

Занятие 11

Микробиологическая диагностика
инфекций, грамположительными
палочками (роды *Bacillus*, *Clostridium*
Corynebacterium, *Listeria*)

Род *Bacillus*

- *Bacillus anthracis*
- *Bacillus cereus*
- *Bacillus subtilis*

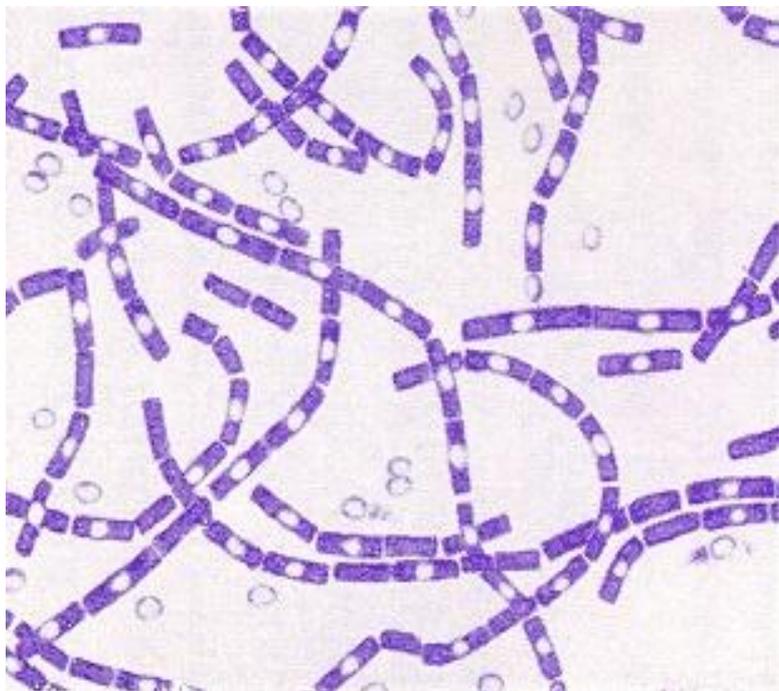
Морфо-биологические свойства :

B.anthraxis — очень крупные неподвижные грамположительные палочки с обрубленными концами размером 1х3-4 мкм , в мазке располагаются в виде длинных цепочек (стрептобациллы). Образуют расположенные центрально споры .

Род *Bacillus*

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

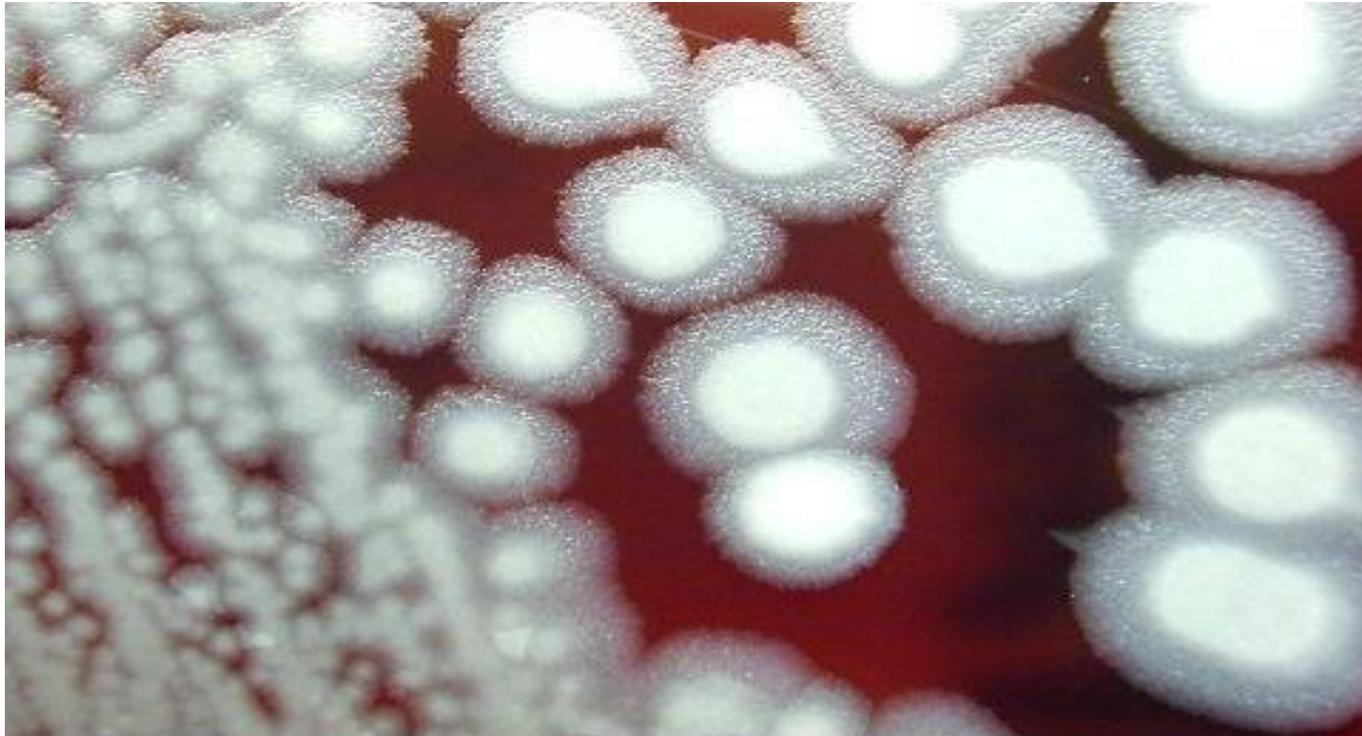
Bacillus anthracis – возбудитель сибирской язвы



в мазке, окрашенном по Граму

Культуральные свойства:

Аэроб , или факультативный анаэроб . Хорошо растет на обычных питательных средах . На твердых питательных средах образует шероховатые с неровными краями R-колонии. Под лупой колонии напоминают *«львиную гриву»*, или *«голову медузы»*.



(колонии на кровяном агаре)

Дифференциация бактерий рода Bacillus :

Признак	B.anthraxis	B.cereus	B.subtilis	B.mesentericus	B.megaterium
Капсула	+	-	-	-	-
Подвижность	-	+	+	+	+
Гемолиз	-	+	-	±	-
Патогенность	+	-	-	-	-

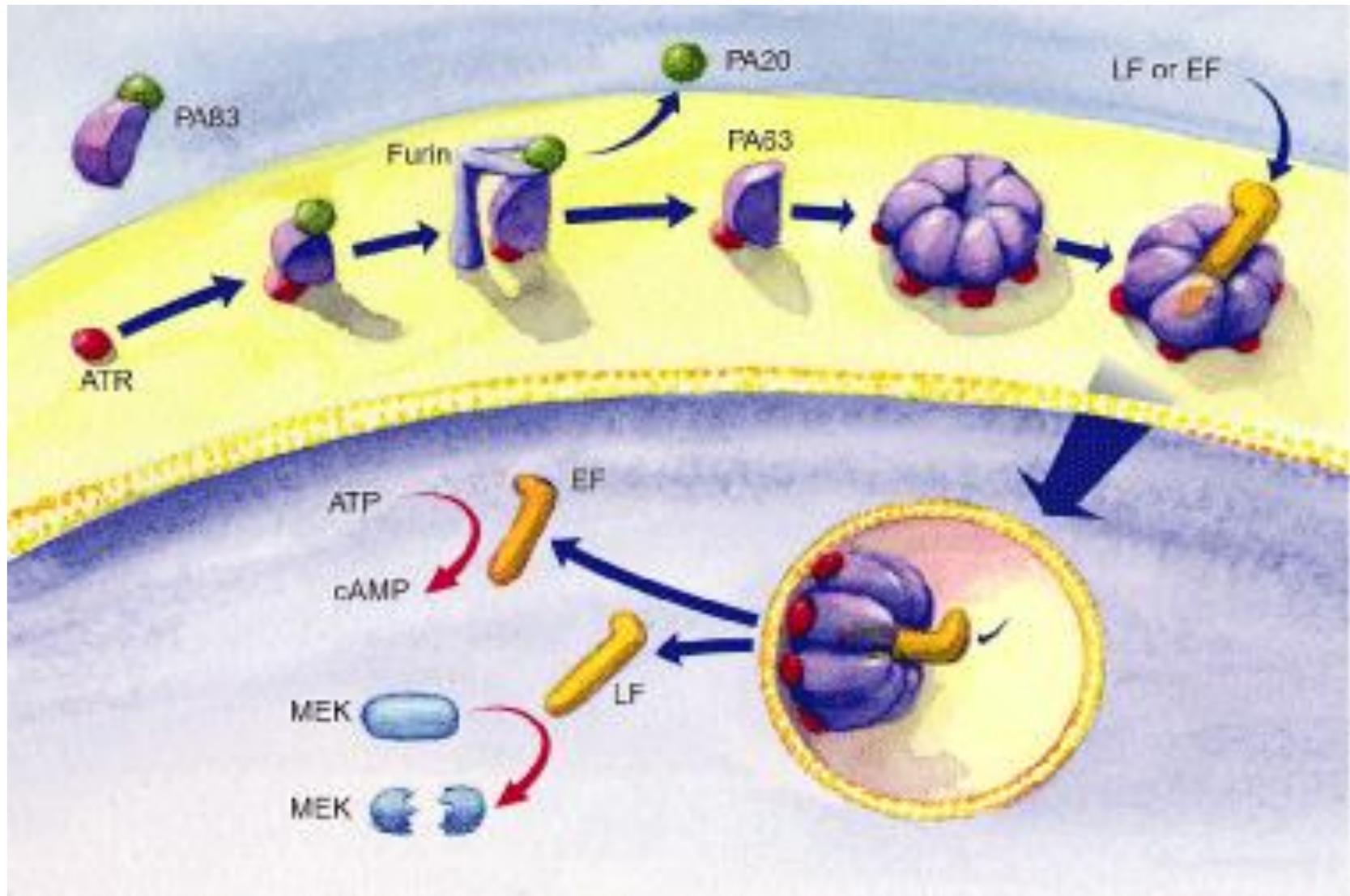
Антигенные свойства

- Содержит термостабильный полисахаридный соматический антиген , состоящий из D-галактозы и N-ацетилглюкозамина клеточной стенки . Против этого антигена антитела не обладают протективным действием. Он длительно сохраняется в культурах и трупном материале . На обнаружении его основана реакция термопреципитации по Асколи .
- *Капсульный антиген* белкового происхождения, представлен полипептидом, в состав которого входит D-глутаминовая кислота. Антитела к капсульным антигенам не обладают протективным действием.

Факторы патогенности :

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

Механизм действия токсина V.anthraxis



Источник инфекции и пути передачи

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

Патогенез и клинические проявления сибирской язвы:

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

Клинические формы сибирской язвы:

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

Карбункул сибирской язвы



Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

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

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- *Микроскопический метод.* В мазках , приготовленных из содержимого карбункула и крови мертвых животных, окрашенных по Граму обнаруживают крупные грамположительные бациллы , расположенные цепочками.
- Люминесцентная микроскопия применяется для выявления сибиреязвенных бацилл в мазке , обработанных люминесцентной сывороткой .
- *Бактериологический метод.* Проводят посев исследуемого материала на простые питательные среды для выделения чистой культуры с последующей ее идентификацией .

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- ***Биологическая проба*** – пробы с исследуемым материалом или выделенной чистой культурой ставят на белых мышах и морских свинках в целях обнаружения возбудителя.
- ***Серологический метод*** – для выявления специфических антител в сыворотке крови больного используют реакцию латекс агглютинации и РПГА. В последнее время для определения антител к летальному токсину и фактору, вызывающему отек используют РИФ.
- ***Кожные аллергические пробы с антраксином.***

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- Ставят реакцию термопреципитации по Асколи на наличие в исследуемом материале (шкуры , органы павшего животного , разложившийся или мумифицированный труп животного, кожа и изделия из нее) сибирезвенового термостабильного полисахаридного антигена.

Профилактика включает неспецифические профилактические мероприятия

- *Неспецифические профилактические мероприятия* сводятся к санитарно-ветеринарным мероприятиям .
- Изоляция больных и подозрительных животных, санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья, обеззараживание мест содержания больных животных и др. мероприятия.

