

Возбудители бактериальных инфекций, передающихся аэрогенным механизмом (патогенные микобактерии, коринебактерии и бордетеллы)



С. В. Дутова,
Ю.В.Саранчина

1. Патогенные микобактерии

Филум **B14**. *Actinobacteria*

Класс *Actinobacteria*

Подпорядок *Corynebacterineae*

Семейство *Mycobacteriaceae*

Род *Mycobacterium* (микобактерии)

Виды *M. tuberculosis*, *M. bovis*

В практических целях род разделяют на 3 группы:

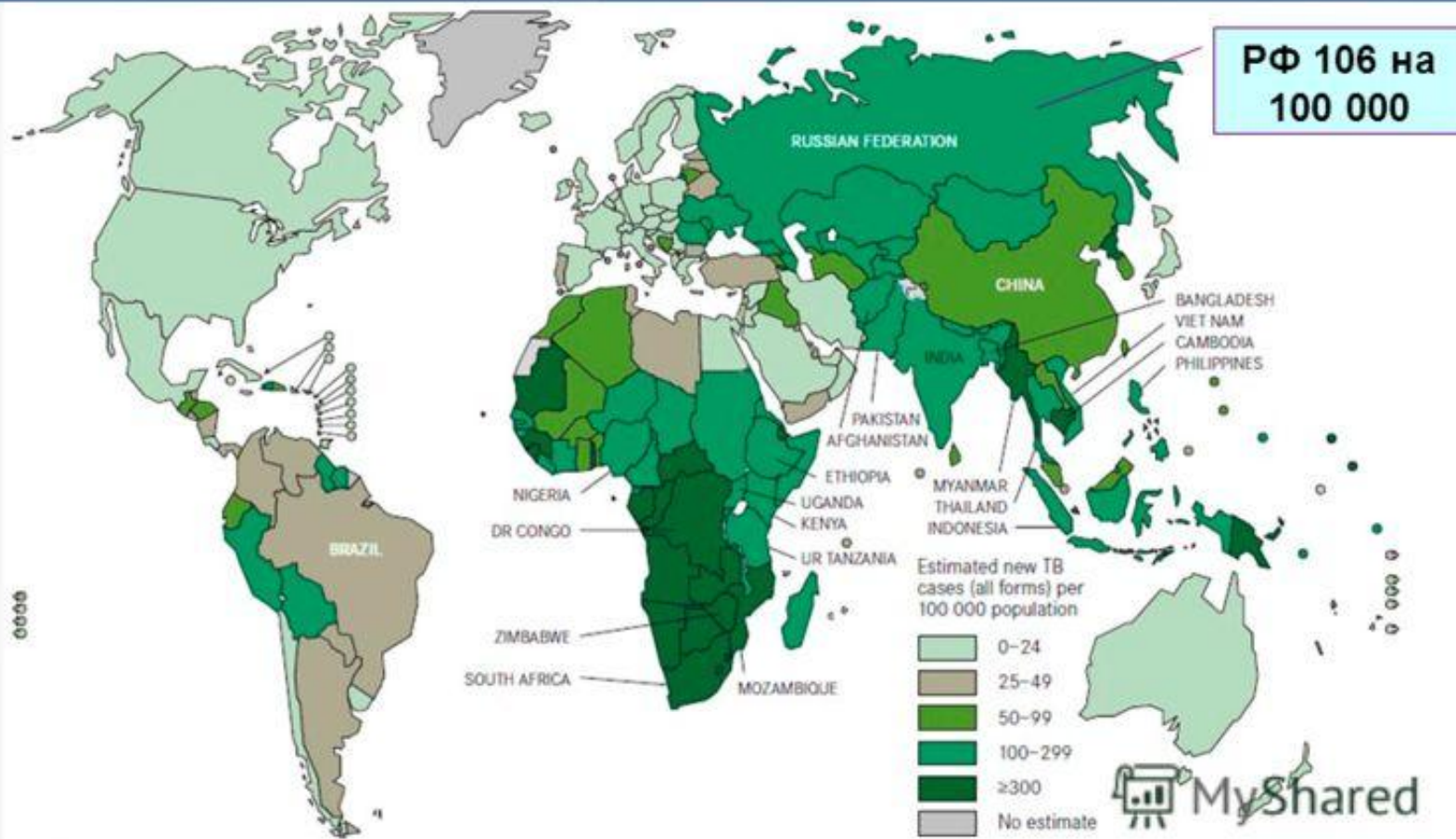
- 1. Медленнорастущие (7 дней) *M.tuberculosis*, *M.bovis*, *M.africanum* и др.**
- 2. Быстрорастущие (менее 7 дней) *M.vacciae*,**
- 3. Не культивируемые (*M. leprae*)**

