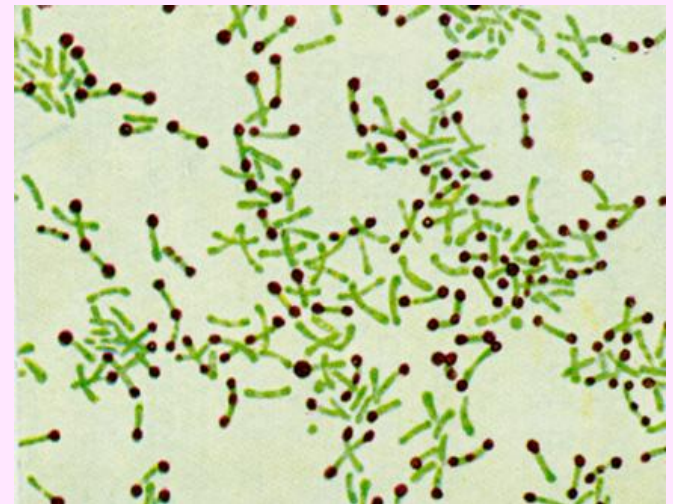
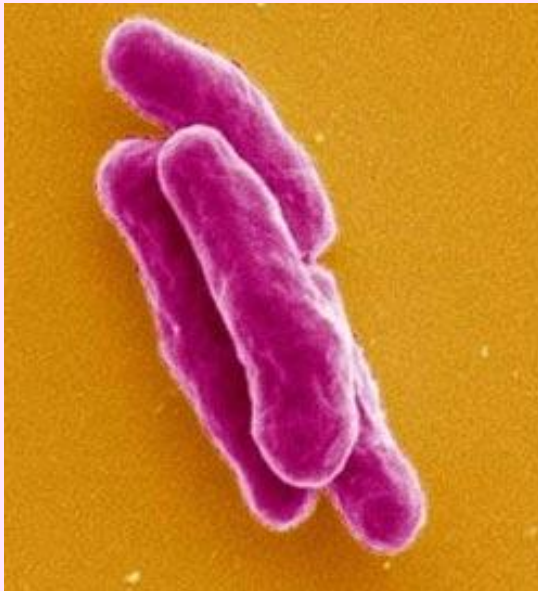




Лекция «Характеристика коринебактерий. Микобактерии»



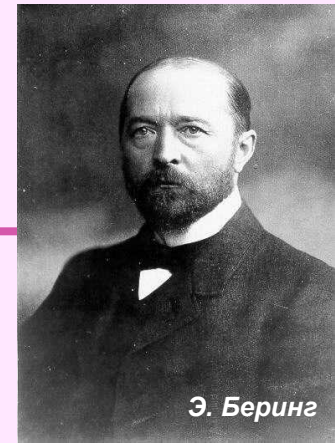
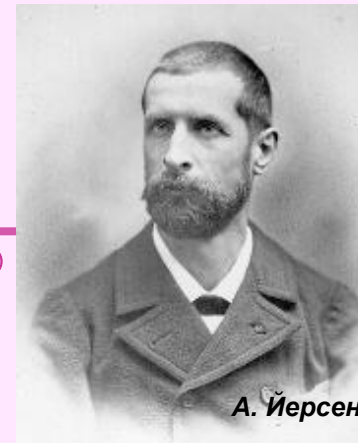
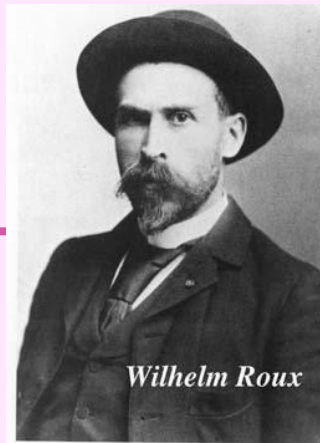
План лекции:

- 1) **Коринебактерии – возбудители дифтерии.**
- 2) **Общая характеристика микобактерий.**
- 3) **Возбудители туберкулеза.**

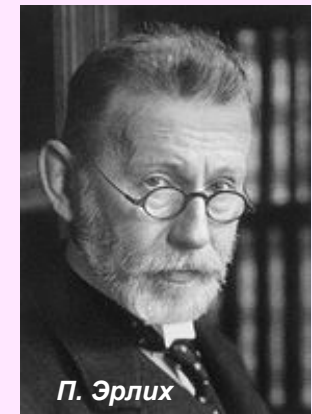
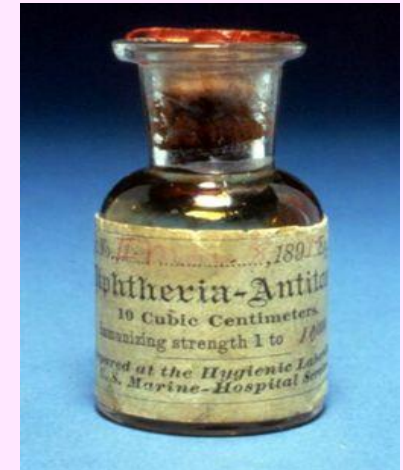


Дифтерия – острое инфекционное заболевание, характеризующееся токсическим поражением сердечно-сосудистой и нервной систем, а также специфическим фибринозным (дифтеритическим) воспалением в месте входных ворот.

Историческая справка



- **1883 г.:** Э. Клебс – открытие возбудителя дифтерии.
- **1884 г.:** Ф. Леффлер - выделил чистую культуру.
- **1888 г.:** Э. Ру, А. Йерсен - дифтерийный ТОКСИН.
- **1895 г.:** Э. Беринг, Э. Ру - противодифтерийная сыворотка.
- **1897 г.:** П. Эрлих – применение сыворотки для лечения дифтерии.
- **1923 г.:** Г. Рамон - дифтерийный анатоксин.
- Г.Н. Габричевский – применение противодифтерийной сыворотки с лечебной целью, организация ее производства в России.



- **Семейство** – *Corynebacteriaceae*
- **Род** – *Corynebacterium*
- **Вид** – *C. diphtheriae*, дифтероиды:
C. pseudodiphthericum (палочка Хофманна),
C. xerosis, *C. ulcerans*.