Специфическая профилактика:

- В США и Англии производят бесклеточную вакцину из авирулентных штаммов возбудителя, адсорбированных на гидроксиде алюминия. В состав вакцины входят все компоненты токсина возбудителя сибирской язвы.
- Иммунизацию проводят по эпидемическим показаниям лицам группы высокого риска 3 раза через каждые две недели. Затем проводят ревакцинацию через 6, 12 и 18 месяцев. Далее проводят иммунизацию раз в год.

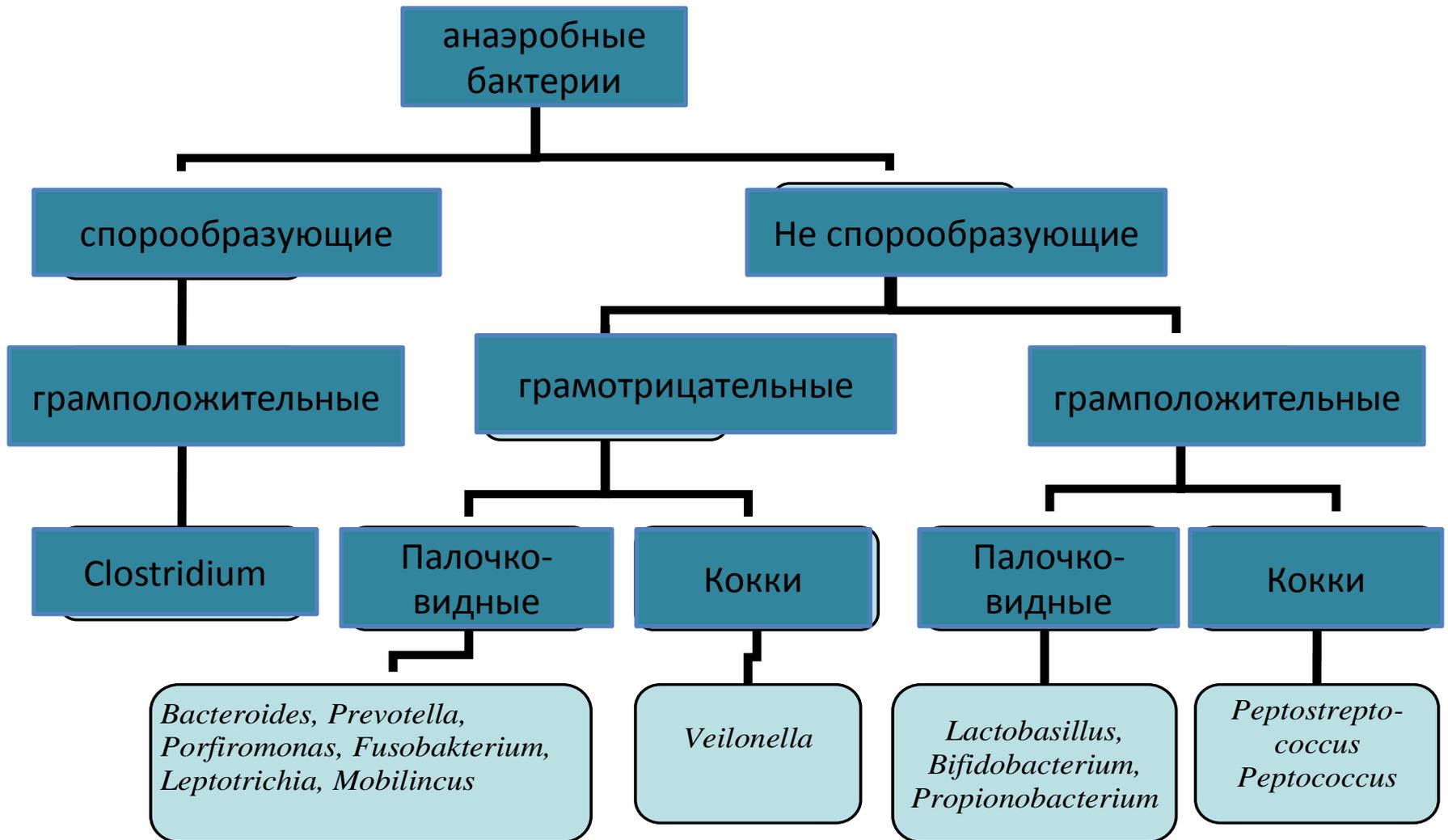
Химическая профилактика:

- Наряду с вакцинацией проводится химическая профилактика с целью предотвращения массового заражения и применением ципрофлоксацина или доксициклина в течение 4 недель .
- Химическая профилактика проводится невакцинированным лицам в течение 8 недель.

Лечение

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

Классификация анаэробных бактерий

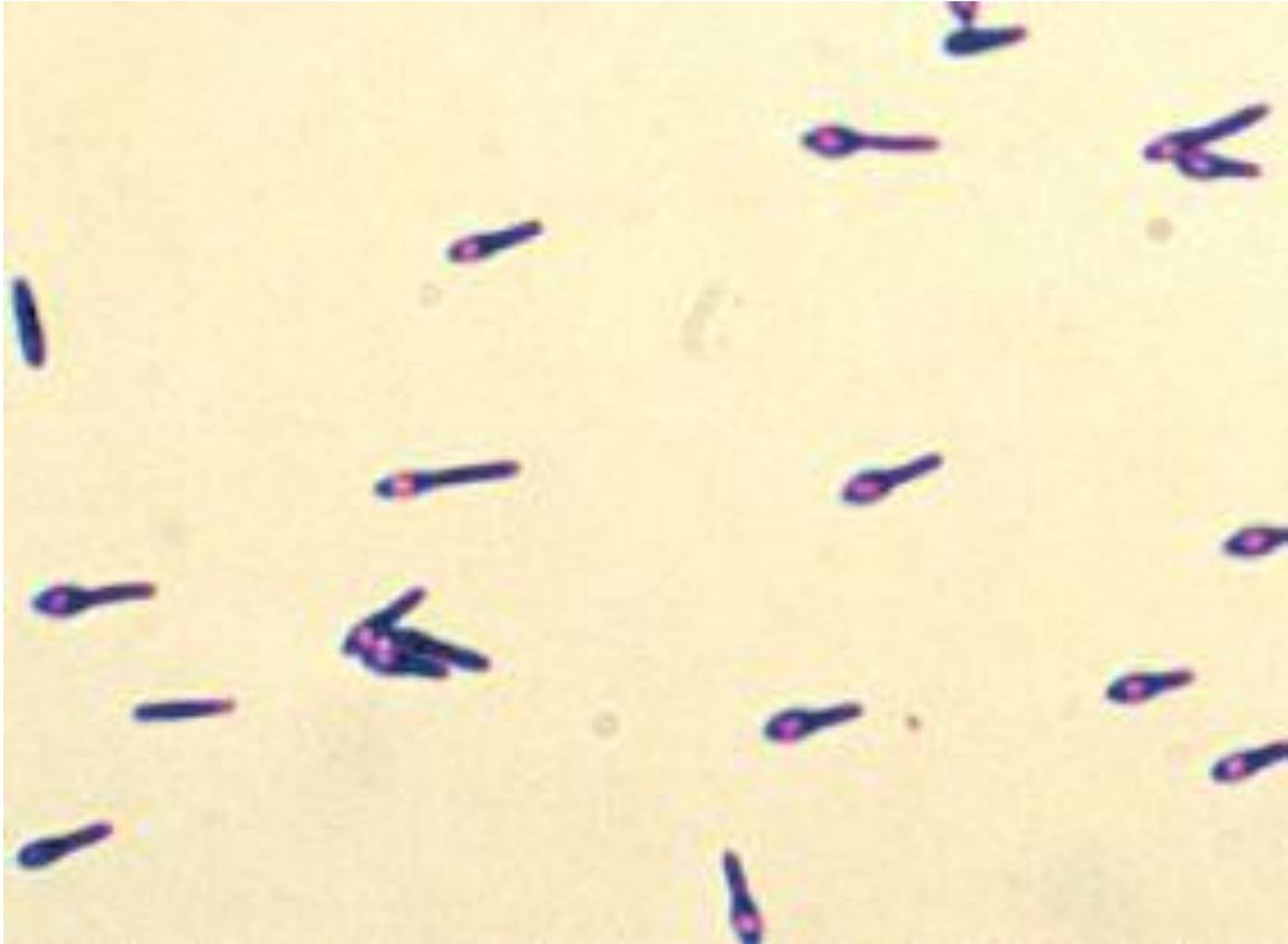


Clostridium botulinum

Морфо-биологические свойства:

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

Clostridium botulinum

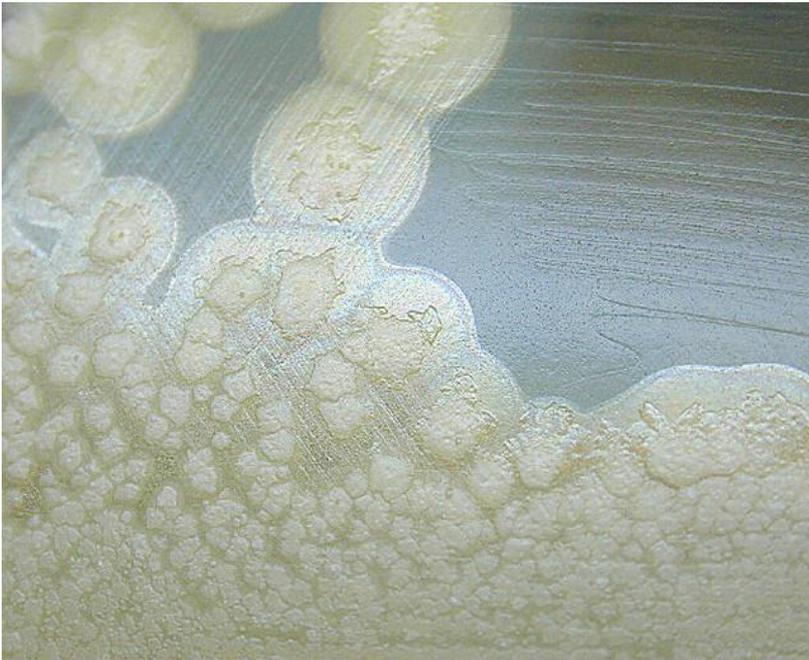


Морфо-биологические свойства

Облигатные анаэробы. На кровяном агаре с глюкозой образуют колонии неправильной формы с нитевидными ответвлениями и зоной гемолиза. На кровяном агаре образуют S-колонии в виде капелек росы, или R-колонии с неровными краями. На жидких средах (среда Китта-Тароцци, печеночный бульон) вызывают помутнение среды и газообразование.

Биохимически активны: ферментируют углеводы до кислоты и газа, сбраживают молоко, образуют желатиназу, лецитиназу, сероводород и аммиак.

КОЛОНИИ
Clostridium botulinum



Антигенная структура

Серологическая идентификация *C.botulinum* основана на выявлении продуцируемого ими экзотоксина, по их антигенной структуре бактерии разделяют на 8 сероваров: А, В, С1, С2, D, Е, F и G .

Экология, источник инфекции и пути передачи:

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

Употребление в пищу консервированных мясных, рыбных и овощных продуктов представляют наибольшую опасность ботулизма !



