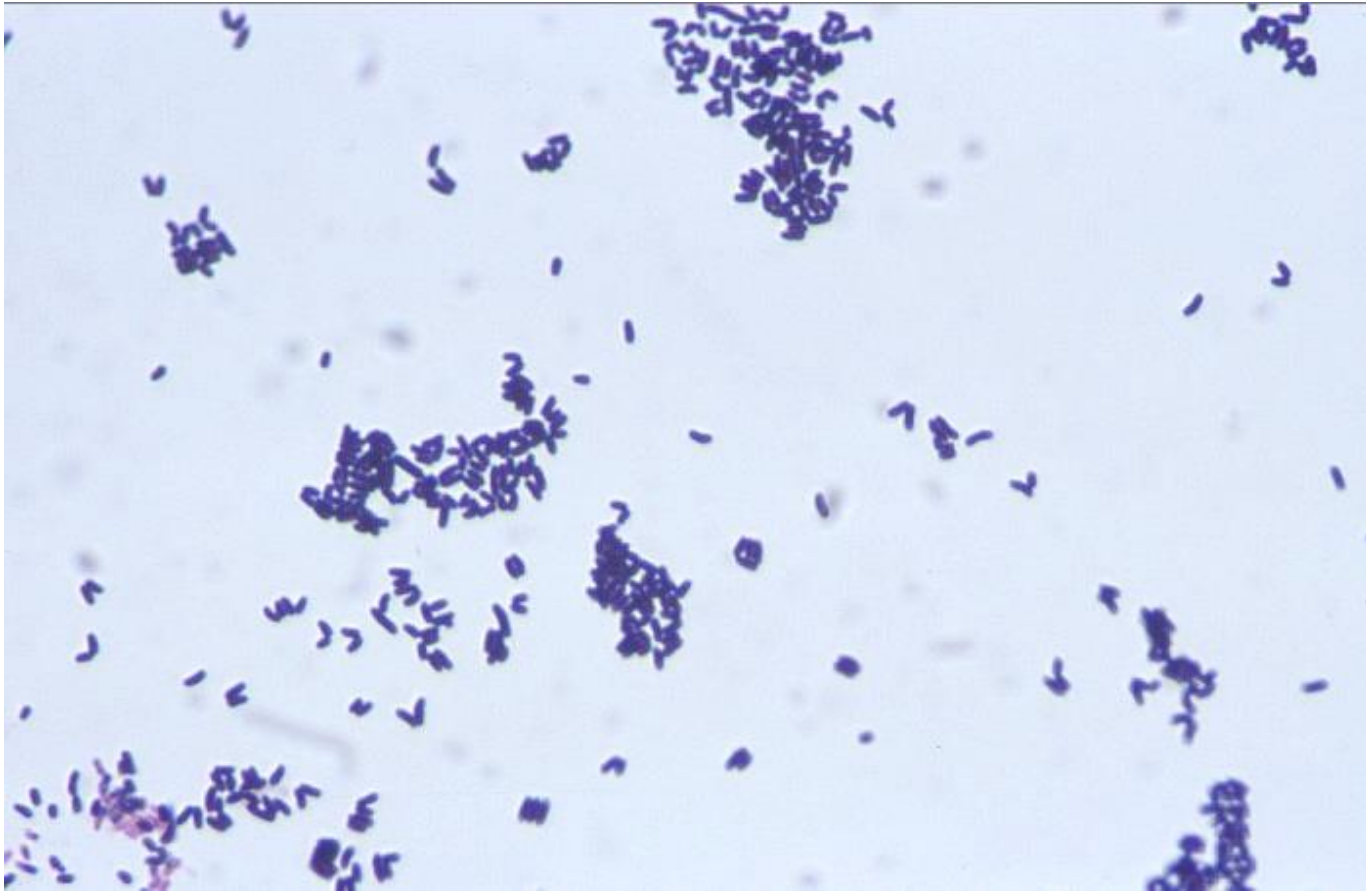
- *АКДС вакцина-* (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина )
- *АДС анатоксин* (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин)
- *АДС-М-анатоксин* (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов)
- *АД-М-анатоксин* (адсорбированный дифтерийный 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-лактамы антибиотики
  - макролиды

**Дифтероиды** – это группа условно-патогенных бактерий **рода** *Corynebacterium*, обозначаемых как коринеформные бактерии. Дифтероиды располагаются в микропрепаратах в виде равномерного частотола, зерен волютина не имеют или они располагаются на одном из полюсов.



**дифтероиды (мазок из чистой культуры)**

# Бордетеллы (Род *Bordetella* )

- Для человека патогенны *B.pertussis* и *B.parapertussis*, которые вызывают 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.bolmsei* – бактериемию у лиц со сниженным иммунитетом , *B.trematum* – отит и раневые инфекции.