Морфология

- ✓ Прямые или изогнутые палочки (0,3-0,8×1-8 мкм);
- ✓ Спор не образуют;
- ✓ Неподвижны;
- ✓ Имеют микрокапсулу;
- ✓ Расположение бактерий в мазке – под углом друг к другу (в виде V, X, L);
- ✓ На концах булавидные утолщения (зерна волютина – гранулы полиметафосфата);
- ✓ Грамположительные;
- ✓ По Нейссеру: цитоплазма желтого цвета, зерна волютина – синего.



Культуральные свойства

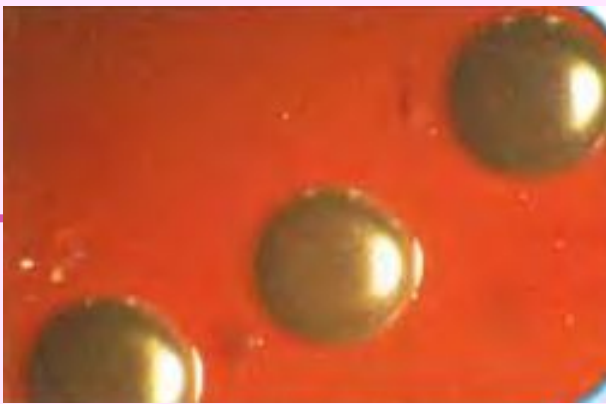
- ✓ Факультативные анаэробы;
- ✓ Оптимальная температура 37⁰С;
- ✓ рН 7,3-8,0;
- ✓ Длительность 12-24 часа;
- ✓ Требовательны к питательным средам:
 - среда Леффлера (свернутая лошадиная сыворотка с добавлением глюкозы) – серовато-кремовые сухие морщинистые колонии по типу «шагреновой кожи»;
 - среда Бучина с хинозолом – плоские темно-синие колонии;
 - Дифференциально-диагностические среды с теллуридом (Клауберг II, Тиндаль) – серовато-черные колонии.

Биохимическая активность



- Сбраживают с образованием кислоты глюкозу, мальтозу, галактозу;
- Некоторые варианты ферментируют декстрин, крахмал и гликоген;
- Не разлагают сахарозу, лактозу и маннит;
- Восстанавливают нитраты в нитриты;
- Не гидролизуют мочевины (проба Закса отрицательная);
- Разлагают цистеин с образованием H_2S (проба Пизу положительная);
- Индол не образуют.

Биовар mitis:



- Ферментирует глюкозу, мальтозу, не сбраживает сахарозу, крахмал, гликоген и декстрин;
- Проба Пизу положительная;
- Восстанавливает нитраты;
- Проба Закса отрицательная;
- На средах с теллуритом – мелкие гладкие блестящие полупрозрачные черные колонии с ровным краем;
- На жидкой среде – равномерное помутнение и порошкообразный осадок;
- На кровяных средах – зоны гемолиза;
- Малотоксичен;
- Вызывает легкую спорадическую заболеваемость.

Биовар *gravis*:



- Ферментирует глюкозу, мальтозу, гликоген и декстрин;
- Проба Пизу положительная;
- Восстанавливает нитраты;
- Проба Закса отрицательная;
- На средах с теллуридом – крупные сухие матовые плоские серо-черные колонии, приподнятые в центре, с радиальной исчерченностью и неровным краем (напоминают маргаритку);
- На жидкой среде – пленка, помутнение и крупнозернистый осадок;
- На кровяных средах – гемолиза \pm ;
- Обладает выраженными токсигенными свойствами;
- Выделяется от больных с тяжелой формой дифтерии, вызывает групповые вспышки.

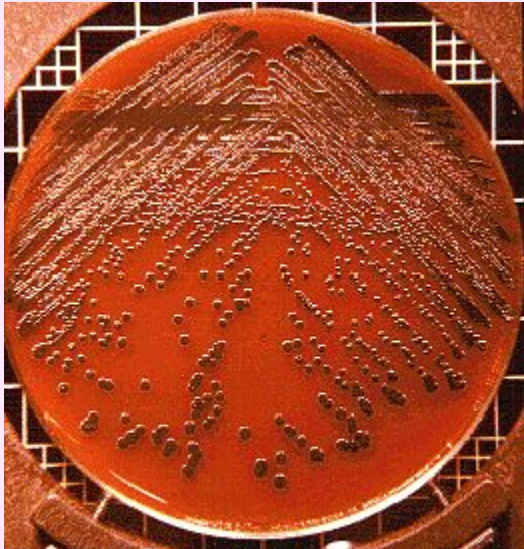


ал,

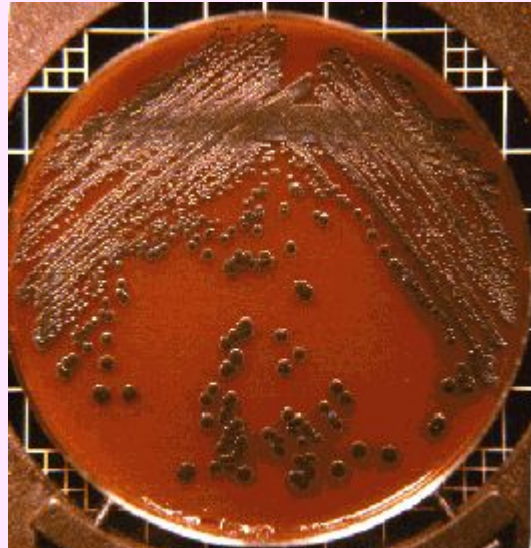
Биовар *intermedius*:



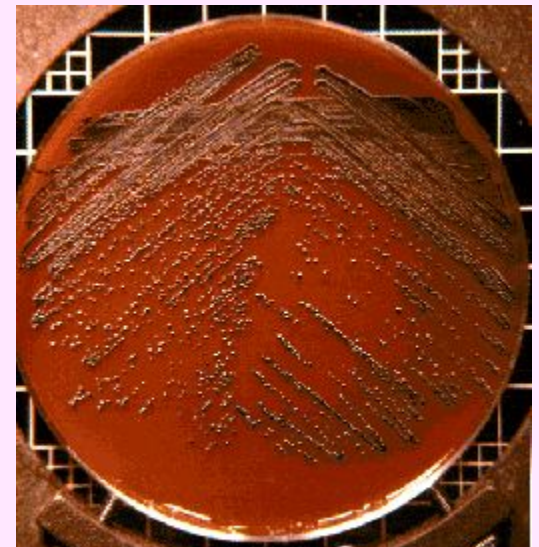
- По биохимическим и культуральным свойствам сходен с биоваром *gravis*;
- На средах с теллуритом мелкие сухие матовые серо-черные колонии с неровным краем;
- На жидкой среде – помутнение с последующим образованием мелкозернистого осадка;
- Гемолиз на кровяных средах отсутствует.