Факторы патогенности:

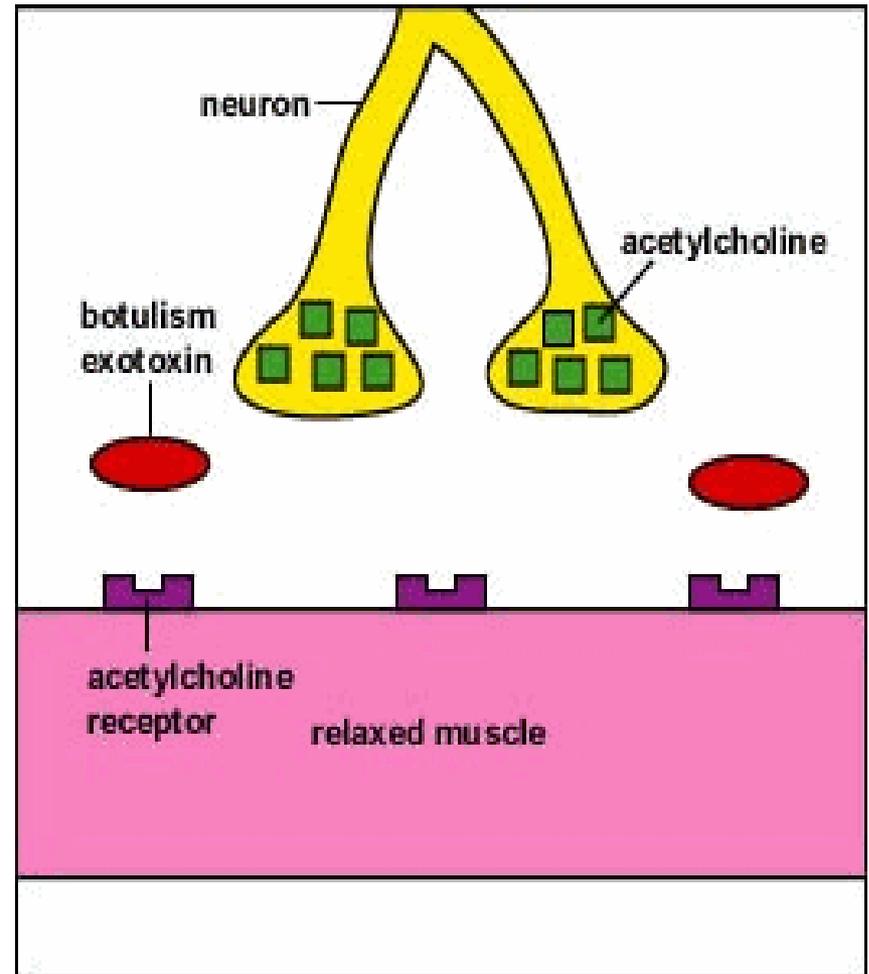
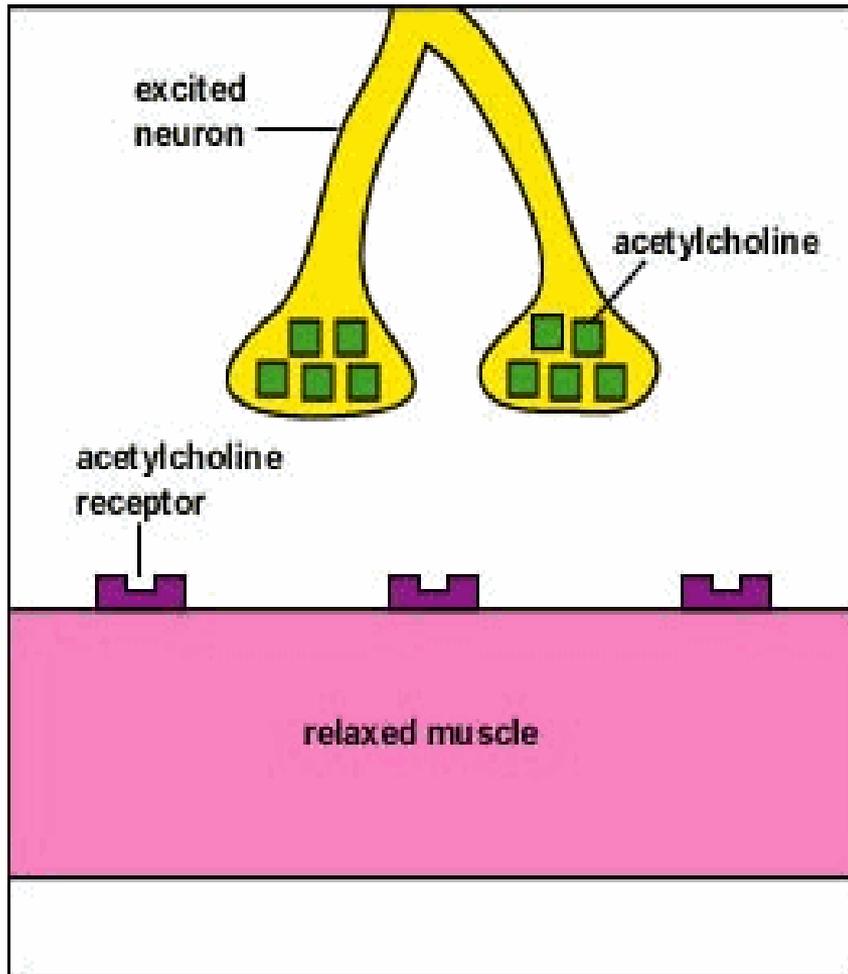
- *C.botulinium* в процессе размножения или при аутолизе вырабатывают экзотоксин – ботулотоксин.

Ботулотоксин – белок с молекулярной массой 150 кДа состоит из двух связанных дисульфидной связью белковых субъединиц (тяжелой и легкой цепи). Токсин термолабилен, для полной инактивации необходимо кипячение в течение 20 минут.

Действие ботулотоксина

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

Механизм действия ботулотоксина



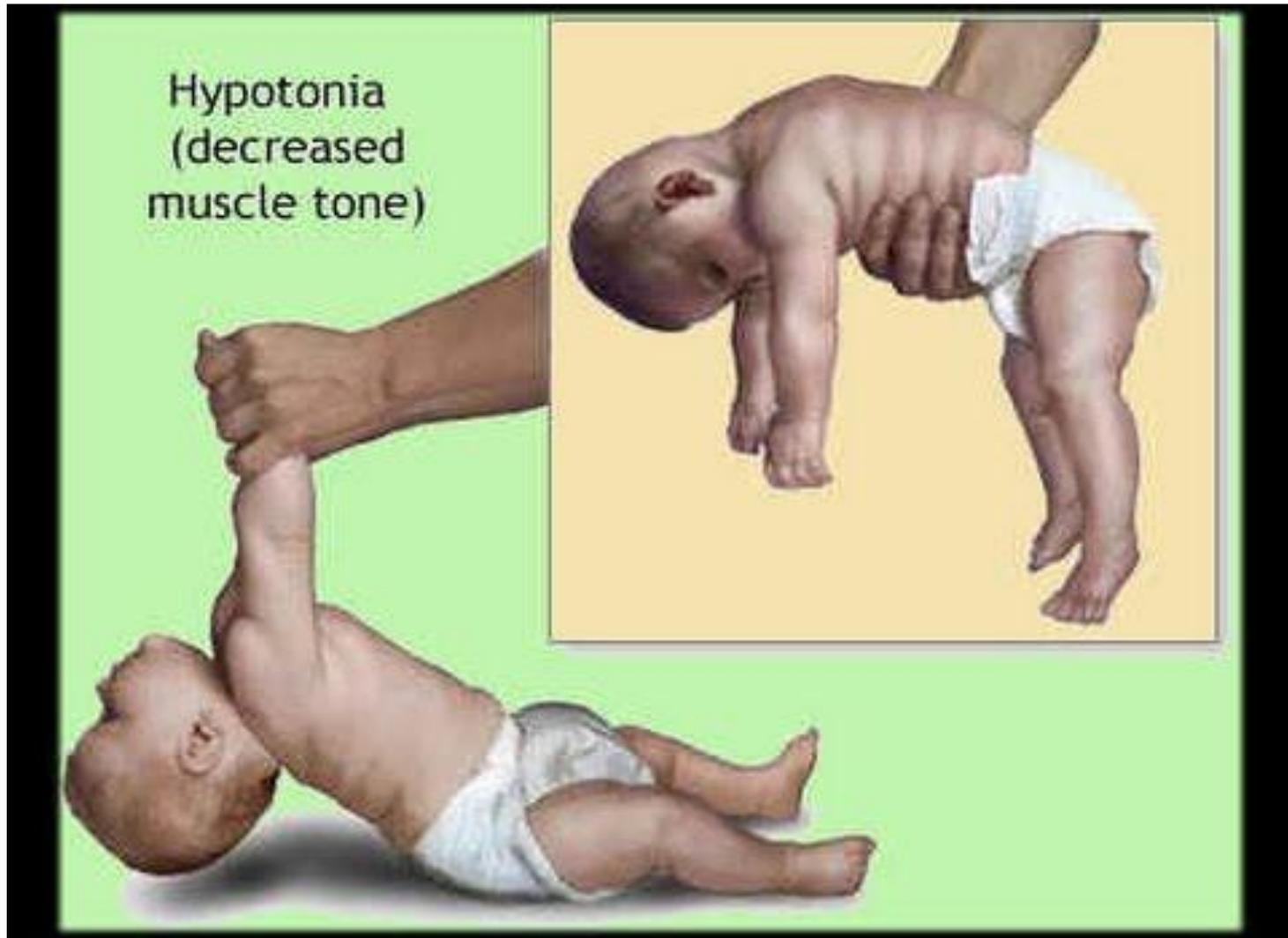
Клинические проявления ботулизма

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



Опущение век - птоз

Ботулизм у младенцев



Микробиологическая диагностика:

- Исследованию подлежат остатки пищевых продуктов, рвотные массы, промывные воды желудка, испражнения, моча, кровь, секционный материал.
- **Биологическая проба** - проводится для обнаружения токсина на белых мышах или морских свинках

Реакция нейтрализации – определение ботулотоксина и его типа: белым мышам вводят смесь исследуемого материала с диагностической антитоксической сывороткой типов А, В, Е и F.

- **Реакция пассивной гемагглютинации, радиоиммунный метод** - позволяют определить ботулотоксин в исследуемом материале.
- **Выделение культуры возбудителя** – проводят для уточнения диагноза ботулизма у младенцев при помощи бактериологического метода исследования испражнений.

Лечение:

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

Профилактика

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

Морфо-биологические свойства *Clostridium tetani*

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

Clostridium tetani

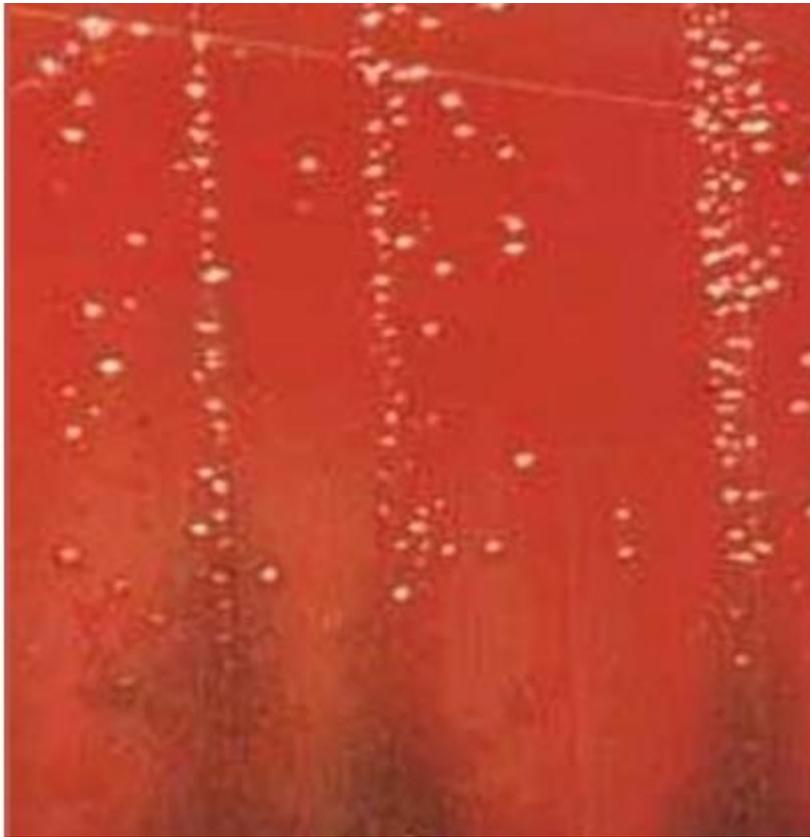


Морфо – биологические свойства

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

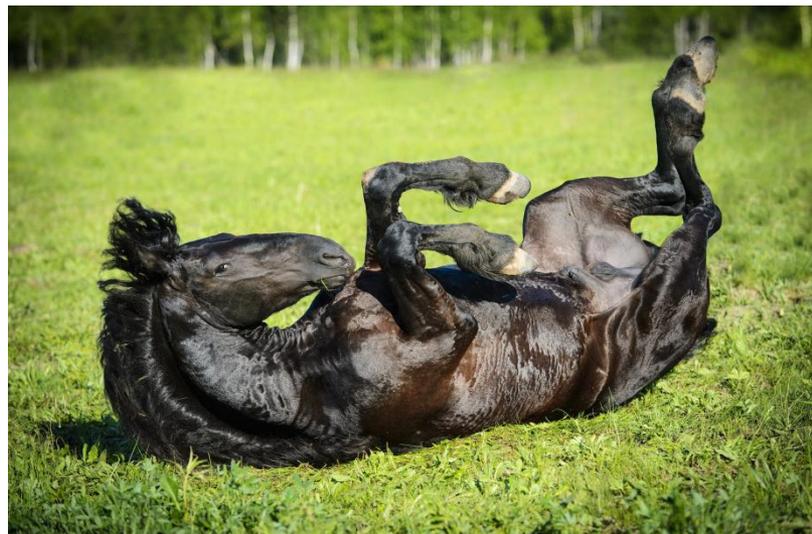
Обладают слабой биохимической активностью. Не ферментируют углеводы, проявляют слабые протеолитические свойства. Медленно свертывают молоко и разжижают желатин.