1.1. Возбудители туберкулеза

Туберкулез — хроническое инфекционное заболевание, характеризующееся **обазованием специфических воспалительных изменений, часто имеющих вид маленьких бугорков, с преимущественной локализацией в легких и лимфатических узлах, протекающее с внутриклеточным (в макрофагах) паразитированием микобактерий.**

- Ежегодно на Земле заразными формами туберкулеза заболевают $8 \cdot 10^6$ человек,
- еще $10 \cdot 10^6$ заболевают туберкулезом без выделения микобактерий,
- $3 \cdot 10^6$ — $4 \cdot 10^6$ больных ежегодно умирают от туберкулеза.
- Заболеваемость туберкулезом в Германии составляла 17,4, во Франции — 15,2, Великобритании — 70,5, Нидерландах — 10,1, США — 10,5, Канаде — 7,7 на 100 000 населения.
- К сожалению, за последние 20 лет в мире не произошло существенного снижения числа заболевших туберкулезом.

Заболееваемость туберкулезом в мире (расчетный показатель по оценке ВОЗ на 100000, 2010г.)



ТУБЕРКУЛЁЗ



«[Рождение Венеры](#)», деталь, XV век. Флорентийка [Симонетта Веспуччи](#), с которой написана Венера, умерла в возрасте 22 лет от туберкулёза. Видимое на картине резко опущенное левое плечо даёт основания предполагать, что у натурщицы имело место туберкулёзное поражение плечевого пояса

Tubercular decay has been found in the spines of [Egyptian mummies](#). Pictured: Egyptian mummy in the [British Museum](#)



ИСТОРИЯ ПРОТИВОСТОЯНИЯ

Туберкулез сопровождает человека с доисторических времен. На диаграмме представлены основные вехи на пути противостояния человечества этой болезни

500 тыс. лет назад

К этому времени относится начало инфицирования *Mtb* предков человека

1882

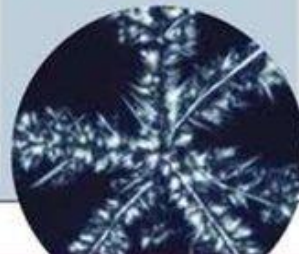
Роберт Кох идентифицировал возбудителя туберкулеза, *Mycobacterium tuberculosis*

1908

Альбер Кальмет и Камиль Герен создали противотуберкулезную вакцину (БЦЖ); как оказалось впоследствии, она надежно действовала только против тяжелых форм этого заболевания у детей

1921

Вакцина БЦЖ получает широкое распространение



1943

Группа ученых, возглавляемая Селманом Ваксманом, создала первый эффективный противотуберкулезный антибиотик — стрептомицин

ЗНАМЕНИТОСТИ — ЖЕРТВЫ ТУБЕРКУЛЕЗА

Туберкулез унес жизни многих блистательных писателей, композиторов, политических деятелей. Вот лишь немногие из них:

Все три сестры Бронте

Антон Чехов

Фредерик Шопен

Джон Китс

Людовик XIII, король Франции

Мольер

Джордж Оруэлл

Кардинал Ришелье

Жан-Жак Руссо

Эрвин Шредингер

Генри Дэвид Торо



1960е

Принята ко всеобщему применению схема лечения туберкулеза, действующая и сегодня: шести-девятидневный курс приема четырех антибиотиков

1970е

Получает распространение точка зрения, согласно которой с туберкулезом практически покончено

1981

Идентифицирован вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), заражение которым делает человека беззащитным перед любой инфекцией, в том числе и туберкулезной

1998

Определена нуклеотидная последовательность ДНК *Mtb*



СУРОВАЯ ДЕЙСТВИТЕЛЬНОСТЬ

- Треть населения Земли заражено туберкулезом; КАЖДЫЙ ДЕСЯТЫЙ ИЗ НИХ когда-нибудь в своей жизни заболит.
- Примерно в ЧЕТЫРЕХ ИЗ ДЕСЯТИ случаев туберкулез несвоевременно диагностируется и неверно лечится
- От туберкулеза умирает ОДИН ЧЕЛОВЕК КАЖДЫЕ 20 СЕКУНД

Mycobacterium tuberculosis, палочка

Коха (МБТ, ВК)— вид микобактерий, описан 24 марта 1882г. Робертом Кохом (24 марта объявлено ВОЗ Всемирным днем борьбы с туберкулезом).