***Corynebacterium diphtheriae*, mitis**
Chocolate tellurite agar



***Corynebacterium diphtheriae*, gravis**
Chocolate tellurite agar



***Corynebacterium diphtheriae*, intermedius**
Chocolate tellurite agar

Дифференциация дифтерийной палочки от дифтероидов

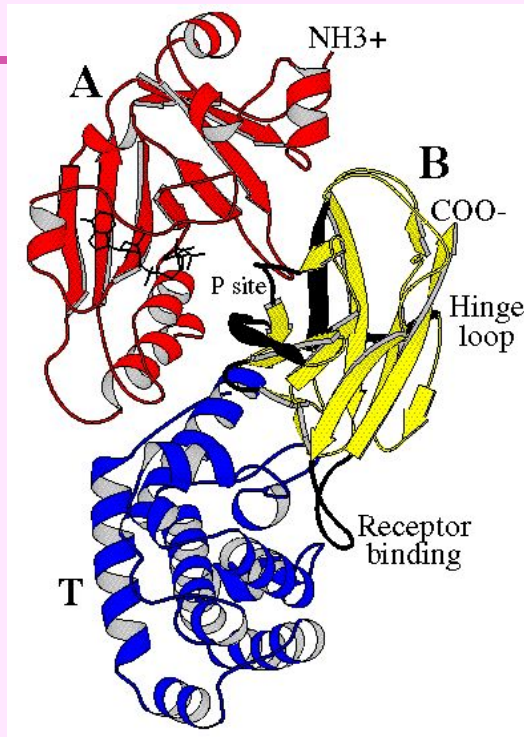
<i>Вид коринебактерий</i>	<i>Глю- коза</i>	<i>Саха- роза</i>	<i>Крах- мал</i>	<i>Гемо- лиз</i>	<i>Проб а Пизу</i>	<i>Проба Закса</i>	<i>Восста- новление нитратов</i>
<i>C. diphtheriae mitis</i>	+	-	-	+	+	-	+
<i>gravis</i>	+	-	+	±	+	-	+
<i>intermedius</i>	+	-	+	-	+	-	+
<i>C.pseudo-dipht hericum</i>	-	-	-	-	-	+	+
<i>C. xerosis</i>	+	+	-	-	-	+	+
<i>C. ulcerans</i>	+	-	+	+	+	+	-

Антигенная структура



- 1) O-антиген – групповой, липополисахарид клеточной стенки, термостабильный.*
- 2) K-антиген – типовой, представлен капсульными нуклеопротеидами, термолабильный.*

Факторы патогенности



- **Токсины:** мощный экзотоксин (гистотоксин) оказывает цитотоксическое действие, обладает дермонекротическими и гемолитическими свойствами (синтезируют только *C. diphtheriae*, лизогенные тох-профагом).

Ферменты: гиалорунидаза, нейроминидаза, фибринолизин, лецитиназа.

Структурные и химические компоненты клетки: пили I порядка, микрокапсула, Cor-фактор, бактериоцины (корицины).

Резистентность

- При 60⁰С – погибают за 10 минут;
 - Кипячение – мгновенная гибель;
 - 5% раствор карболовой кислоты – инактивация через 1 минуту.
-
- В высохших пленках и кале – 3-4 месяца;
 - На предметах обихода, одежде – до 15 дней;
 - На мягких игрушках – 3 месяца;
 - В воде и молоке – 20 дней;
 - В пыли – до 5 месяцев.
-
- Чувствительны к пенициллину, тетрациклину,

Источник инфекции – больной человек или бактерионоситель.

Механизмы передачи инфекции:

- ✓ Аэрогенный (пути – воздушно-капельный и воздушно-пылевой);
- ✓ Контактный (путь – непрямой контактный);
- ✓ Фекально-оральный (путь – алиментарный).

Входные ворота: слизистые оболочки носа, зева, гортани, трахеи, бронхов, конъюнктивы, наружных половых органов, раневая поверхность.

Инкубационный период – 2-10 дней.

Патогенез, клиника, иммунитет



Приобретенный иммунитет – стойкий напряженный антитоксический.

Микробиологическая диагностика

Исследуемый материал – слизь из зева и носа, пленки с миндалин, раневое отделяемое, кровь.

1. **Бактериоскопический метод.**

2. **Бактериологический метод (основной).**

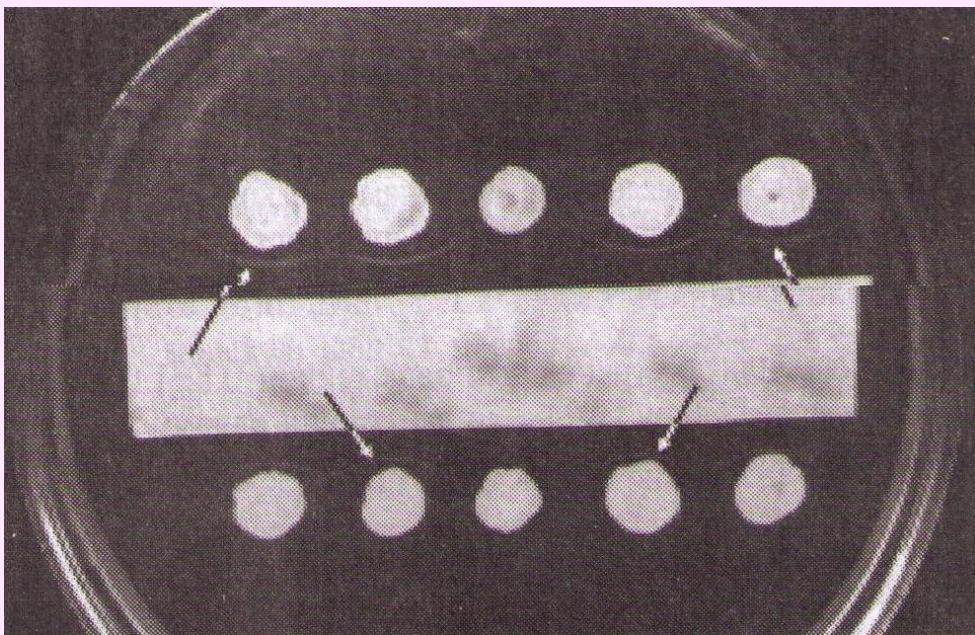
Определение токсигенности *C. diphtheriae*:

- А.** биологическая проба на животных – внутрикожное введение морским свинкам культуры дифтерийной палочки – некроз в месте введения, последующая гибель животного;
- В.** заражение куриных эмбрионов (гибель);
- С.** внесение в культуру клеток (ЦПД);
- Д.** ИФА;
- Е.** ДНК-зонды для обнаружения tox-оперона в геноме;
- Ф.** РДП по Илеку и Оухтерлони.