колонию *Clostridium tetani* на кровяном агаре



Чувствительность животных к столбняку

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



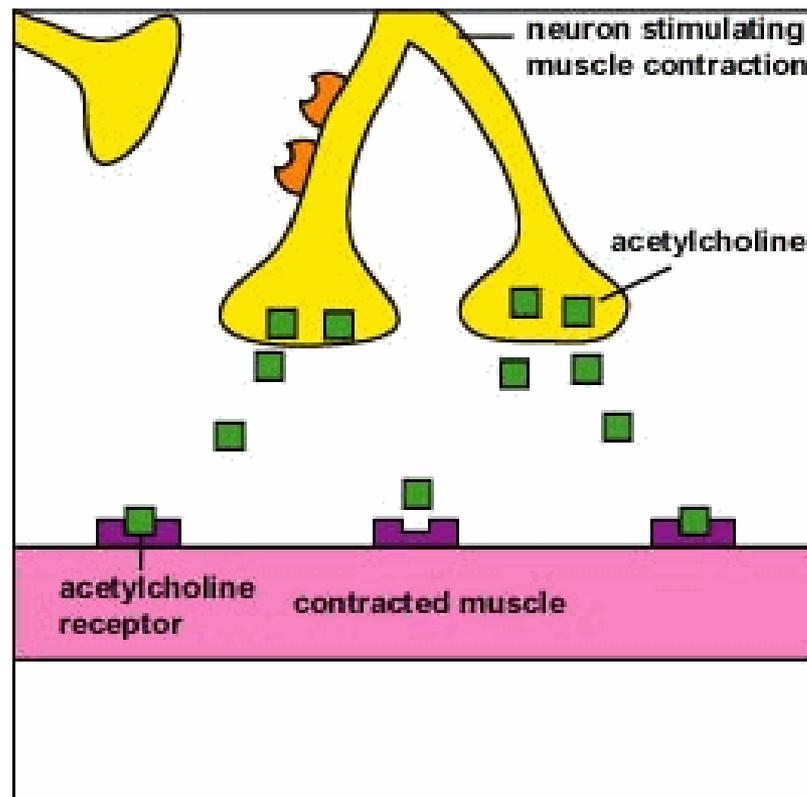
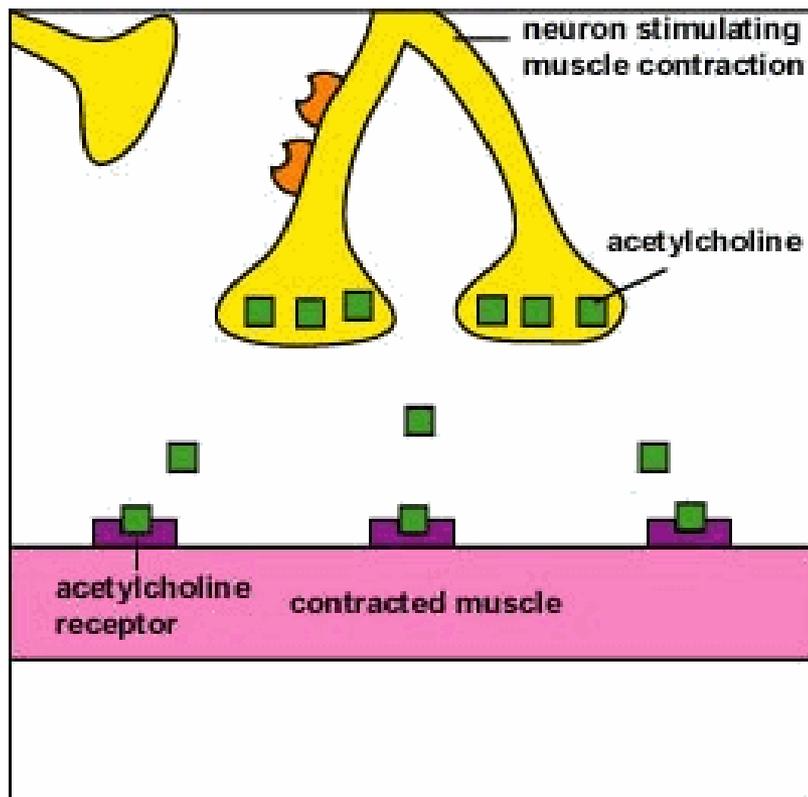
Источник инфекции и пути передачи

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

Факторы патогенности и патогенез

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

Механизм действия тетаноспазмина



Клинические проявления столбняка:



Иммунитет

- Поскольку токсигенная доза столбнячного токсина во много раз ниже дозы иммуногенной, иммунитет не формируется и отмечаются повторные случаи заболевания .

Микробиологическая диагностика:

При столбняке обычно микробиологическая диагностика не проводится в виду выраженной картины болезни.

- С другой стороны, не всегда удастся обнаружить возбудителя на месте входных ворот инфекции .
- Большое значение в выявлении входных ворот инфекции имеют анамнестические данные.

Лечение

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

Специфическая профилактика

- Для создания искусственного активного иммунитета применяют столбнячный анатоксин (токсоид), сорбированный на гидроокиси алюминия в составе вакцин АКДС, АДС или секстанатоксин. .

Специфическая профилактика

- Экстренная профилактика проводится при травмах, ожогах и обморожениях, укусах животных, при внебольничных абортах путем введения столбнячного анатоксина. Не привитым вместе со столбнячным анатоксином вводят противостолбнячную сыворотку.

Возбудители газовой гангрены

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

Прочие возбудители газовой гангрены:

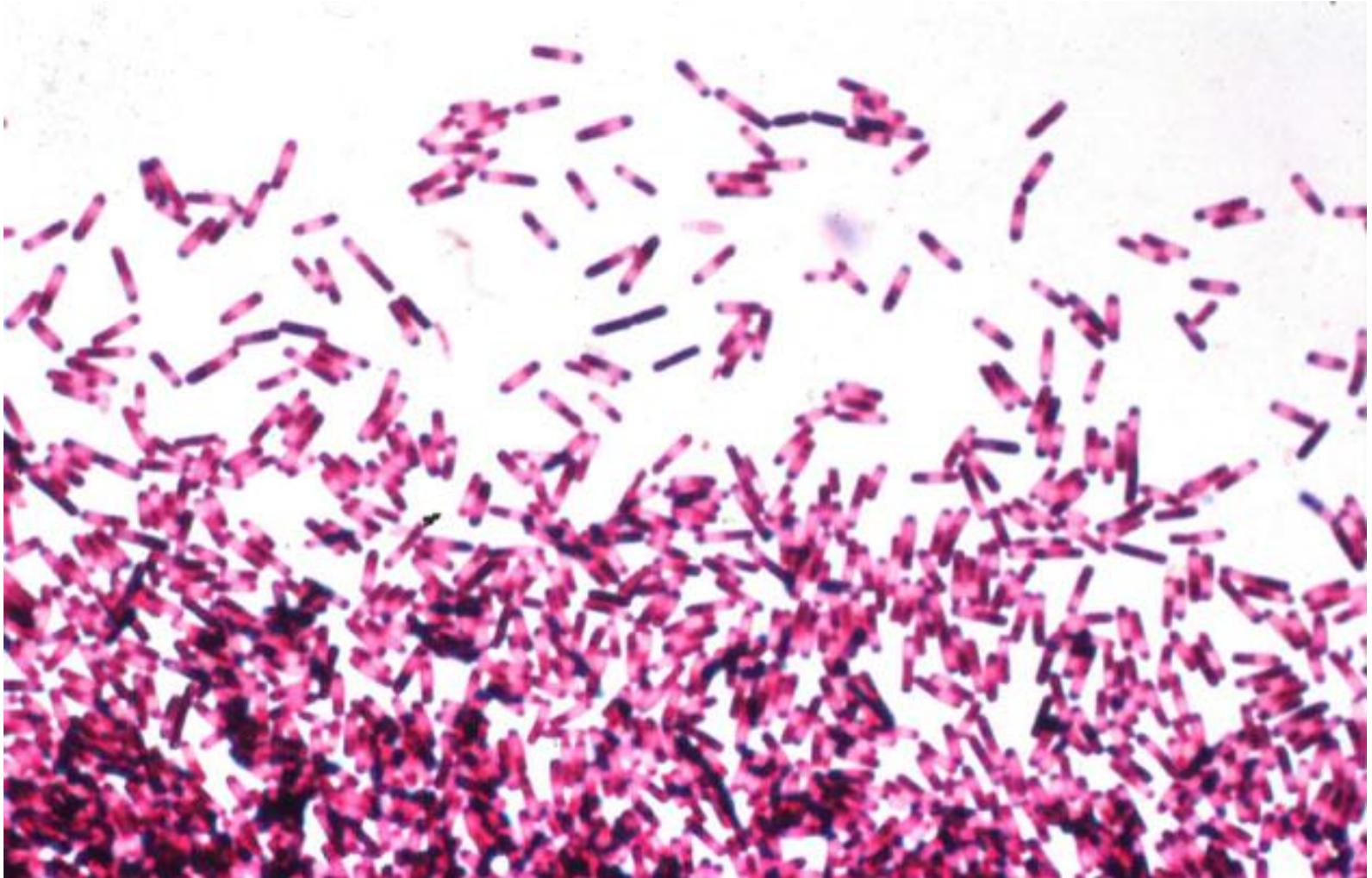
- *Clostridium novyi*, *Clostridium septicum*, *Clostridium histolyticum* - подвижные, за счет перитрихиально расположенных жгутиков, что отличает их от *C.perfringens*; капсулу не образуют.
- *Clostridium sordellii*

Морфо-биологические свойства

Clostridium perfringens

C. perfringens – крупные, грамположительные, неподвижные, образующие в организме капсулы полиморфные палочки. Образуют споры, расположенные центрально или субтерминально. Биохимически активны. Расщепляют углеводы с образованием кислоты и газа. Протеолитическая активность слабая. Интенсивно створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка, напоминающего пену на волнах. Этот феномен известен как **штормовая реакция**.

Clostridium perfringens



Культуральные свойства:

- *C.perfringens* – аэротолерантные анаэробы.
- Растут на питательных средах, приготовленных из гидролизата мяса и казеина при температуре 37-42⁰С, рН 7,2-7,4 в течение 3-8 часов.
- Рост на жидких питательных средах проявляется **помутнением** и интенсивным **газообразованием**.
- При росте в глубине пробирки с агаром вызывает разрыв столбика среды вследствие бурного образования газа.
- На плотных питательных средах с добавлением крови образует колонии с двойной зоной гемолиза. Вокруг колоний полный гемолиз образуется за счет действия гемолизинов, на отдалении – неполный за счет действия лецитиназы.