## *Морфо-биологические свойства*

*B.pertussis* və  
*B.parapertussis* –

*очень мелкие*

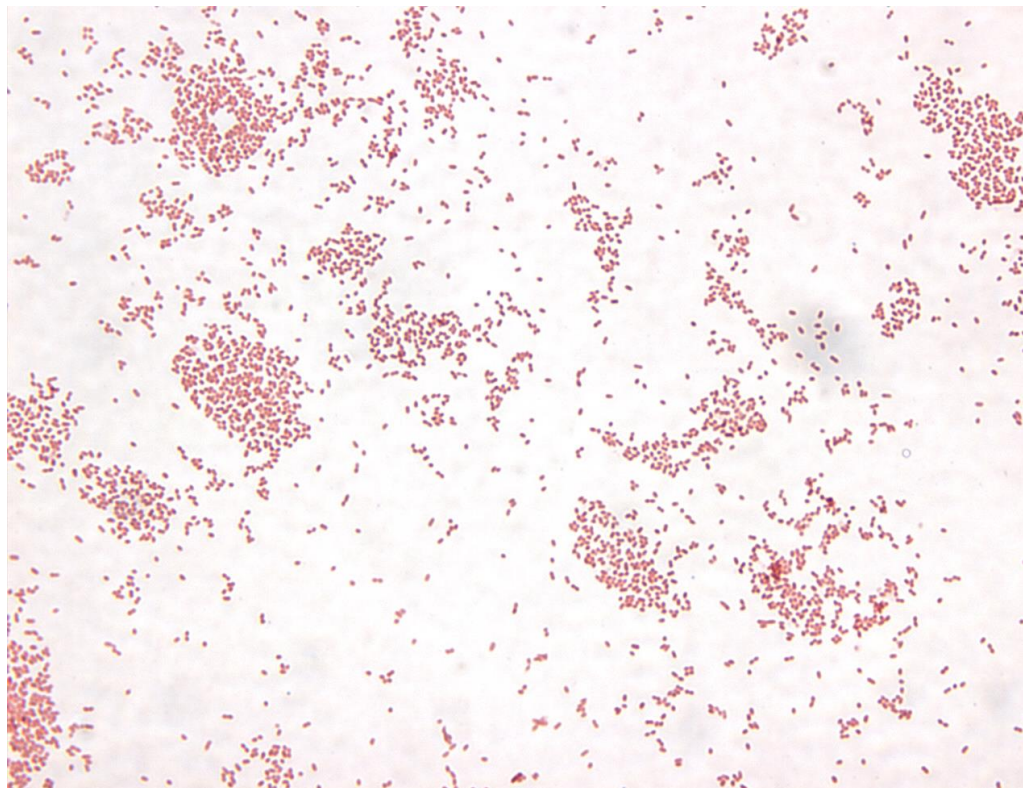
*грамотрицательные*

*коккобациллы ,*

*образующие капсулу.*

*Неподвижны ,спор не*

*образуют.*



*B.pertussis (в мазке из чистой культуры)*

## 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 35-37<sup>0</sup>С 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.



## ***Bordetella pertussis***

(мелкие сероватые блестящие колонии , напоминающие капли ртути или жемчужины на казеиново-угольном агаре)



*Колонии на казеиново-угольном агаре(КУА)*

## ***Внутривидовая дифференциация рода Bordetella***

| <b>Признаки</b>                                        | <b>B.pertussis</b> | <b>B.parapertussis</b> | <b>B.bronchiseptica</b> |
|--------------------------------------------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| Подвижность                                            | -                  | -                      | +                       |
| Рост на простых питательных средах                     | -                  | +                      | +                       |
| Пигментообразование                                    | -                  | +                      | -                       |
| Продолжительность культивирования на среде Борде-Жангу | 3-6 дней           | 2-3 дня                | 1-2 дня                 |
| Уреаза                                                 | -                  | +                      | +                       |
| Оксидаза                                               | +                  | -                      | +                       |
| Каталаза                                               | +                  | +                      | +                       |
| Восстановление нитратов                                | -                  | -                      | +                       |
| Специфический термолабильный антиген                   | +                  | -                      | -                       |
| 1-ый фактор                                            | -                  | -                      | +                       |
| 12-ый фактор                                           | -                  | +                      | -                       |
| 14-ый фактор                                           |                    |                        |                         |

# Антигенная структура:

- **Родовые антигены** — являясь термостабильным соматическим О-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:

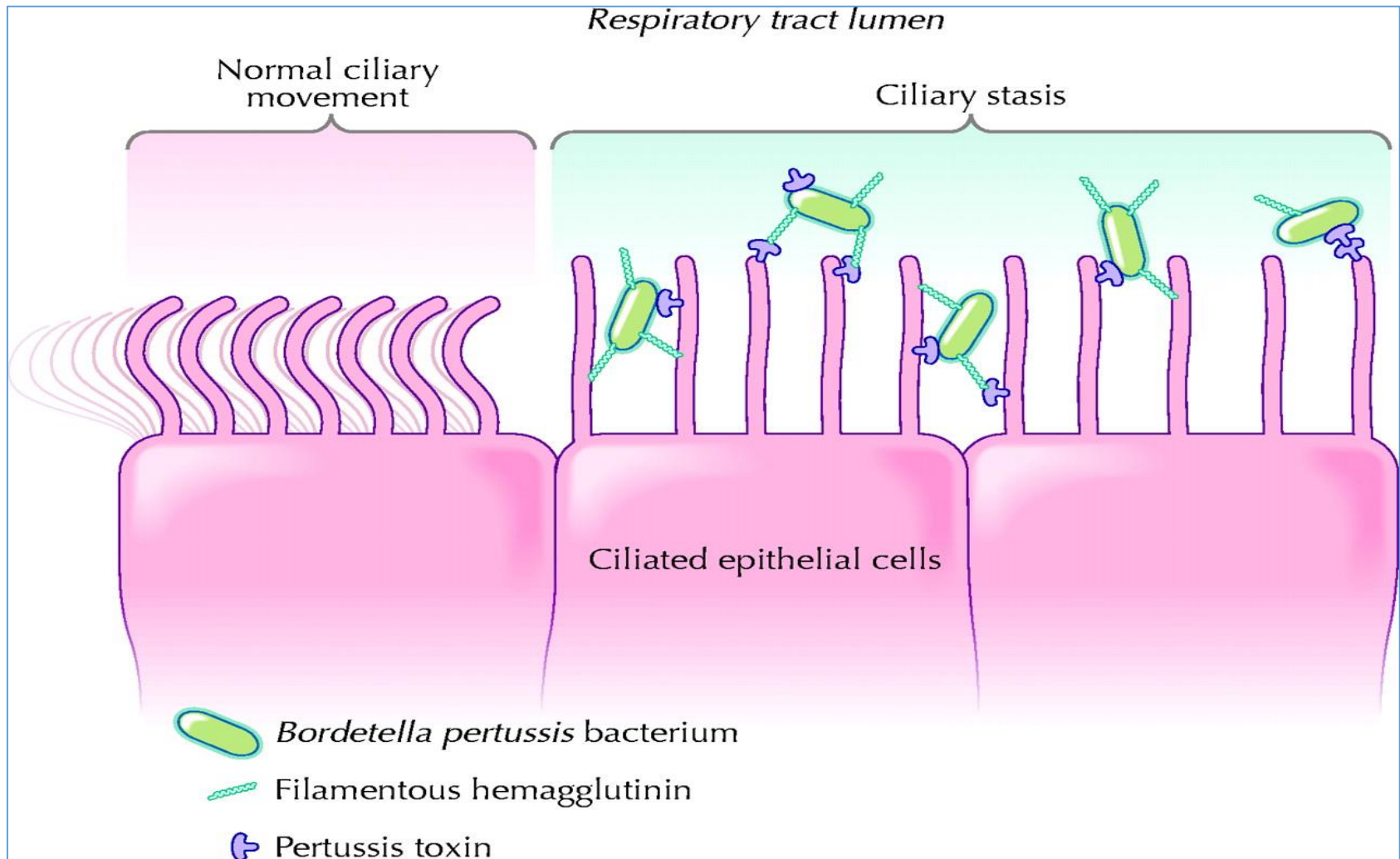
- *Вирулентные гены B.pertussis: bvgA и bvgS*
- *Факторы адгезии и* токсины играют роль в адгезии бактерий к мерцательному эпителию дыхательных путей (бронхов, трахеи)
- *Микроворсинки (пили, фимбрии)* – покрывают поверхность клеток вирулентных штаммов *B.pertussis*, являются агглютиногенами.
- *Филаментозный гемагглютинин* - белок, способный избирательно связываться с гликолипидными рецепторами ресничек эпителия трахеи и бронхов.

## Факторы патогенности:

- ***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.

# *Bordetella pertussis*

## факторы патогенности и патогенез



## Источник инфекции и пути заражения:

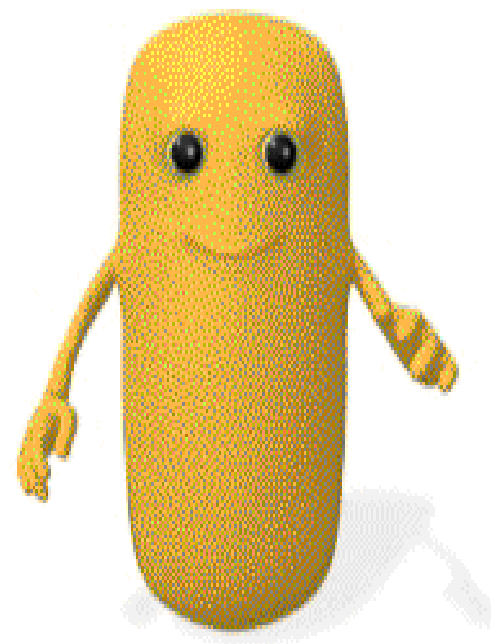
- Коклюш и коклюшеподобные заболевания относятся к антропонозным инфекциям. Источником инфекции являются больные, иногда бактерионосители. Коклюш очень заразен.
- Передается воздушно-капельным путем.

# 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.
- Пароксизмальный 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 стрidor, 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

- **АКДС 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.*
- *Антигистаминные 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 гема 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.