Входит в группу близкородственных видов МТВС (*Mycobacterium tuberculosis complex*: *M. tuberculosis*, ***M. bovis***, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. pinnipedii* и *M. caprae*, способных вызывать туберкулез у человека и некоторых животных.

Является наиболее изученным видом из этого комплекса.

Бактерии, входящие в МТВС, имеют высокую степень родства (порядка 99,9 %) и идентичны по последовательностям 16sРНК.

Морфология

Тонкие, прямые или
незначительно

изогнутые **палочки**

длиной 1 —10 (чаще
1—4) мкм, шириной

0,2—0,6 мкм,

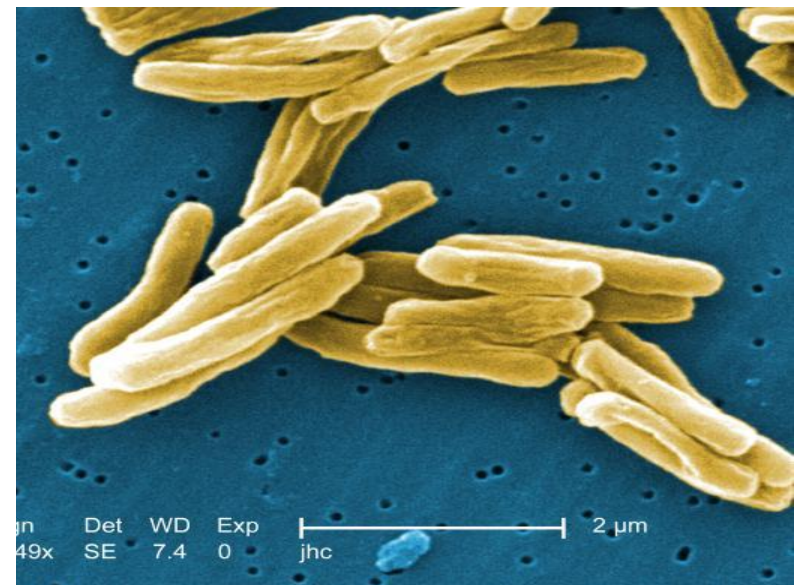
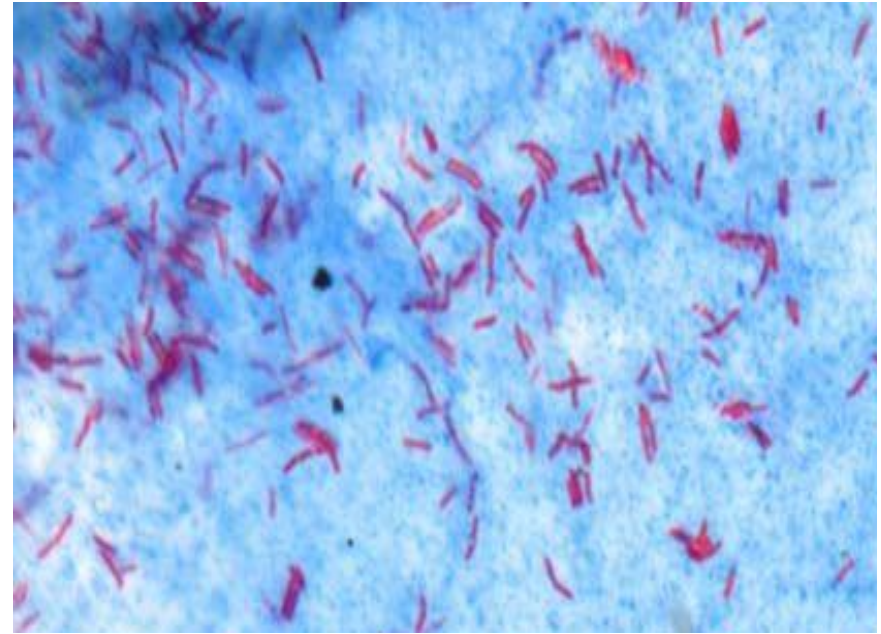
гомогенные или