3. **Серодиагностика** – РПГА, ИФА, РИА, реакция ко-агглютинации, проба Шика.

4. **Экспресс-диагностика** – РИФ, ИФА, РПГА, реакция ко-агглютинации.

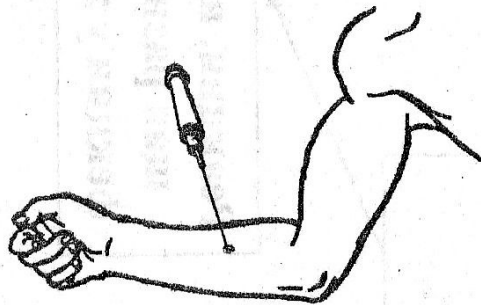
5. **Молекулярно-биологический метод** – ПЦР (обнаружение tox-гена).



***РДП по Илеку и
Оухтерлони***

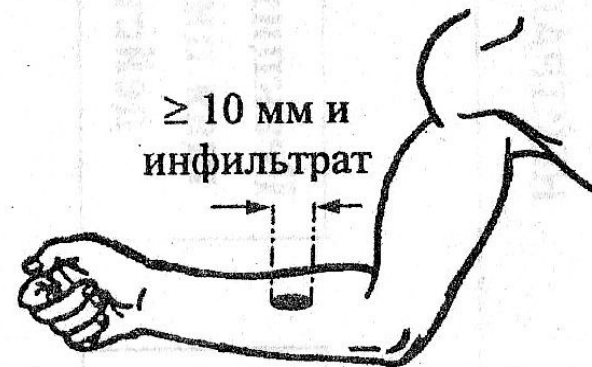
РЕАКЦИЯ (ПРОБА) ШИКА

0,2 мл токсина ШИКА (1/64 ДЛМ для морской свинки)
внутрикожно



Учет результатов: через 72—96 часов

ПРОБА ПОЛОЖИТЕЛЬНАЯ:



ПРОБА ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ:



Специфическая профилактика



Плановая – вакцинами АКДС, АКДС-М и анатоксинами АДС, АДС-М, АД, АД-М.

- ✓ **Вакцинация трехкратно в возрасте 3-4,5-6 месяцев;**
- ✓ **Первая ревакцинация – в 18 месяцев;**
- ✓ **Вторая ревакцинация – в 7 лет;**
- ✓ **Третья – в 14 лет;**
- ✓ **Последующие ревакцинации – каждые 10 лет до 56-летнего возраста.**

Специфическое лечение



**Внутримышечное введение
противодифтерийной антитоксической
сыворотки, в дозе**

**10000-40000 МЕ в зависимости от
тяжести заболевания, по Безредке.**

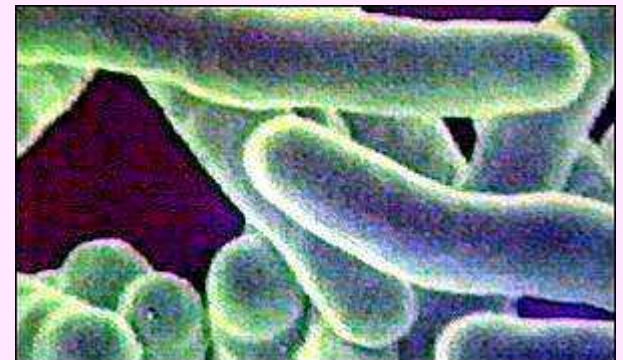
**Обязательно – предварительное
проведение кожной пробы.**



Общая характеристика микобактерий

Микобактерии относятся к семейству *Mycobacteriaceae*, род *Mycobacterium* (более 40 видов).

1. Прямые или слегка изогнутые палочки размером 0,2-0,6×1-10 мкм.
2. Склонны к ветвлению подобно грибам.
3. Кислото-спирто-щелочеустойчивы.
4. Плохо окрашиваются анилиновыми красителями.
5. Грамположительные.
6. Медленно растут на питательных средах.



Туберкулез – это инфекционное антропозоонозное заболевание, вызываемое микобактериями и характеризующееся развитием специфического гранулематозного воспаления, чаще хроническим течением, многообразием клинических проявлений и поражением различных органов, главным образом дыхательной системы.



Актуальность



1. **Туберкулез** – это самая распространенная инфекция.
2. **Туберкулез** – это глобальная проблема всех стран мира (ежегодно в мире регистрируется 8-10 млн случаев первичного инфицирования микобактериями туберкулеза).
3. В России сохраняется высокий уровень заболеваемости **туберкулезом**.
4. **Туберкулез** – это инфекция, которая чаще всего является причиной смерти и инвалидности.
5. **Туберкулез** может поражать любой орган и систему организма.

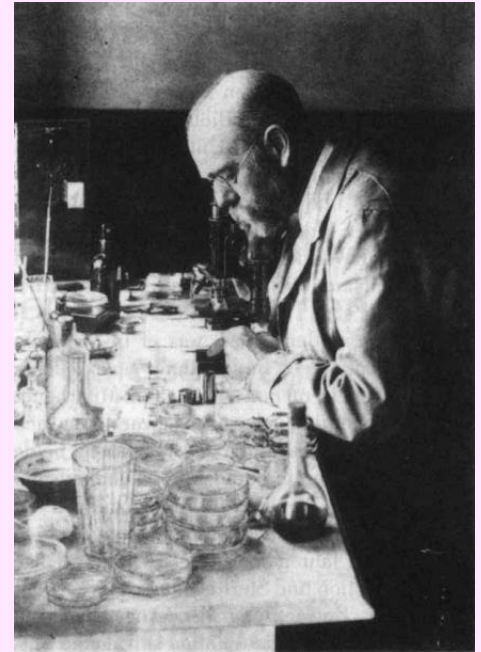
Причины распространённости туберкулеза:



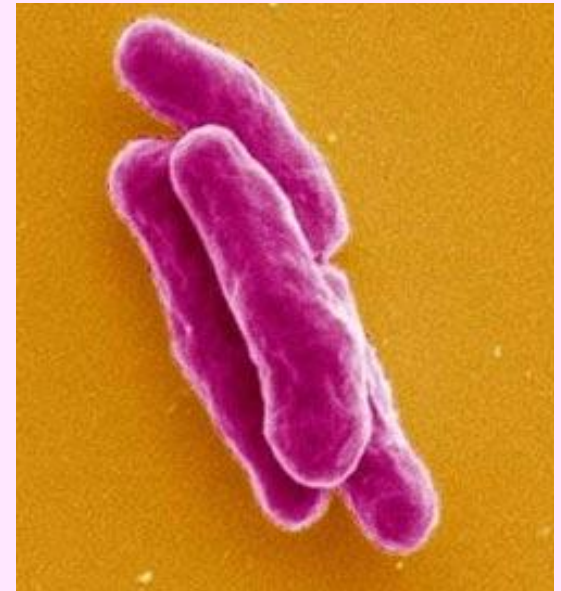
- 1. Сокращение объемов финансирования противотуберкулезных программ.**
- 2. Снижение социально-экономического уровня жизни граждан.**
- 3. Распространение лекарственно устойчивых штаммов микобактерий туберкулеза.**
- 4. Дефицит противотуберкулезных препаратов, дорогостоящее лечение.**
- 5. Распространение ВИЧ-инфекции (более 13 тыс. случаев ВИЧ-ассоциированного туберкулеза).**
- 6. Недостатки в работе первичного звена по диагностике и раннему выявлению туберкулеза.**

Историческая справка

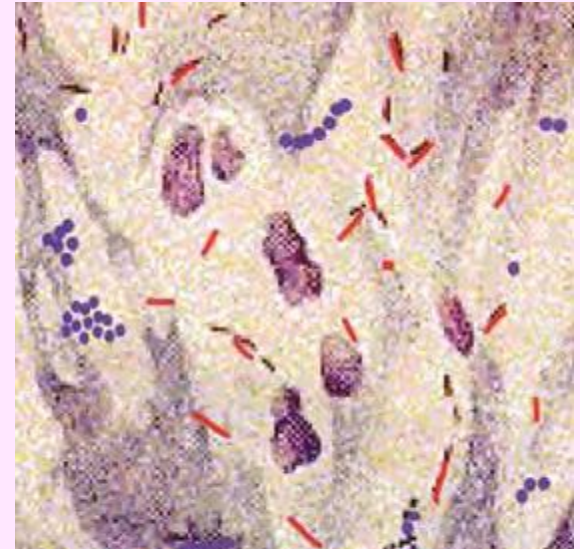
- Аретей Каппадокийский, Гиппократ – описали легочную форму;
- Ибн-Сина – считал туберкулез наследственной болезнью;
- Фракосторо – указал на его инфекционную природу;
- **1865 г.:** Вильмен – доказана инфекционная природа;
- **1882 г.:** Р.Кох – открыл туберкулезную палочку.
- Ц. Пирке, А. Кальметт и К. Герен – разработка методов диагностики, профилактики и лечения туберкулеза.



- **Порядок** – *Actinomycetales*
- **Семейство** – *Mycobacteriaceae*
- **Род** – *Mycobacterium*
- **Виды** – *M. tuberculosis* (92%),
M. bovis (5%),
M. africanum (3%).



- Характерен *полиморфизм и склонность к ветвлению*:
 - ✓ в свежих культурах – прямые или слегка изогнутые палочки размером 0,3-0,6×1-4 мкм;
 - ✓ нитевидная форма;
 - ✓ кокковидная форма;
 - ✓ зернистые формы (зерна Муха, не являются КУБ);
 - ✓ фильтрующиеся формы;
 - ✓ L-формы.
- Жгутики отсутствуют;
- Спор не образуют, имеют микрокапсулу;
- Кислото-спирто-щелочеустойчивы (клеточная стенка на 46% состоит из липидов в 3-х фракциях: фосфатиды, воски и жирные кислоты – туберкулостеариновая, фтионовая, миколовая и др.);
- Грамположительны;
- По Цилю-Нильсену – в красный цвет, зернистые формы – в фиолетовый;
- Окраска ауромином – желтый цвет.



Культуральные свойства

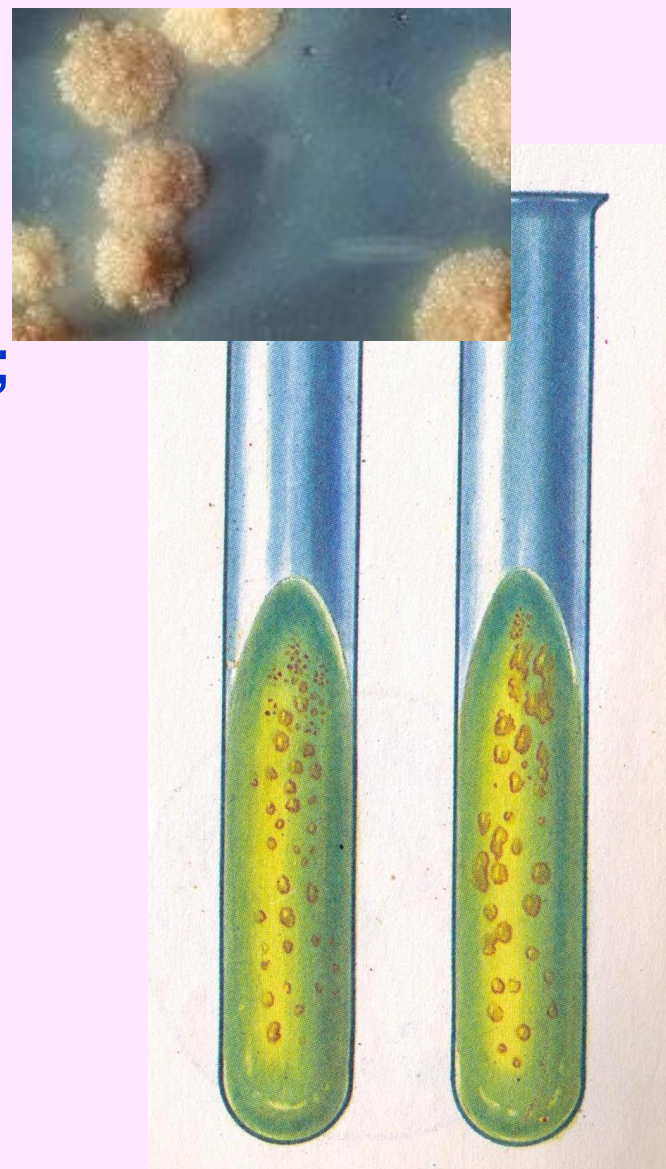
- Строгий аэроб;
- Оптимальная температура 37⁰С;
- рН 6,4-7,2;
- Видимый рост *M. tuberculosis* через 12-25 дней, *M. bovis* – через 24-40 дней;
- Рост стимулируется 5-10% СО₂ и 0,5% глицерина;
- Культивируются только на сложных питательных средах с глицерином:
 - среда Левенштайна-Йенсена,
 - среда Петраньяни,
 - среда Сотона.