# Гемофильные бактерии

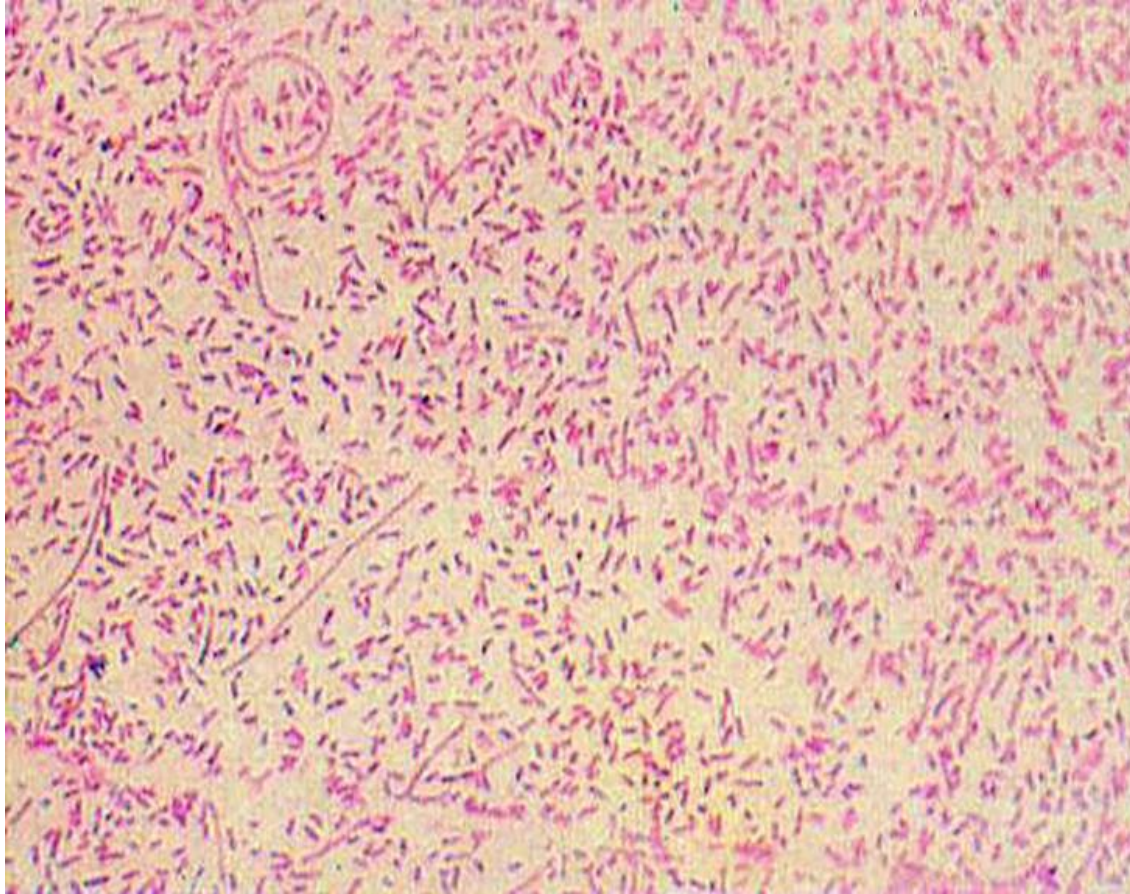
- Род *Haemophilus* принадлежит к семейству Pasteurellaceae и включает около 20 видов.
- *Haemophilus influenzae*, типичный вид рода, имеет более важное значение в патологии человека.

## *Haemophilus influenzae*

*H. influenzae* — мелкие грамотрицательные полиморфные бактерии размером 0,3–0,4х1–1,5 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.



***Haemophilus influenzae***  
(в мазке из чистой культуры)



*H. influenzae* образует на этой среде R- и S-колонии при температуре 35-37°C в течение 1-2 сут. Высоковирулентные инкапсулированные штаммы образуют слизистые, относительно крупные (3-4 мм) S-колонии, в то время как слабовирулентные неинкапсулированные штаммы образуют мелкие (1 мм), зернистые, морщинистые R-колонии.



***H.influenzae***  
(культура на шоколадном агаре)

# *Haemophilus influenzae*

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.



**Феномен “Сателлитизма”**

## *Дифференциация бактерий из рода Haemophilus*

| Виды                                  | Факторы роста |           | Гемолиз |
|---------------------------------------|---------------|-----------|---------|
|                                       | Х-фактор      | V- фактор |         |
| <b>H.Influenzae<br/>(H.aegyptius)</b> | +             | +         | -       |
| <b>H.parainfluenzae</b>               | -             | +         | -       |
| <b>H.haemolyticus</b>                 | +             | +         | +       |
| <b>H.parahaemolyticus</b>             | -             | +         | +       |
| <b>H.aphrophilus</b>                  | -             | -         | -       |
| <b>H.ducreyi</b>                      | +             | -         | -       |

# Антигенная структура

- *H. influenzae* имеет соматический О-антиген, а капсульные варианты также имеют полисахаридсодержащий К-антиген.
- В зависимости от особенностей строения капсульного антигена *H. influenzae* подразделяют на 6 серотипов (a, 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.



# Патогенез и клиника

- 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.

# Эпиглоттит



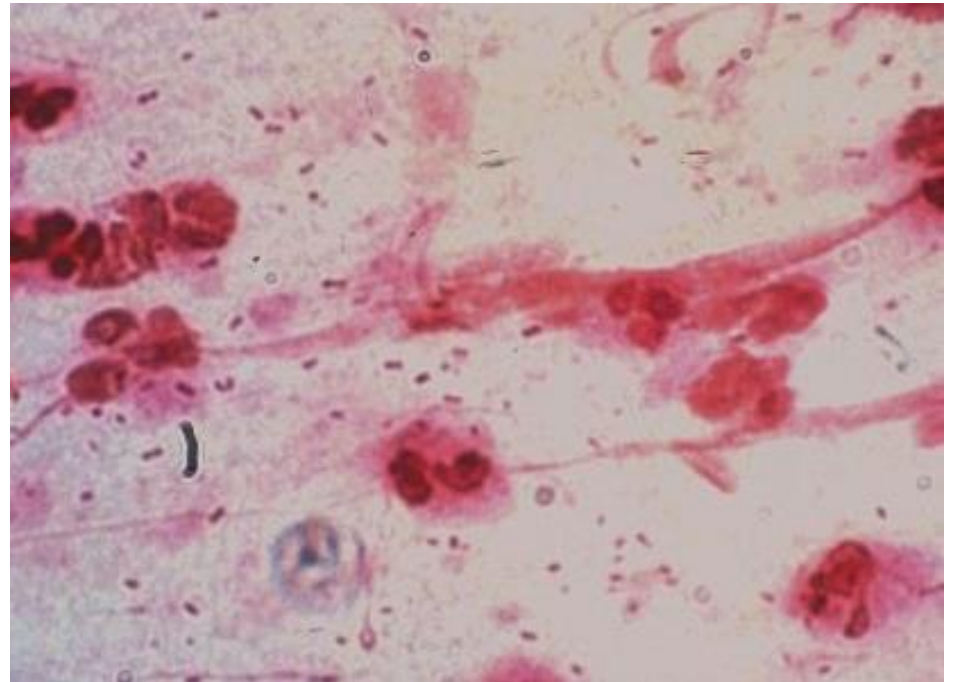
# Микробиологическая диагностика:

Материалы для исследования

- слизь из носоглотки
- кровь
- мокрота
- ликвор (при менингите)

# Микробиологическая диагностика:

- 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.



# Микробиологическая диагностика:

- 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 сателлитизма и других признаках.

## Параметры идентификации:

Не растущая на простых питательных средах,  
хорошо растущая в шоколадном агаре, слабо —  
кровяном агаре, не вызывающая маленькая грам-  
отрицательная, неподвижная, каталаза-  
позитивная полиморфная палочка  
идентифицируется как *Haemophilus influenzae*

# 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.

# Профилактика

- Вакцина, используемая для специфической профилактики заболеваний, вызванных *H. 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 aegyptius 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.

***H. aegyptius* вызывает конъюнктивит и бразильскую пурпурную лихорадку у детей.**

**H. aegyptius**



n of  
st  
care  
eye.



it,



**FIGURE 2:**  
Purpuric lesions  
and edema of  
scrotum



**FIGURE 5:** Purpuric  
medallion-like  
lesions on the lower  
limbs

# *Haemophilus aegyptius*

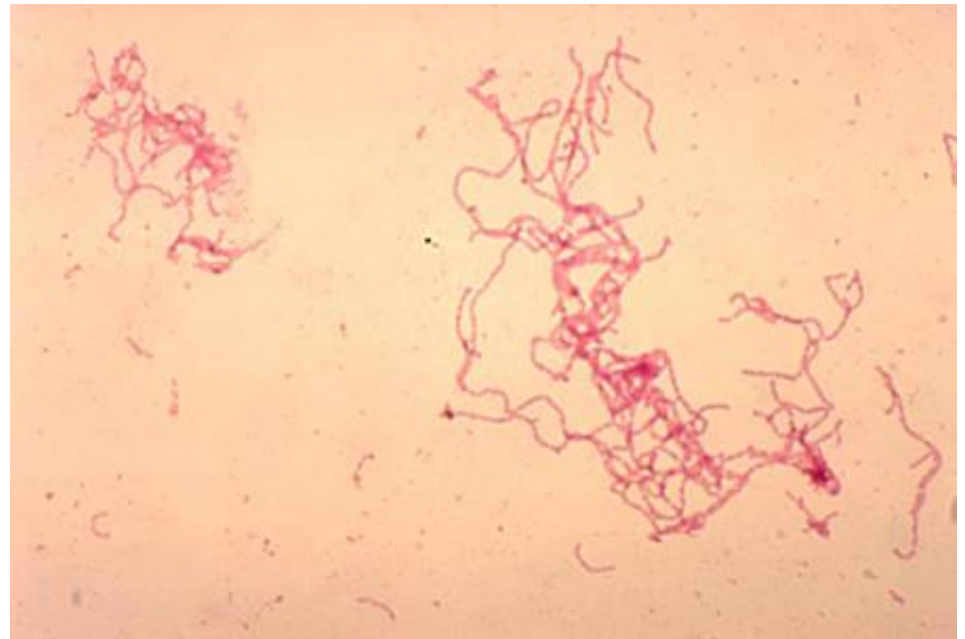
## Микробиологическая диагностика

- 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)

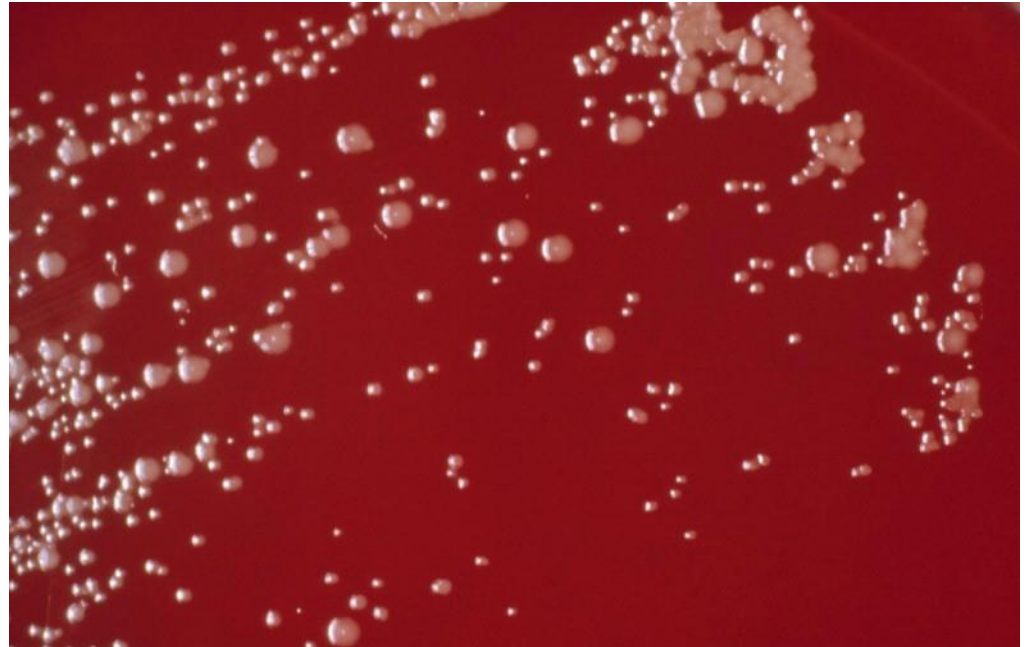
Это 0,2-2 мкм,  
овальной формы,  
неподвижные  
палочковидные  
бактерии, под  
микроскопом  
располагаются  
параллельными  
цепочками  
(«железнодорожные  
пути»), группами или  
парами