зернистые со слегка

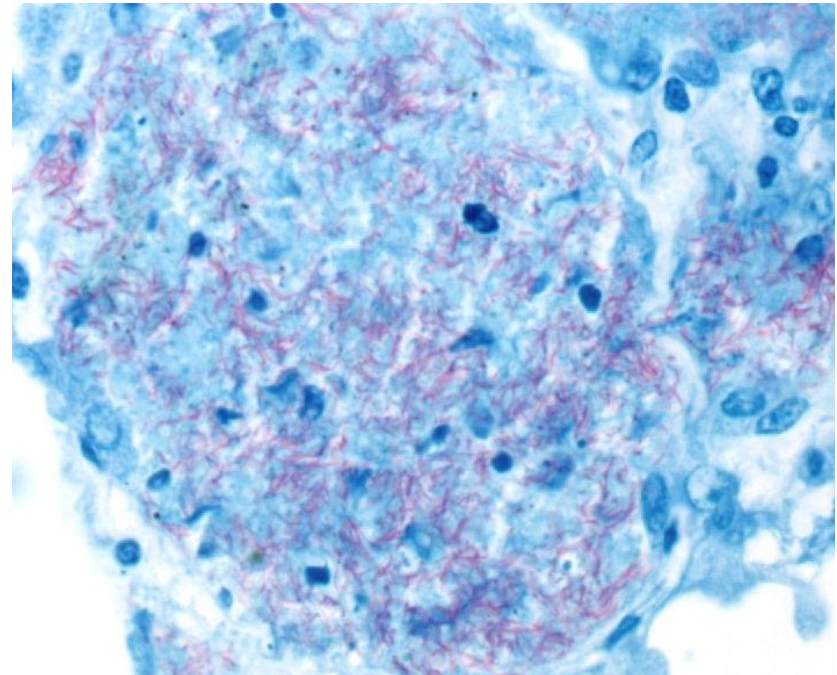
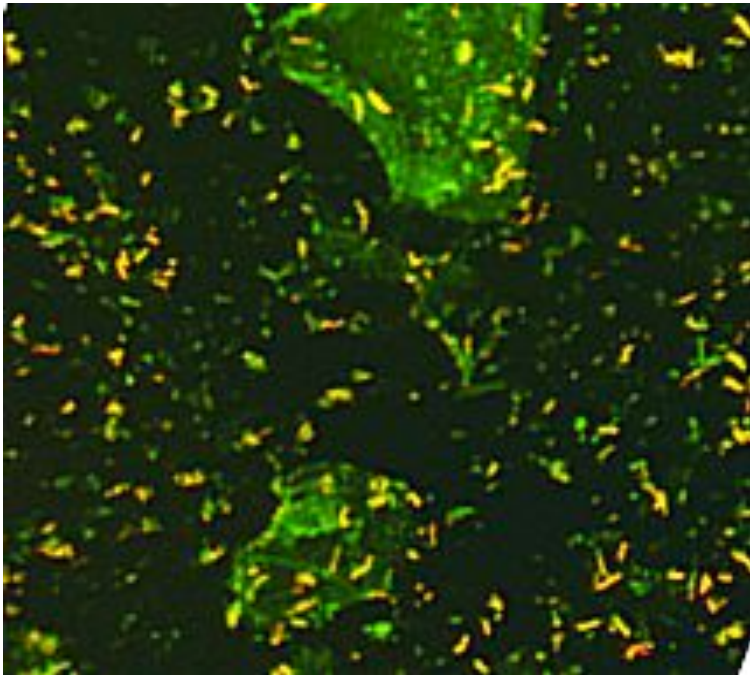
закругленными

концами.

Неподвижны,
не образуют эндоспор,
конидий и капсул.



**Тинкториально — слабо
грамположительные.** Для
дифференцировки окрашивают по **Цилю-
Нильсену** или используют окраску
флюорохромами.



Морфология и размеры бактериальных клеток значительно **колеблются**, что зависит от возраста клеток и особенно от условий существования и состава питательной среды.

Описаны многочисленные морфологические варианты микобактерий: **гигантские формы с колбовидно утолщенными разветвлениями, нитевидные, мицелиеподобные и булавовидные, дифтероидные и актиномикотические формы.**



МБТ могут образовывать L-формы, имеющие сниженный уровень метаболизма и ослабленную вирулентность.

МБТ могут существовать в виде очень мелких фильтрующихся форм, которые выделяются у больных, длительно принимавших противотуберкулёзные препараты.

Устойчивость

В естественных условиях при отсутствии солнечного света - несколько месяцев, при рассеянном свете — 1 месяц.

В уличной пыли микобактерии туберкулеза сохраняются до 10 дней, на страницах книг — до 3 мес, в воде — до 5 мес .

Под воздействием ультрафиолетовых лучей погибают через 2—3 мин.

При кипячении влажной мокроты микобактерии погибают через 5-25 мин.

3—5% растворы хлорамина, 10—20% растворы хлорной извести вызывают гибель микобактерии туберкулеза в течение 3—5 ч.

Культуральные свойства

Аэробы и мезофилы (30-42°C).

Размножаются очень медленно (период генерации 14—16 ч). Для получения обильного роста требуется не менее 4-6 недель.