Культуральные свойства

На плотных питательных средах:

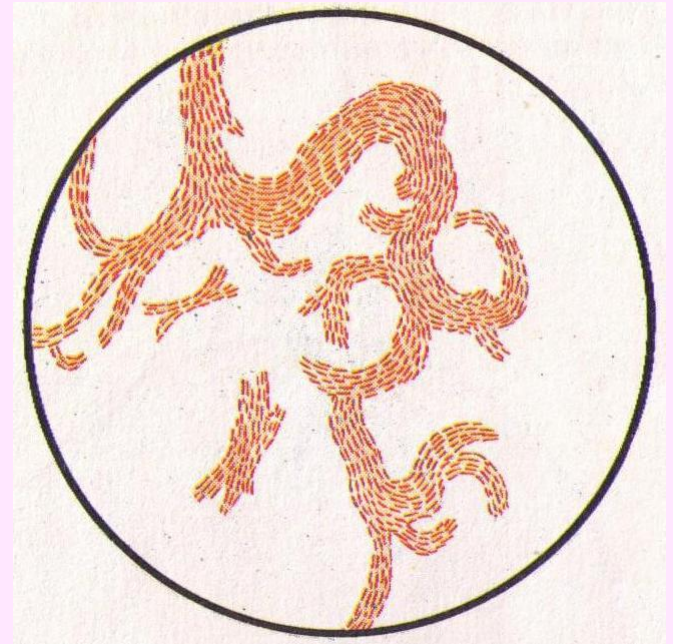
- ✓ *M. tuberculosis* – сухие морщинистые крошащиеся возвышающиеся колонии желтовато-кремового цвета с неровными изрезанными краями;
- ✓ *M. bovis* – небольшие слегка выпуклые бесцветные колонии с изрезанными краями.

В жидких средах: тонкая нежная желтоватая пленка, которая постепенно утолщается, становится морщинистой, ломкой, раствор остается прозрачным.



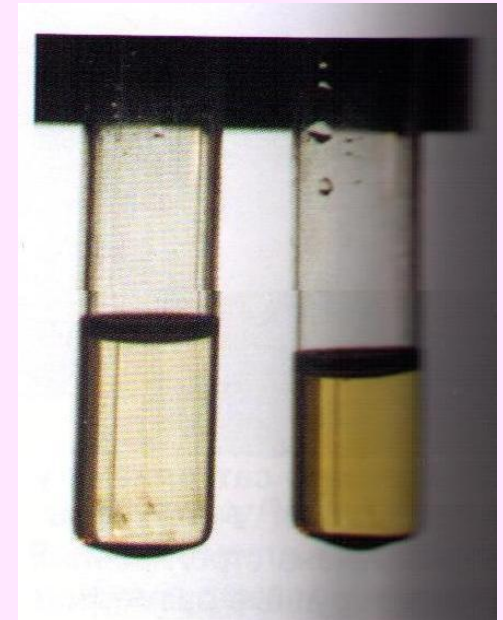
Культуральные свойства

Для выявления корд-фактора:
среда Прайса (агар с цитратной
кроличьей кровью) – рост в виде
кос или плетенных веревок.



Биохимическая активность

- *M. tuberculosis* обладает каталазной активностью, уреазой, никотинаминидазой, восстанавливает нитраты, накапливает в среде ниацин (ниациновый тест Конно – среда желтеет).
- *M. bovis* тоже обладает уреазой, но не восстанавливает нитраты, не продуцирует никотинаминидазу и не накапливает в среде ниацин.



Антигенная структура



**Белковые, полисахаридные, липидные
компоненты клетки, фосфатиды.**



Факторы патогенности

Токсины. Токсическими свойствами обладают химические компоненты клетки: туберкулопротеин, липидные фракции, корд-фактор (высокотоксичен).

Ферменты: лецитиназа, каталаза, пероксидаза.

Структурные и химические компоненты клетки:

- ✓ Миколовая кислота – склеивает микобактерии, образует клетки Пирогова-Лангханса;
- ✓ Корд-фактор – токсическое действие на ткани, блокирует окислительное фосфорилирование на митохондриях, защищает от фагоцитоза, подавляет миграцию лейкоцитов;
- ✓ Липиды (фосфатидный фактор, фтионовая кислота, мураминдипептид, воск Д) и полисахариды - образование эпителиоидных клеток, специфические гранулематозные изменения в тканях;
- ✓ Туберкулопротеин – развитие ГЗТ.