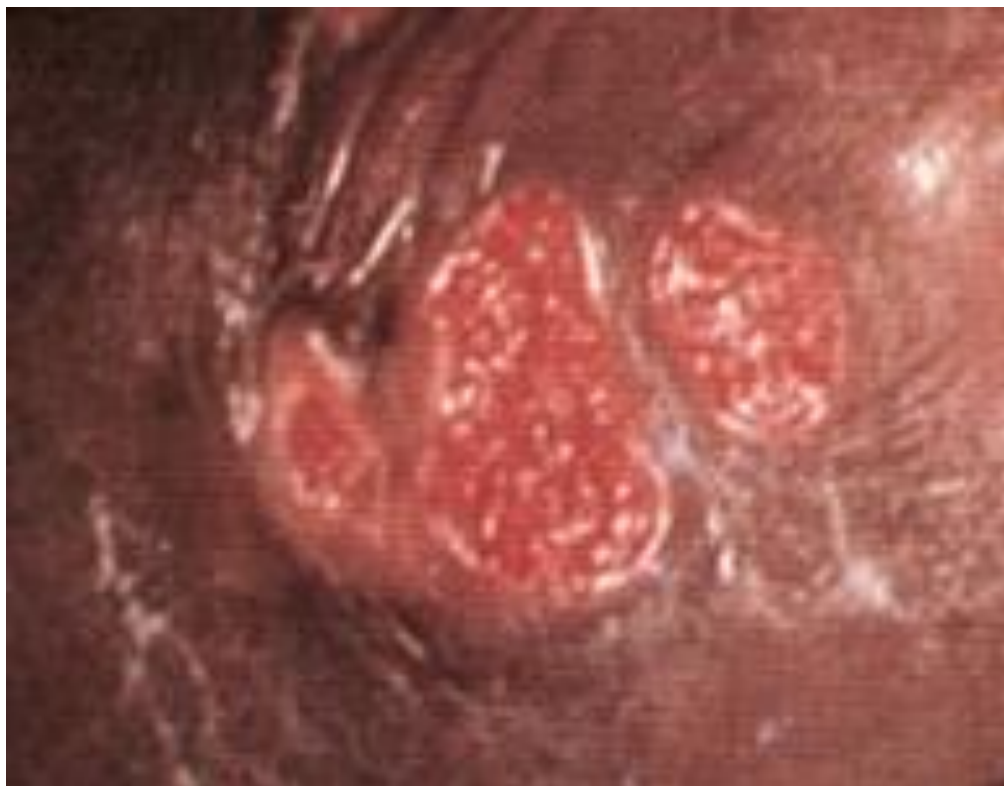
# *Haemophilus ducreyi*

(возбудитель мягкого шанкра)

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.



# Мягкий шанкр (шанкроид)





# 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.



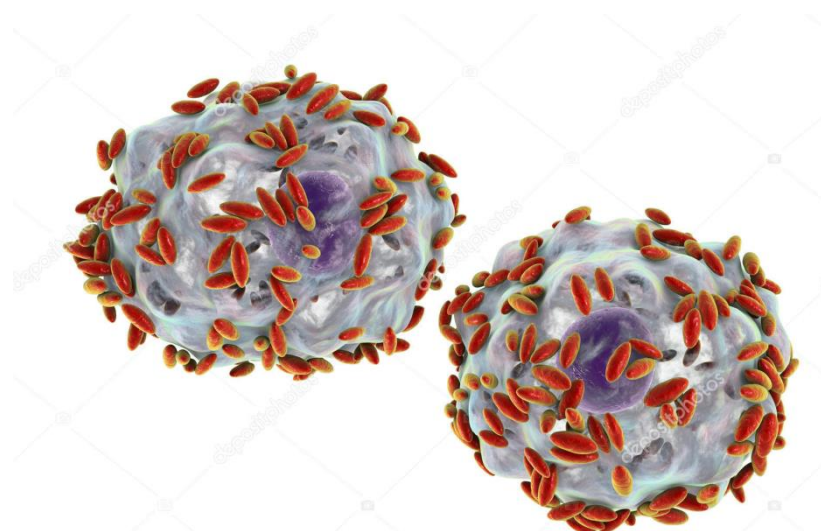
# *Gardnerella vaginalis*

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 метакроматические гранулы.