Ферментативная активность:

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

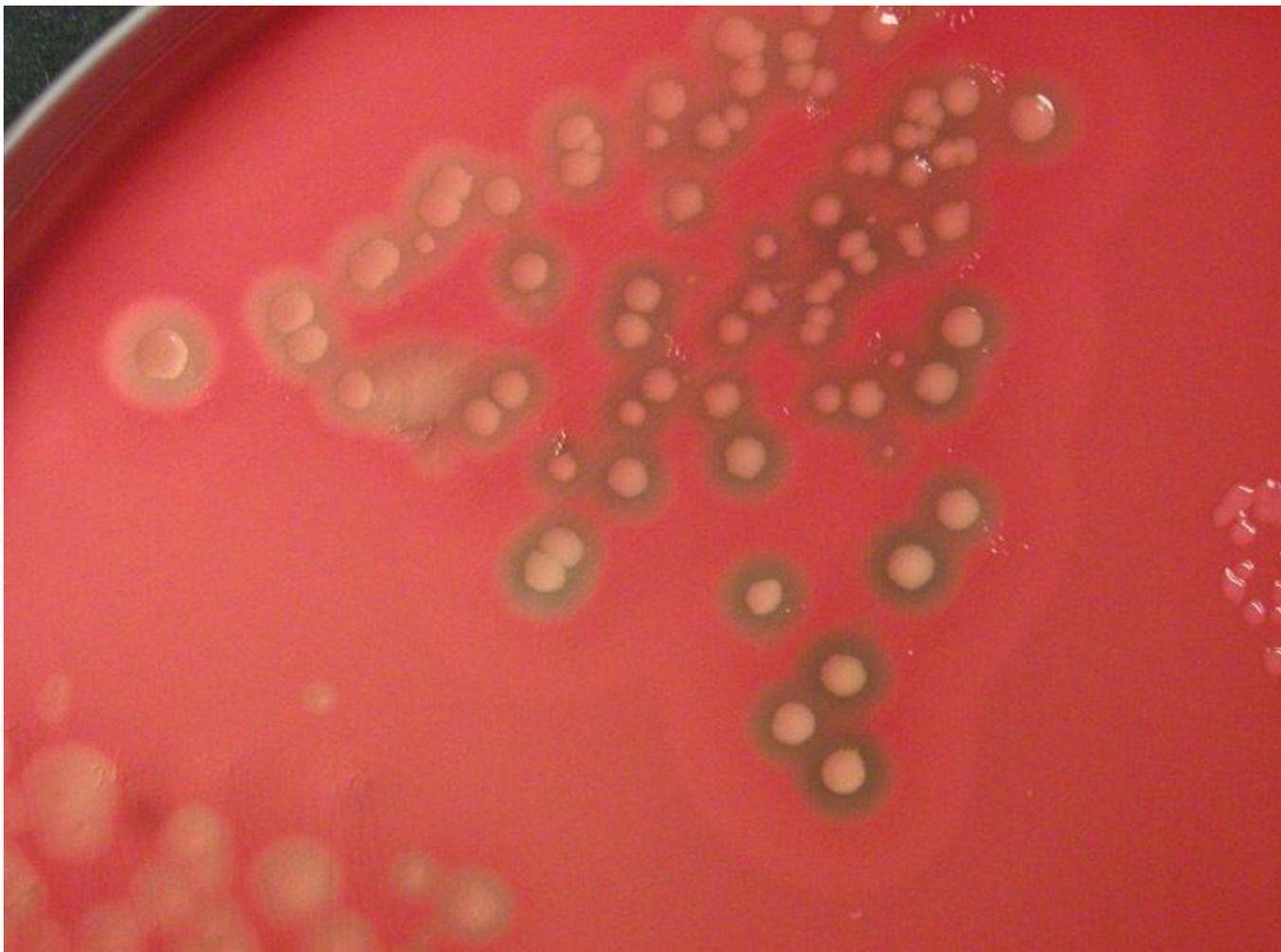
Clostridium perfringens

(рост на среде Китта-Тароуци)



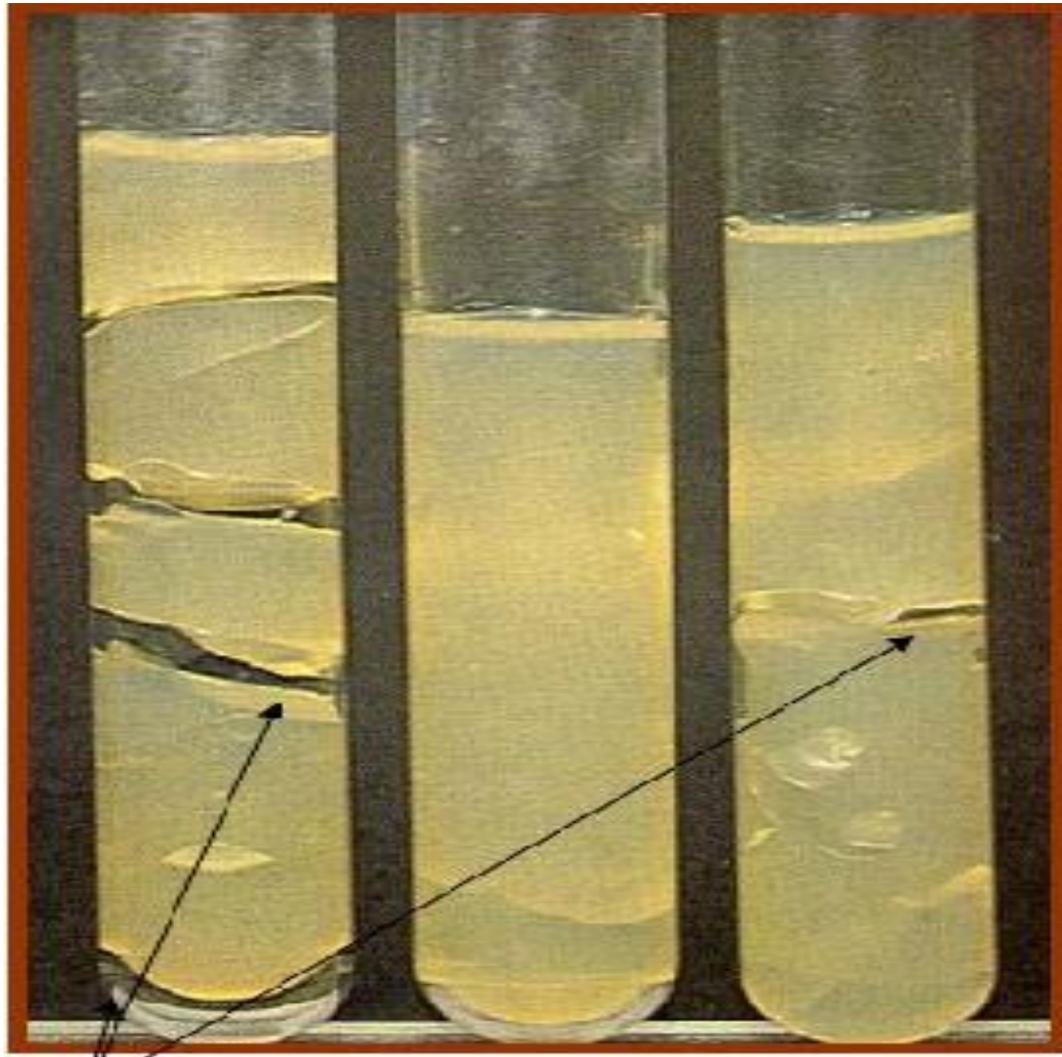
Clostridium perfringens

(колонии на кровяном агаре)



Clostridium perfringens

(разрыв столбика агара вследствие образования газа)



S. perfringens створаживает молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов (“штормовая реакция”)



Антигенная структура:

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

Факторы патогенности:

- Токсин обладает летальным, некротическим и гемолитическим свойствами и объединяет как минимум 14 факторов, обозначаемых греческими буквами.
- **Альфа (α)-токсин (фосфолипаза C)** - продуцируют все серотипы *S.perfringens*, является основным фактором патогенности всех возбудителей газовой гангрены. α -токсин являясь цитотоксином, обладает лецитиназной активностью .
- **Тета (θ)-токсин** –перфринголизин, **каппа (κ)-токсин** – коллагеназа, **ми (μ)-токсин** –гиалуронидаза, **ни (ν)-токсин**–ДНК-аза и др. в отдельности не оказывают действия, только усиливают действие α -токсина.
- *S.perfringens* серотипа А образуют энтеротоксин, вызывающий пищевые токсикоинфекции .

Источник инфекции и пути передачи:

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

Clostridium perfringens

(вызываемые заболевания)

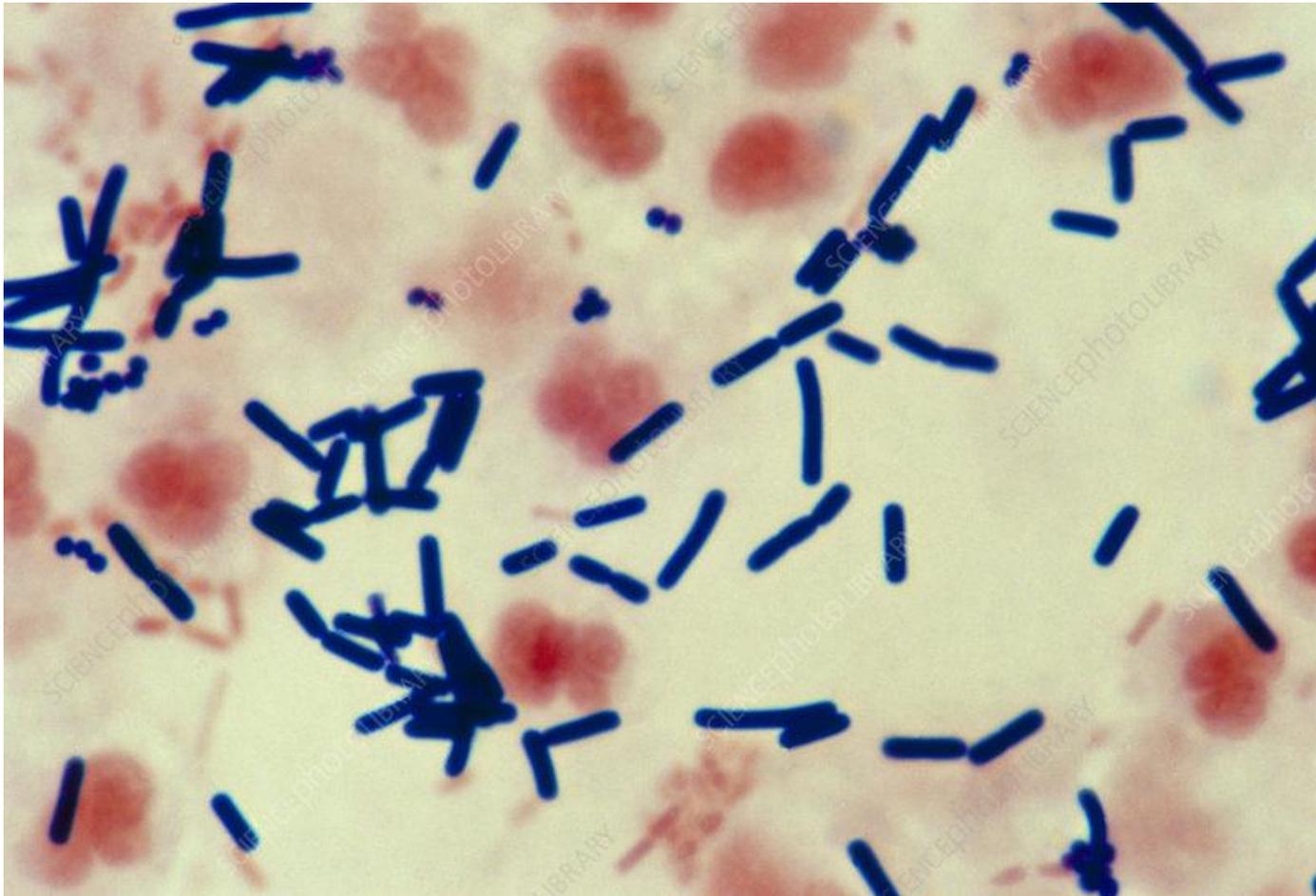
- *Газовая гангрена*
- *Пищевая токсикоинфекция* (развивается при употреблении пищи, контаминированной *C.perfringens*)
- *Некротический энтерит*

Клинические проявления газовой гангрены



Clostridium perfringens

в мазке из отделяемого раны



Микробиологическая диагностика газовой гангрены:

- **Материалы для исследования:** кусочки пораженной ткани, экссудат, гной, раневое отделяемое.
- **Микроскопический метод.** Обнаружение в мазке крупных грамположительных палочек, окрашенных по Граму – диагностический признак возбудителя.
- **Бактериологический метод.** Посев исследуемого материала на тиогликолевую среду, среду Китта-Тароцци и кровяной агар для выделения чистой культуры и идентификации возбудителя.

Микробиологическая диагностика газовой гангрены

- Для идентификации *C.perfringens* проводят инокуляцию в молоко. Бактерии створаживают молоко с образованием крупноячеистого губчатого сгустка в течение 3 часов.
- Лецитиназную активность определяют в средах содержащих яичный желток.

Идентификация завершается проведением реакции нейтрализации токсинов со специфическими антитоксическими сыворотками.

Тест Неглера – при температуре 35°C в анаэробных условиях лецитиназаположительные бактерии образуют непрозрачные поля вокруг штрихов.



Профилактика газовой гангрены

- **Неспецифическая профилактика.** Хирургическая обработка ран, удаление некротизированных тканей и инородных тел, применение антисептиков могут в значительной степени предотвратить развитие заболевания.
- **Специфическая профилактика.** Применяют полианатоксин, содержащий анатоксины наиболее частых возбудителей газовой гангрены.
- С целью экстренной серопрфилактики при травмах вводится поливалентная антитоксическая сыворотка против газовой гангрены.