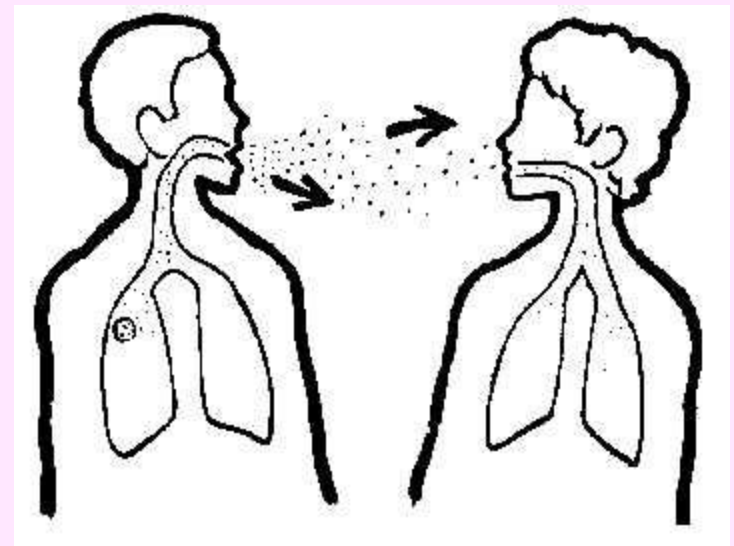
Резистентность

- Устойчивы к кислотам, щелочам, спиртам, высушиванию (в высохшей мокроте до 2 месяцев).
- Рассеянный солнечный свет - 8-10 суток, прямой – 5 минут.
- На белье, книгах – свыше 3 месяцев; в воде – более 1 года; в почве – до 6 месяцев; в желудочном соке – 6 месяцев; в масле – 10 месяцев.
- Выдерживают температуру жидкого азота (-190°C), при кипячении погибает через 5-7 минут, 50°C – 12 часов.
- 5% карболовая кислота, 1:1000 сулема – 1 сутки, 10% формалин – 12 часов, 5% фенол – 6 часов, 0,05% бензилхлорфенол – 15 минут.
- Губительно действуют стрептомицин, рифампицин, тубазид, фтивазид, ПАСК.

Источник инфекции – больной человек и животные.

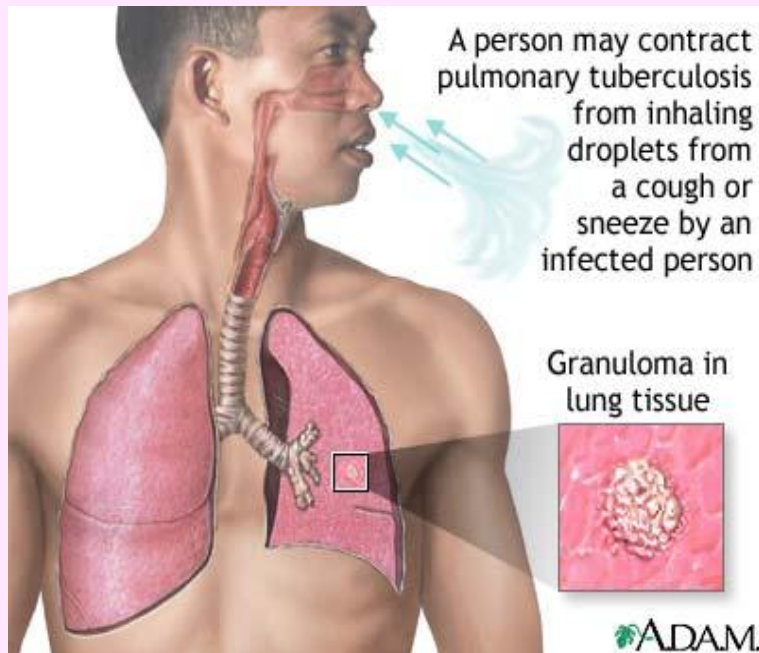
Механизмы передачи:

- Аэрогенный (пути – воздушно-капельный, воздушно-пылевой);
- Фекально-оральный (путь – алиментарный);
- Контактный (путь – не прямой контактный);
- Вертикальный (путь – трансплацентарный).



Патогенез и клинические особенности

- 85-95% случаев – туберкулез легких и внутригрудных лимфатических узлов.
- Остальные случаи – туберкулез костей, суставов, кишечника, мочеполовой системы и т.д.



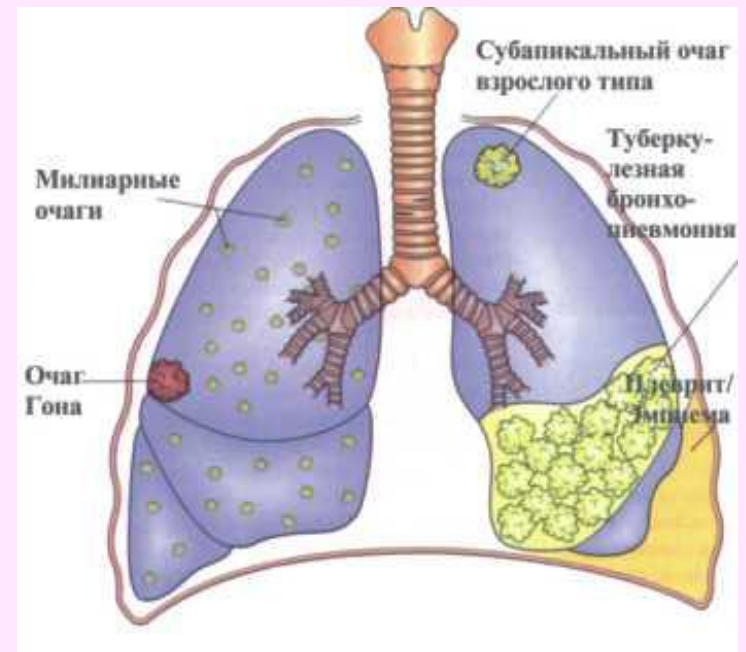
Первичный аффект – специфическая гранулема (бугорок): в центре – зона казеозного некроза с *M. tuberculosis*, окруженная зоной эпителиоидных и гигантских многоядерных клеток Пирогова-Лангханса, далее вал из лимфоцитов и мононуклеарных фагоцитов.

Патогенез и клинические особенности

Первичный туберкулезный комплекс:

- ✓ первичный аффект;
- ✓ лимфангоит;
- ✓ лимфаденит.

Первичный очаг окружается соединительнотканной капсулой и обызвествляется – формируется **очаг Гопа**.



Патогенез и клинические особенности



Прогрессия 4 путями:

- По лимфатическим сосудам.
- Гематогенный путь.
- Рост первичного аффекта вплоть до казеозной пневмонии.
- Смешанный путь.

Вторичный туберкулез развивается при повторном массивном инфицировании микобактериями, либо эндогенным путем из очага Гона и других локализаций первичного туберкулеза.