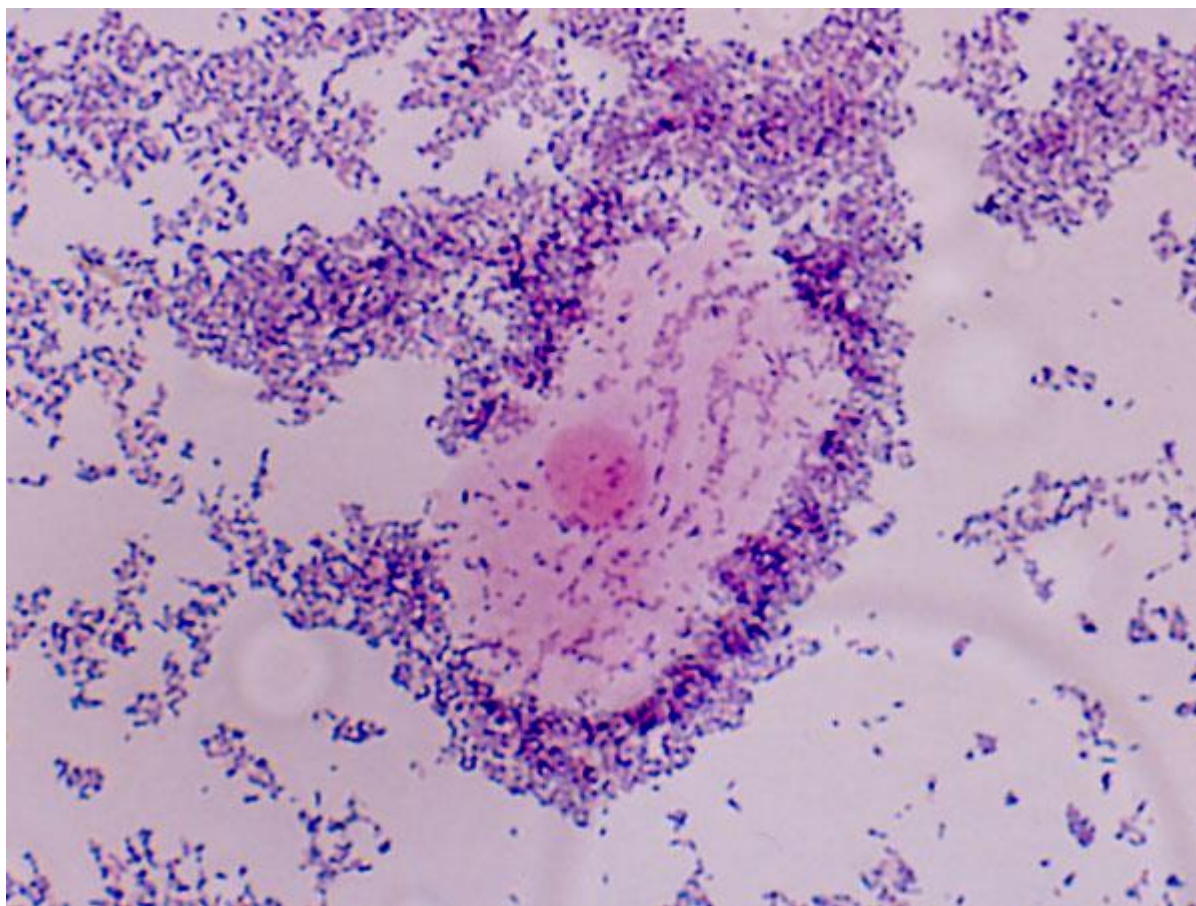
**по методу Грама окрашивается  
вариабельно**





# *Gardnerella vaginalis*

«ключевые клетки»



# *Gardnerella vaginalis*

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°C, 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  $\alpha$ - и  $\beta$ -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 pH 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*)

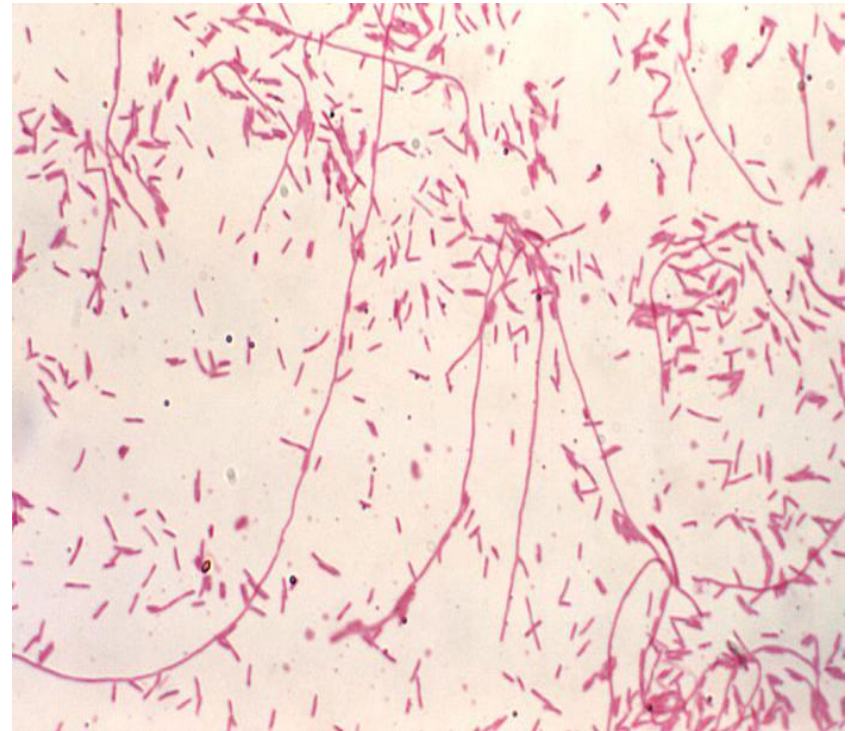
- Род *Legionella* включает более 30 видов, среди которых наибольшее значение имеют виды *L. pneumophila* и *L. micdadei*.