Лечение газовой гангрены:

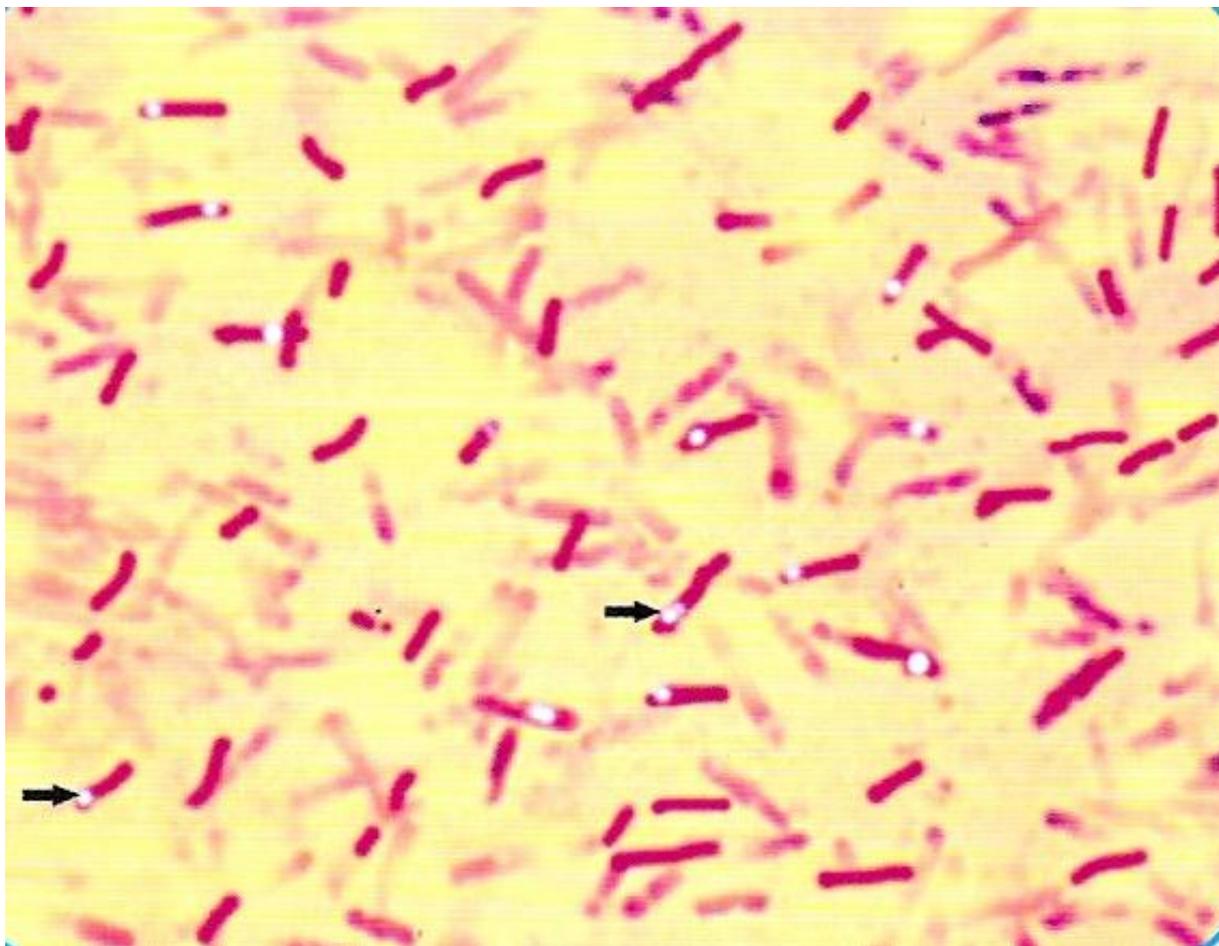
- Антибиотики - пенициллин G (бензилпенициллин)
- Специфическое лечение - *антитоксическая сыворотка*

морфо-биологические особенности *Clostridium difficile*

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

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

Clostridium difficile
(мазок из чистой культуры)



Clostridium difficile

(колонии на селективной среде)



Патогенность

- *C.difficile* вызывает псевдомембранозный энтероколит клинически проявляющийся диареей. Заболевание возникает в результате дисбаланса между анаэробными бактериями – бактероидами и бифидобактериями, играющими важную роль в формировании колонизационной резистентности, возникшего на фоне нерациональной антибиотикотерапии.
- *C.difficile* вырабатывает два экзотоксина.
 - *A токсин* оказывает энтеротоксическое, а также цитотоксическое действие. Связывается с эпителием кишечника через специфические рецепторы к микроворсинкам
 - *B токсин* - цитотоксическое действие.

Псевдомембранозный колит

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

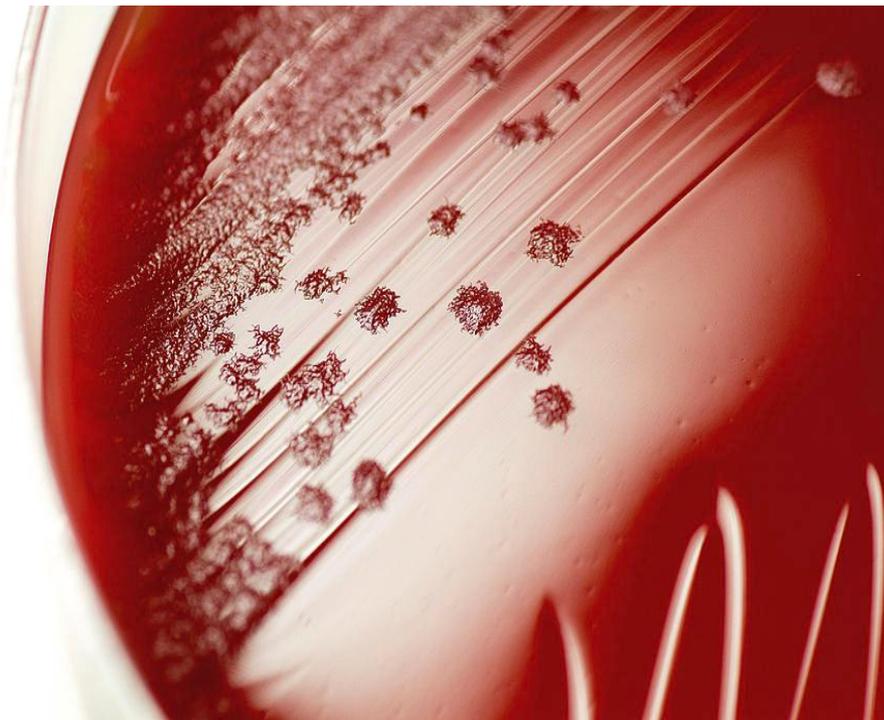
Псевдомембранозный колит

(эндоскопия слизистой кишечника)



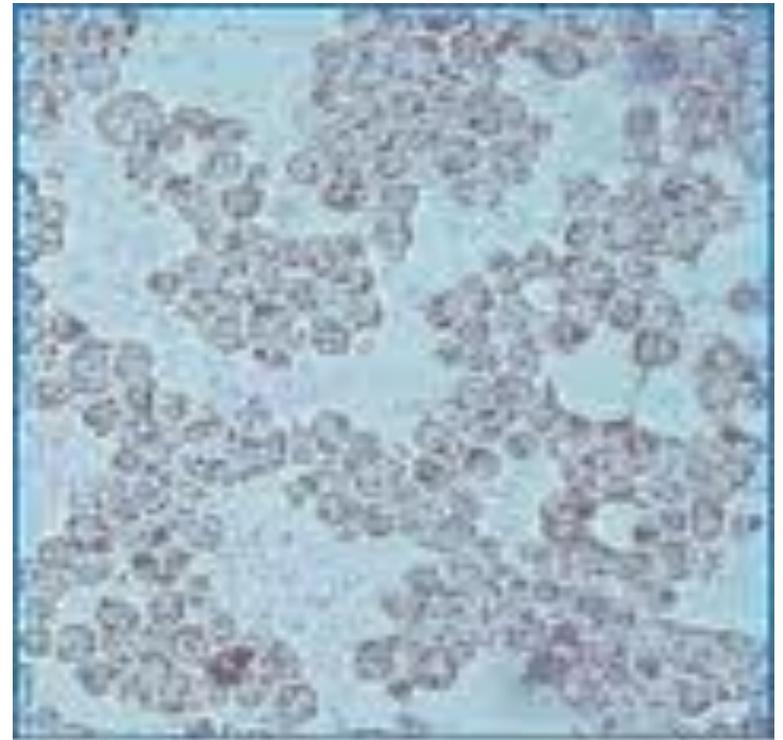
Микробиологическая диагностика

- **Бактериологический метод** основывается на культивировании материала в селективных питательных средах в анаэробных условиях. Посев производится на желточно-фруктозный агар с добавлением циклосерина и цефокситина (ССФА агар). Бактерии образуют матовые стекловидные желтые колонии.



Воздействие токсина *C.difficile* на чувствительные клетки (эмбриональные фибробласты человека)

Выявление токсинов *C.difficile* в кале основывается на определении влияния на культуру клеток (эмбриональные фибробласты) и имеет важное диагностическое значение.

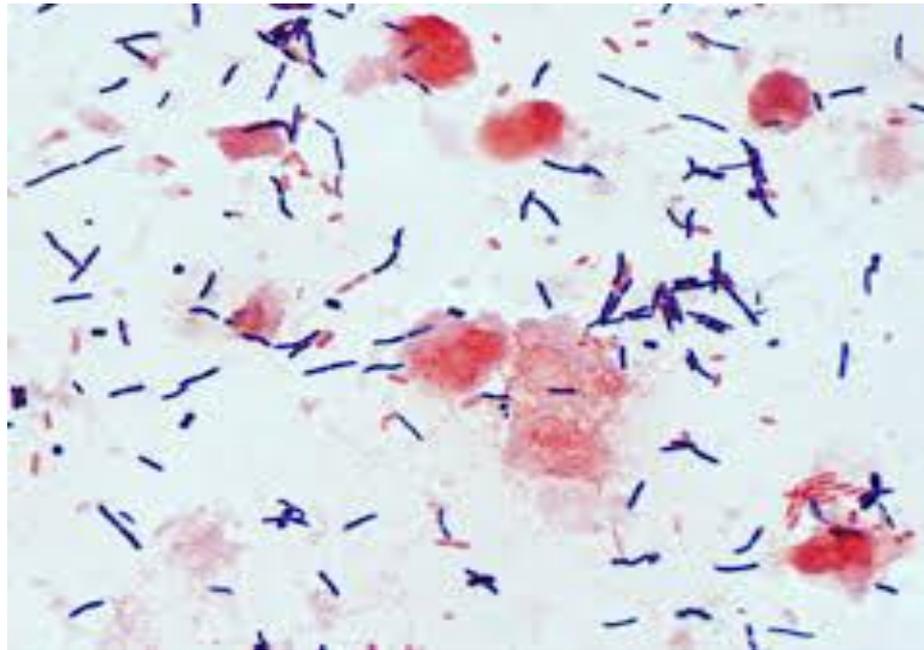


микротесты для обнаружения токсина C.difficile
В кале.



Микробиологическая диагностика

- Микроскопическое и бактериологическое исследование кала.
- *При микроскопическом исследовании* обнаруживаются крупные грамположительные бактерии.



C.difficile (мазок из чистой культуры окрашенной по Граму)

Лечение

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

Морфо-биологические свойства:

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.

У C.diphtheriae выделяют четыре биовара :

gravis

mitis

intermedius

belfanti

Corynebacterium diphtheriae



Волутиновые зерна (в мазках окрашенных по Нейссеру)

Corynebacterium diphtheriae

культуральные свойства:

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



А- биовар *gravis*

Сухие матовые серовато-черные

R-колонии

«цветок маргаритки»

В-биовар *mitis*

Гладкие, блестящие, черные полупрозрачные

S-колонии

Corynebacterium diphtheriae культуральные свойства:

- *C.diphtheriae* на теллуритовых средах растут в виде черных или черно-серых колоний в результате восстановления теллурита до металлического теллура.