Иммунитет

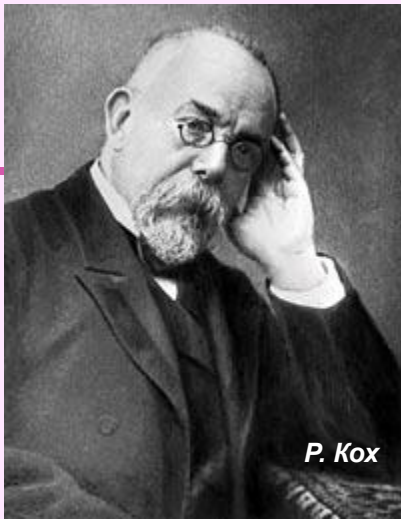


- **Значительный** *естественный иммунитет.*
- *Приобретенный иммунитет* – **клеточный нестерильный.**

Микробиологическая диагностика

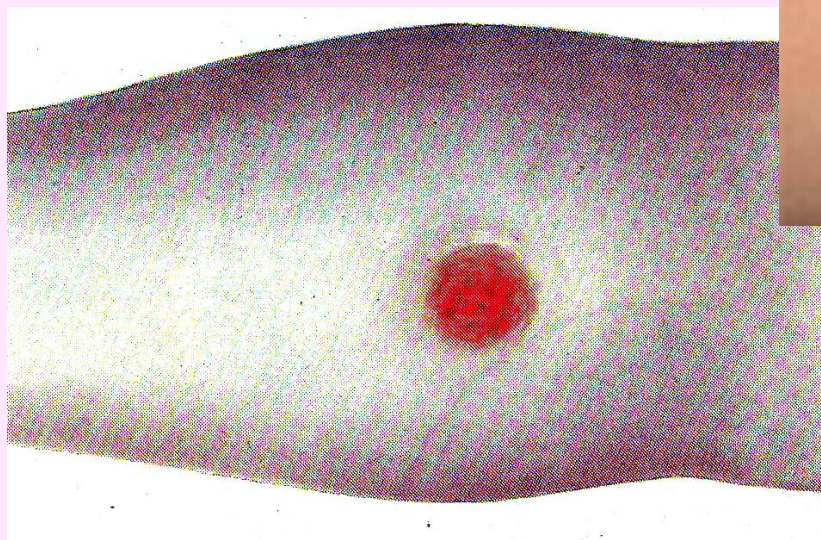
Исследуемый материал – мокрота, гной, моча, СМЖ, плевральная жидкость, промывные воды желудка, кусочки органов, кровь.

1. **Бактериоскопический метод.**
2. **Бактериологический метод (основной).**
3. **Ускоренный метод Прайса на обнаружение корд-фактора.**
4. **Биологический метод.**
5. **Серологический метод – РСК, РПГА, РДП в геле, ИФА, РИА, иммуноблотинг.**
6. **Молекулярно-биологический метод – ПЦР, ДНК-гибридизация.**
7. **Аллергологический метод – проба Манту с 2 ТЕ РРД-Л.**



- **1890 г.:** Р. Кох – *алть-туберкулин* – *накожная градуированная проба Пирке.*
- **1937 г.:** Ф. Зейберт – «очищенный протеиновый дериват» - *Purified Protein Derivative (PPD-S);*
- **1965 г.:** М.А. Линникова (*PPD-L*) – *кожная аллергическая проба Манту.*

Проба Манту с 2 ТЕ



Оценка пробы Манту с 2 ТЕ (Через 48-72 часа)



- **Отрицательная** – уколочная реакция.
- **Сомнительная** – инфильтрат 2-4 мм или только гиперемия любого размера.
- **Положительная** – инфильтрат 5 мм и более.
- **Гиперэргическая** – инфильтрат 21 мм и более или везикуло-некротическая реакция независимо от размера инфильтрата.

Специфическая профилактика



- **Плановая вакцинация** в возрасте 3-7 дней вакциной **БЦЖ (BCG – Bacille Calmette Geran)**
- **Первая ревакцинация** – в **7 лет** при отрицательной пробе Манту.
- **Вторая ревакцинация** – в **14 лет** при отрицательной пробе Манту и не получившим прививку в 7 лет.

Специфическое лечение

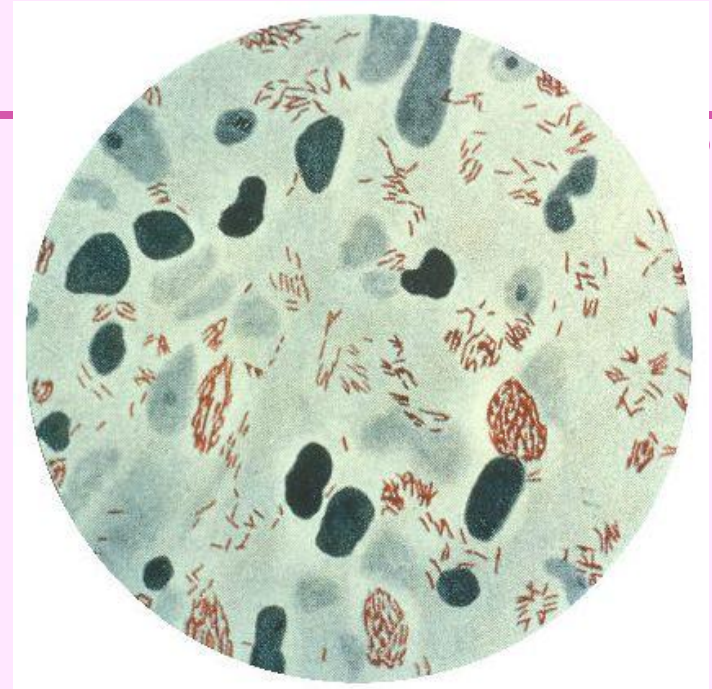


- **Специфическое лечение – не разработано.**
- **Неспецифическое лечение – АБ, ХТП:**
изониазид (тубазид), ПАСК, рифампицин, стрептомицин, этамбутол и др.

Лепра (проказа) – это хроническое генерализованное заболевание, характеризующееся специфическим гранулематозным поражением производных эктодермы (кожи, слизистых оболочек, периферической нервной системы) и патологическими изменениями во внутренних органах.



- *Инкубационный период – 3-5 и даже до 20-30 лет.*
- *Заражение: длительные и тесные бытовые контакты, воздушно-капельный путь.*
- **1873 г.:** норвежский врач Хансен – *M. leprae*.



M. leprae в мазках располагаются внутриклеточно параллельными рядами в виде «пачек сигарет». Скопления этих групп образуют, «лепрозные шары».