# Легионеллы (род *Legionella*)

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.



*L.pneumophila*  
(təmiz kulturadan hazırlanmış yaxmada)

# Легионеллы (род *Legionella*)

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.



***L.pneumophila***

(колонии в забуференном угольно-дрожжевом агаре)



## Антигенная структура

- Существует 12 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, бордетеллами, псевдомонадами и *Chlamydia psittaci*.

# Легионеллы (род *Legionella*)

- **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

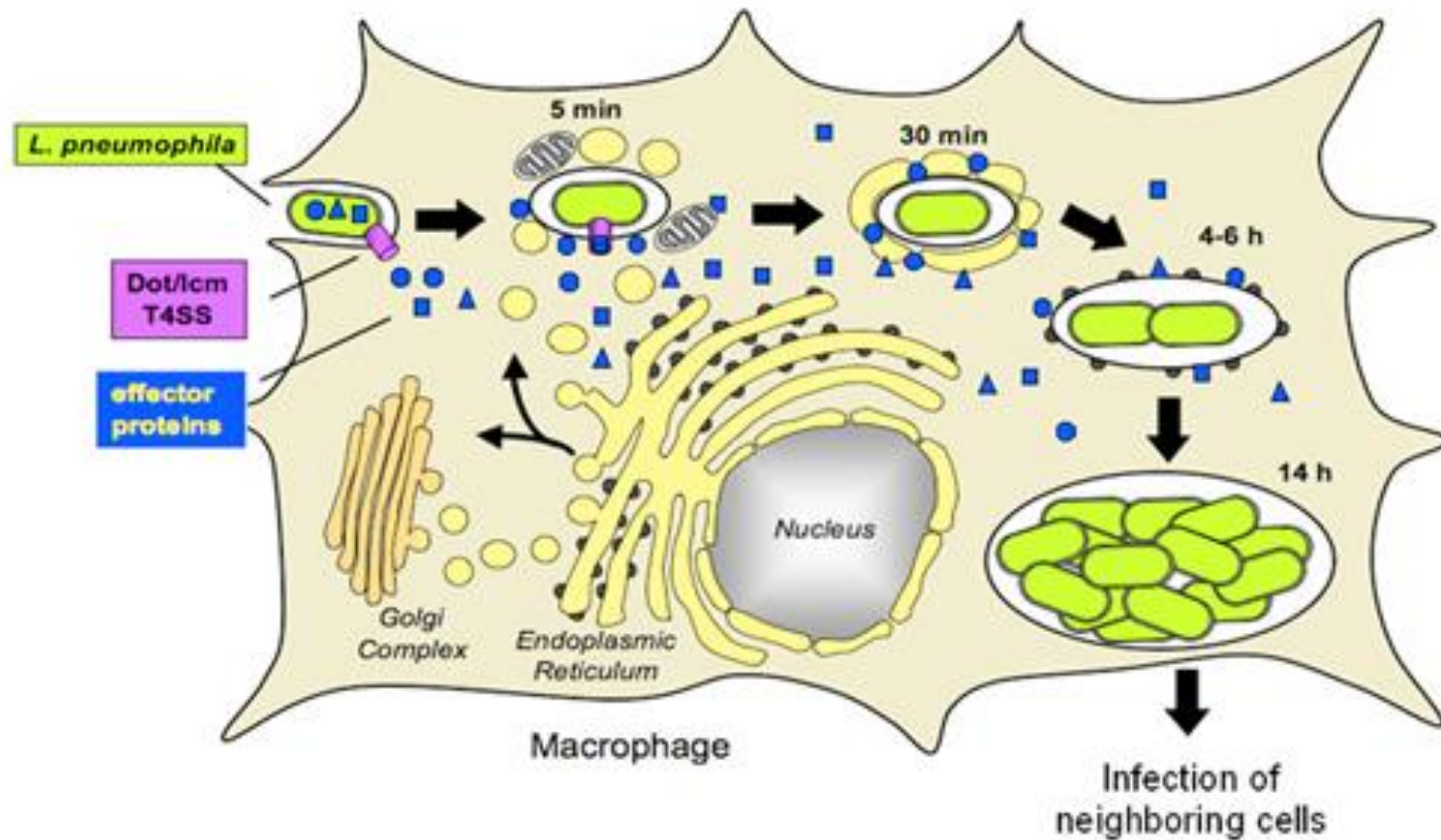
- Легионеллы секретируют протеазы, фосфатазы, липазы, ДНК-азы и РНК-азы.
- Протеазы обладают гемолитической и цитотоксической активностью.
- Как и все грамотрицательные бактерии, они обладают эндотоксином.
- Легионеллы - факультативные внутриклеточные бактерии, они легко размножаются внутри макрофагов. Взаимодействие между макрофагами и легионеллами происходит по типу спонтанного эндоцитоза. Поглощенные легионеллы не активируют микробицидную систему макрофагов, поэтому способны выживать внутри них. Кроме того, фермент каталаза защищает легионеллу от действия кислородзависимой микробицидной системы макрофагов.

# Факторы патогенности и патогенез

- 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.

# *L. pneumophila*

(устойчивость к фагоцитозу)



# 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