C.diphtheriae (колонии на теллуритовой среде)

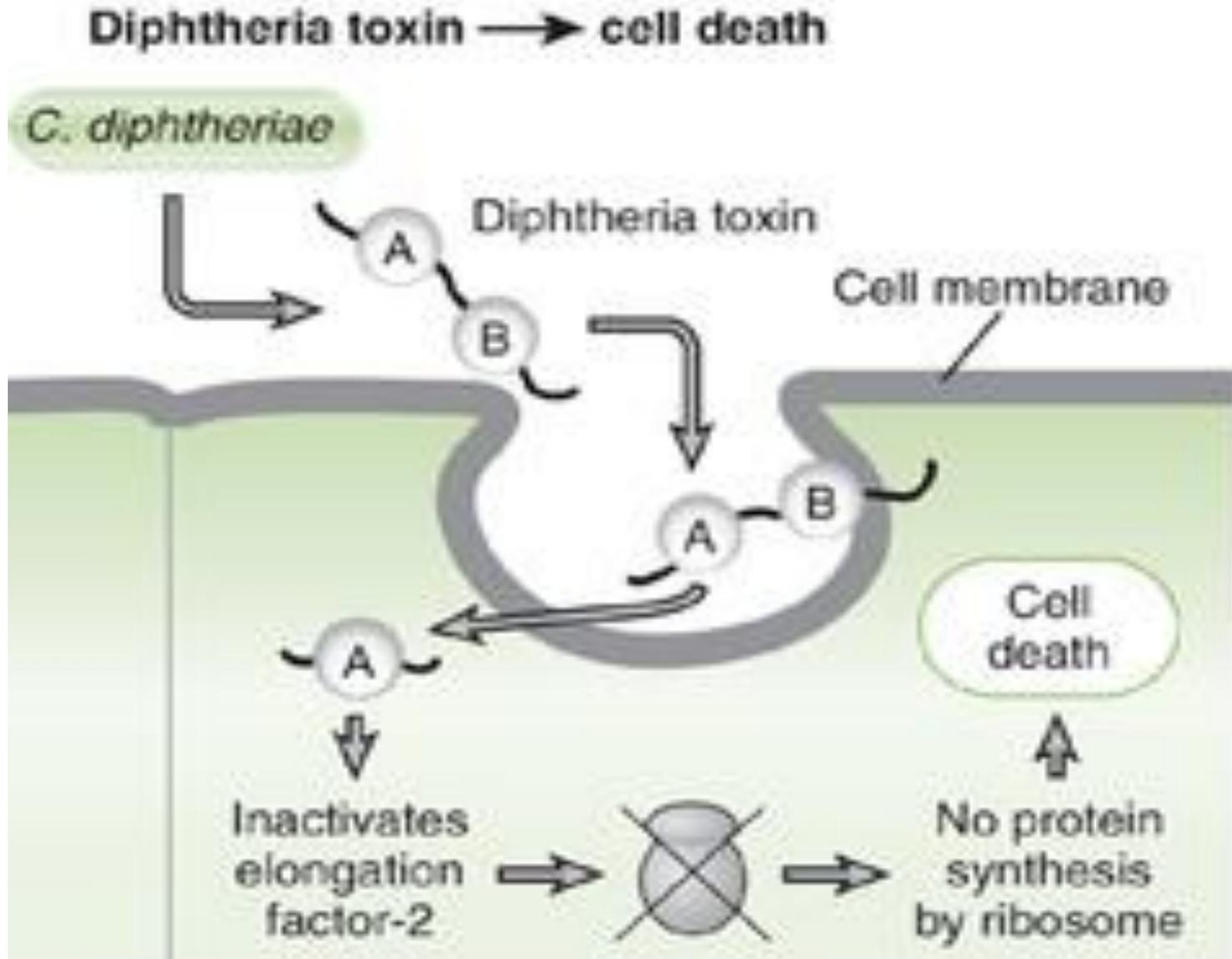
Дифференциальные признаки бактерий рода Corynebacterium

Вид	Способность разлагать:				Восстановление нитратов
	Цистин	Мочевина	Глюкоза	Крахмал	
C.diphtheriae					
gravis	+	-	+	+	+
mitis	+	-	+	-	+
intermedius	+	-	+	-	+
belfanti	+	-	+	-	-
C.pseudodiphtheriae	-	+	-	-	+
C.xerosis	-	+	+	-	+
C.ulcerans	-	+	+	-	+
C.jejikeum	-	+	+	-	-
C.sistidis	-	+	+	+	-
C.minitissimum	-	+	+	-	-

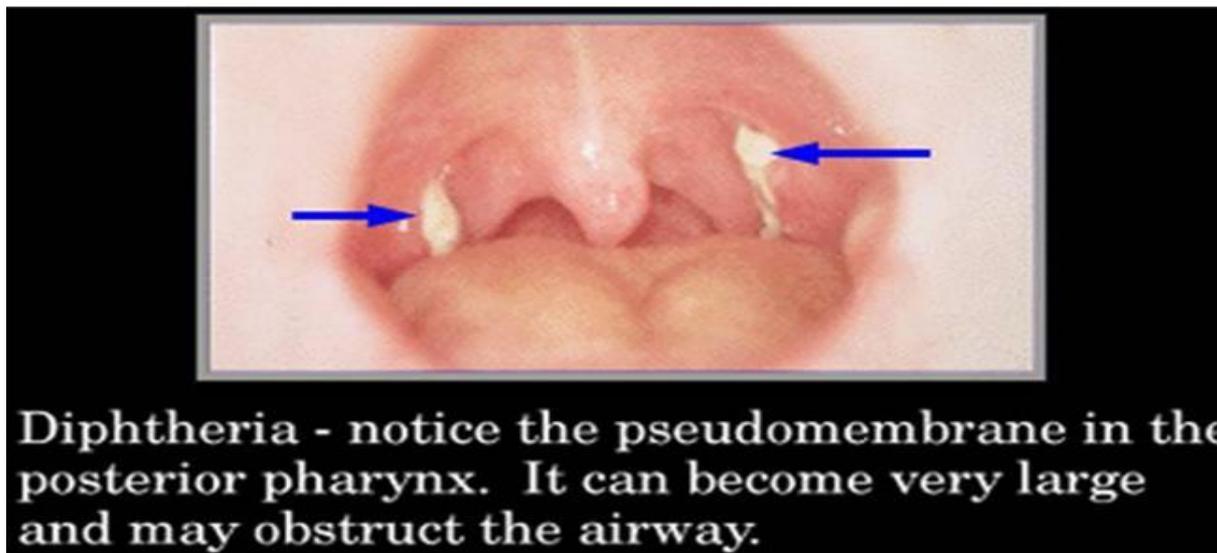
Факторы патогенности:

- *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

Механизм действия экзотоксина C.diphtheriae :



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



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

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

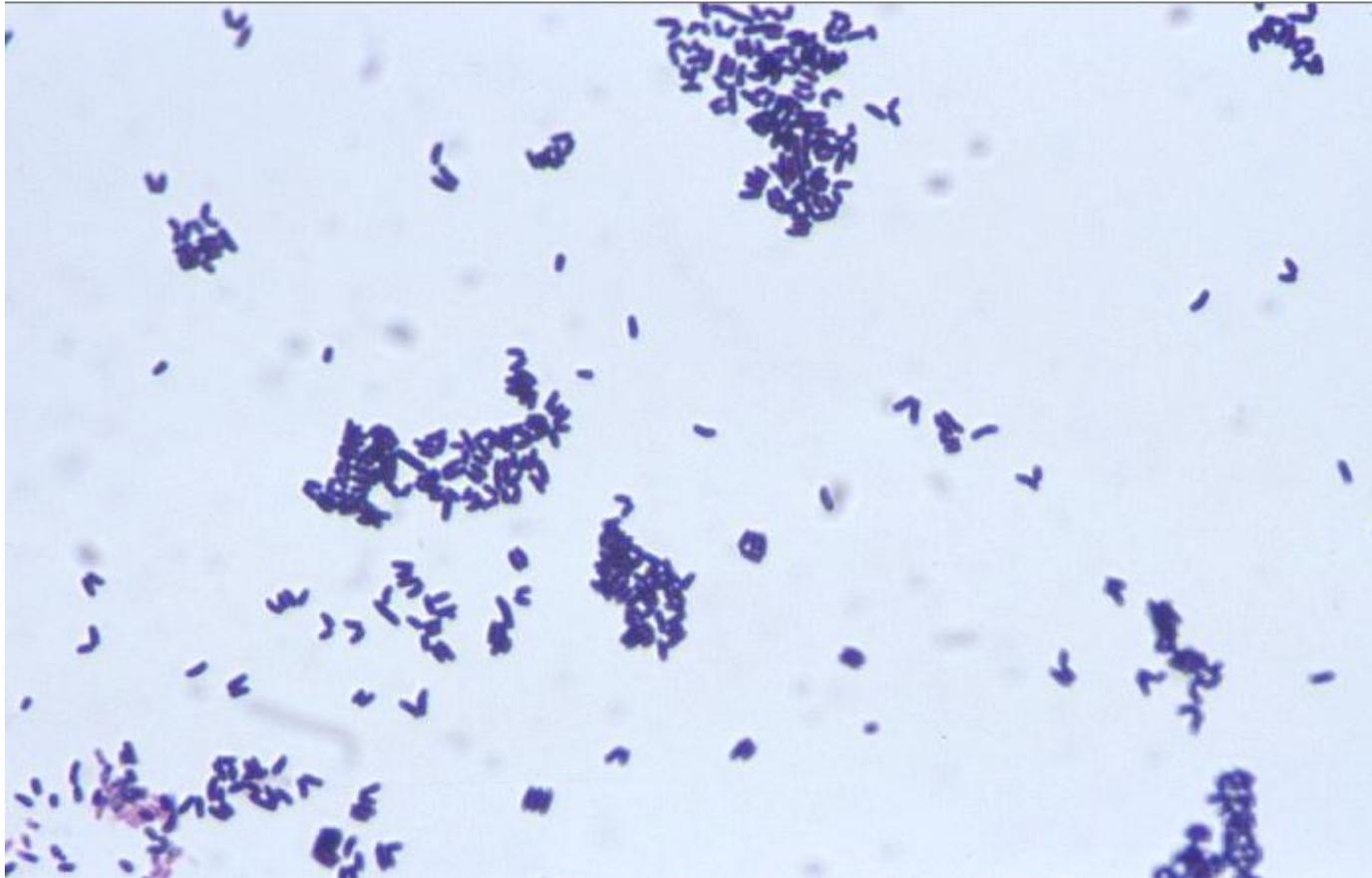
- *АКДС вакцина-* (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина)
- *АДС анатоксин* (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин)
- *АДС-М-анатоксин* (адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин с уменьшенным содержанием антигенов)
- *АД-М-анатоксин* (адсорбированный дифтерийный анатоксин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

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



дифтероиды (мазок из чистой культуры)

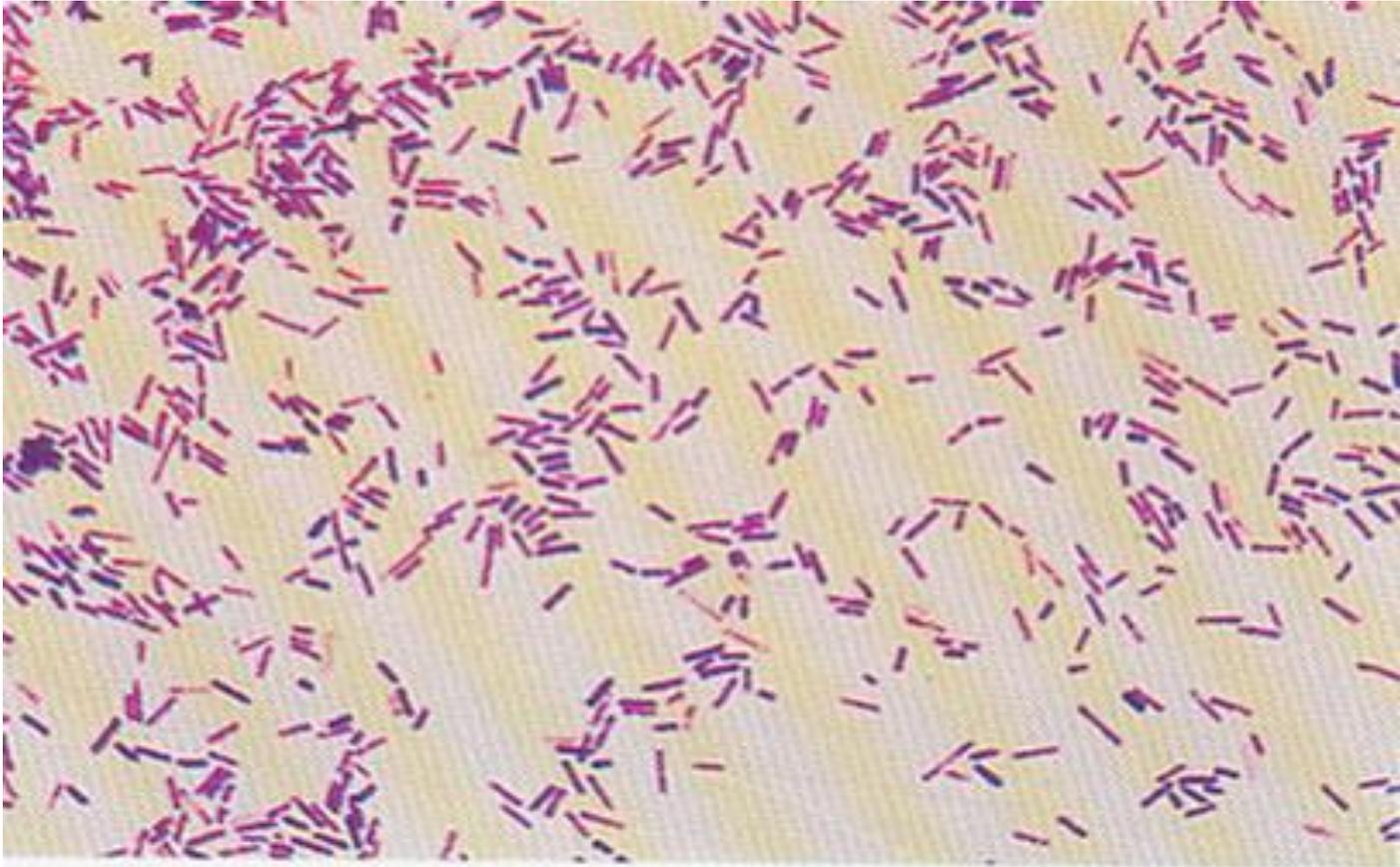
Тип FIRMICUTES

```
graph TD; A[Тип FIRMICUTES] --> B(класс Bacilli); B --> C[Род Listeria  
Вид Listeria monocytogenes];
```

класс Bacilli

Род *Listeria*
Вид *Listeria*
monocytogenes

L. monocytogenes подвижные грам(+) палочки. В мазках располагаются под углом друг к другу, напоминая иероглифы. Могут образовывать капсулу

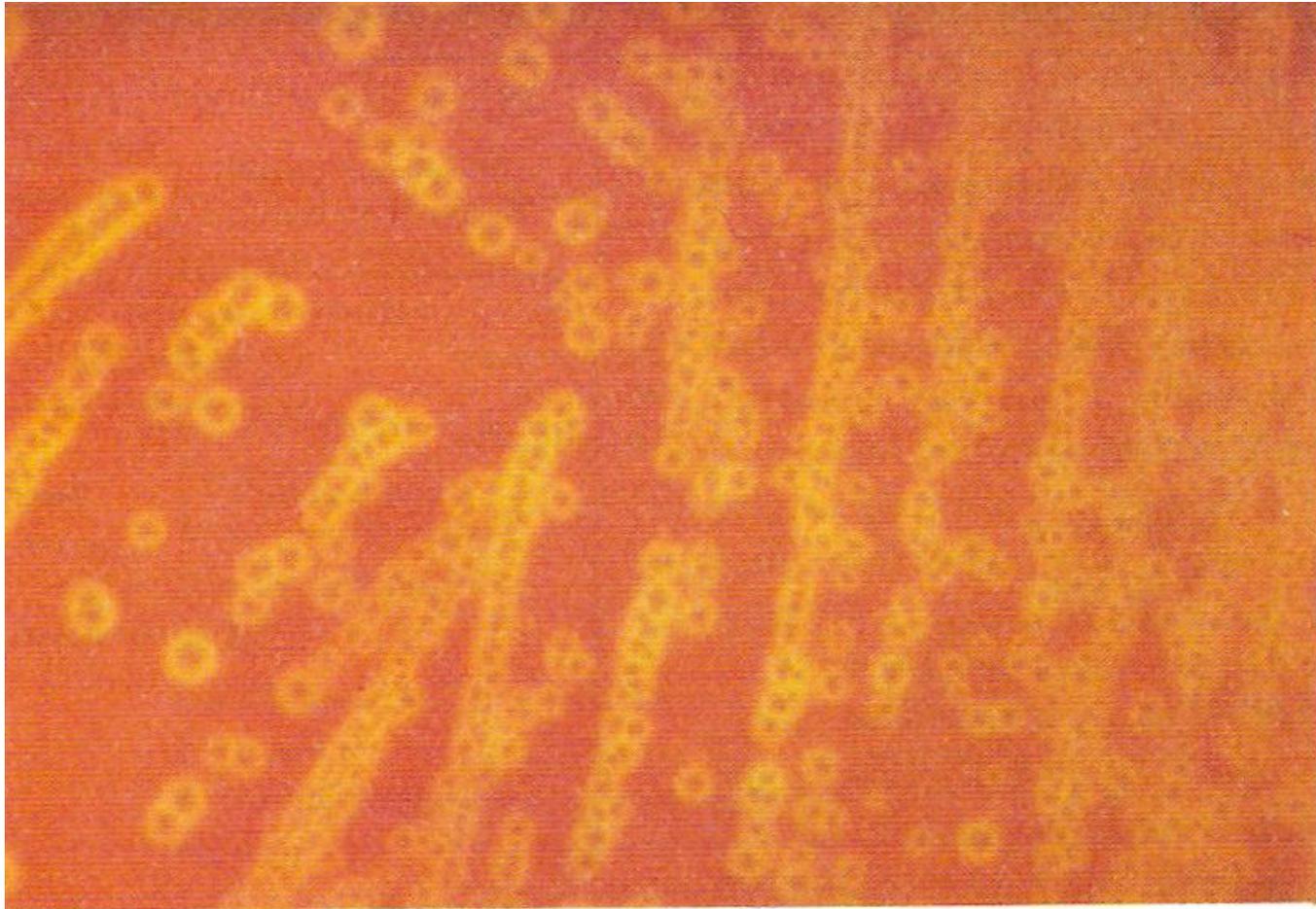


Культуральные и биохимические свойства

- **Каталаза**-положительные
- **Микроаэрофилы**, растут при 5% CO₂
- Вызывают **гемолиз** на КА. Могут продуцировать **желтый** или **красноватый пигмент**.
- Ферментируют глюкозу и др. углеводы до **кислоты**
- Обладают **O-** и **H-** антигенами.

Listeria monocytogenes

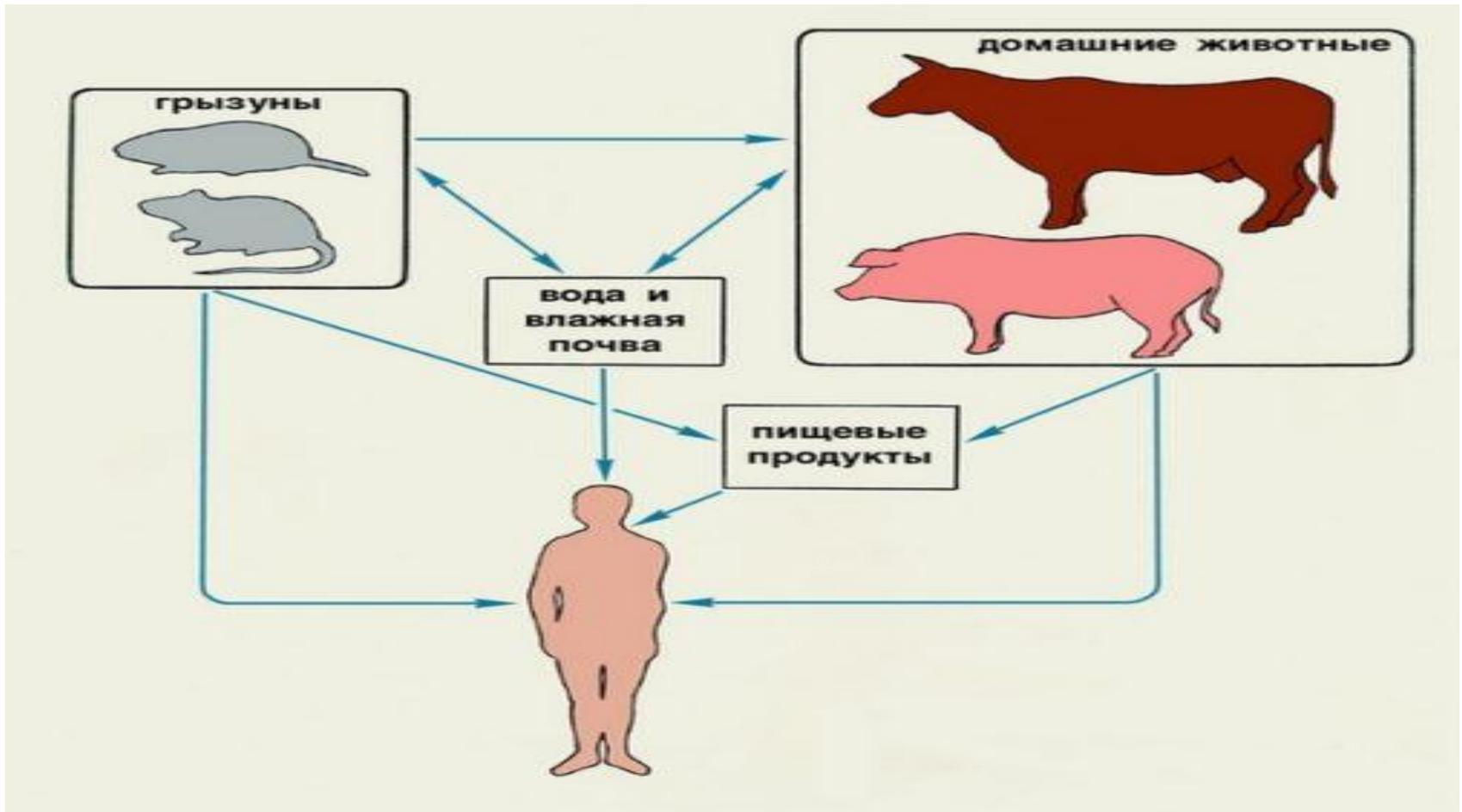
культура на кровяном агаре



Факторы патогенности

- **Интерналин и внеклеточный белок** – облегчают проникновение в клетки
- **Листериолизин O** - гемолиз эритроцитов, повреждение мембраны фагосомы
- **Фосфолипаза C** – разрушение клеточных мембран, лизис фагосомы, распространение по организму
- **Act A** – белок полимеризующий актин, обеспечивает передвижение бактерий по цитоплазме и между клетками
- **Лецитиназа** способствует внутриклеточному выживанию и размножению

Заражение листериозом



Эпидемиология и патогенез листериоза

- Источник инфекции – почва, где микроб свободно существует и заражает корни растений, в частности, овощей (сопроноз).
- Вторичный источник – дикие (кабаны, лисы, зайцы) и домашние (овцы, свиньи, крупный рогатый скот, кошки) животные
- Листерии хорошо выносят низкие температуры. При температуре 4оС они способны размножаться в молочных и мясных продуктах.
- Основной путь заражения - алиментарный, реже - контактный, аэрозольный и вертикальный.
- В патогенезе важное значение имеет состояние иммунодепрессии. От входных ворот возбудитель лимфогенно и гематогенно диссеминирует во внутренние органы, вызывая образование некротических узелков – листериом.
- Различают приобретенный и врожденный листериоз .

Патогенез листериоза



LOGO

Входные ворота

Слизистые
оболочки
ЖКТ

Слизистые
репираторного
тракта и глаз

Поврежденные
кожные
покровы

При лимфогенном и гематогенном распространении происходит фиксация листерий в лимфатических узлах и внутренних органах – миндалинах, легких, в печени, в селезенке, почках, надпочечниках, ЦНС.

При беременности некротические узелки (листериомы) могут формироваться в плаценте, что приводит к инфицированию плода, с развитием у него генерализованной формы инфекции.

Заболевание способствует иммунодефицитным состояниям и опухолям.

**Вызывает менингит и сепсис
у иммунодефицитных лиц
Вызывает лихорадку и сепсис
у беременных**

**Сепсис
Гранулематоз
Менингит
У новорожденных**

ПАТОГЕНЕЗ