Микроскопически **видимый** **рост** микроколоний, культивируемых **на жидких** средах при температуре 37°C, выявляется на **5—7-е сутки**, видимый рост колоний **на плотных средах**, культивируемых при той же температуре, — **на 14—20-е сутки**.

Культуральные свойства

Элективные питательные среды:

- содержащие глицерин,
- белковые (яичные, сывороточные, картофельные)
- безбелковые (синтетические) среды, в состав которых входят минеральные соли.

Наиболее широко применяются плотные яичные среды **Левенштейна—Йенсена, Огавы, Петраньяни и Гельбера**, разнообразные агаровые среды **Миддбрука**, синтетические и полусинтетические среды **Сотона, Дюбо, Проскауэра—Гека, Шулы, Школьниковой**.

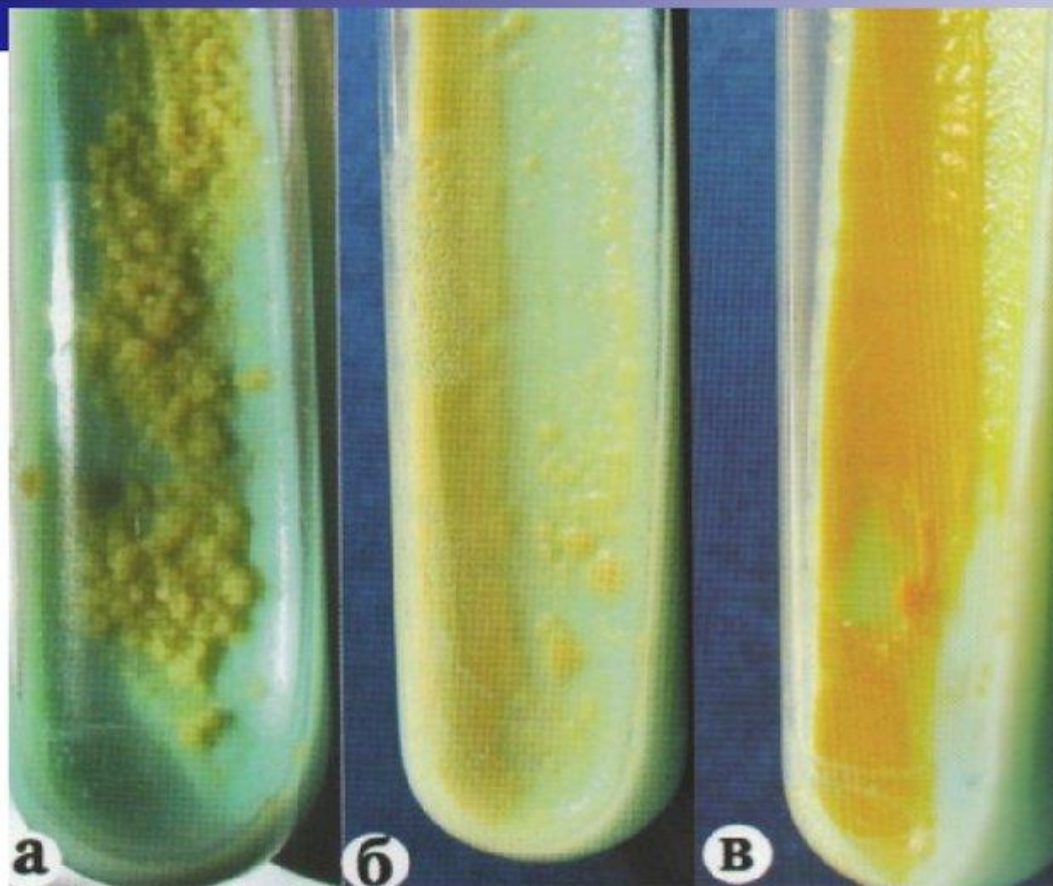
Для подавления роста посторонней микрофлоры в среды добавляют малахитовый зеленый или **генциановый фиолетовый**.

При повторном культивировании менее прихотливы и растут на обычных средах с добавлением глицерина.

Культуральные свойства

На плотных средах микобактерии туберкулеза растут в виде **светло-кремового морщинистого или суховатого чешуйчатого налета**, образуют колонии с **неровными краями**, приподнятые в центре, по мере роста они приобретают бородавчатый вид, напоминающий цветную капусту.





Рост микобактерий на среде Левенштейна-Йенсена (состоит из яичной основы, малахитового зеленого и добавок):

А) рост гранулированных, бородавчатых, сухих колоний *M. tuberculosis*;

Б, В) рост фотохромогенных, от гладких до неровных колоний

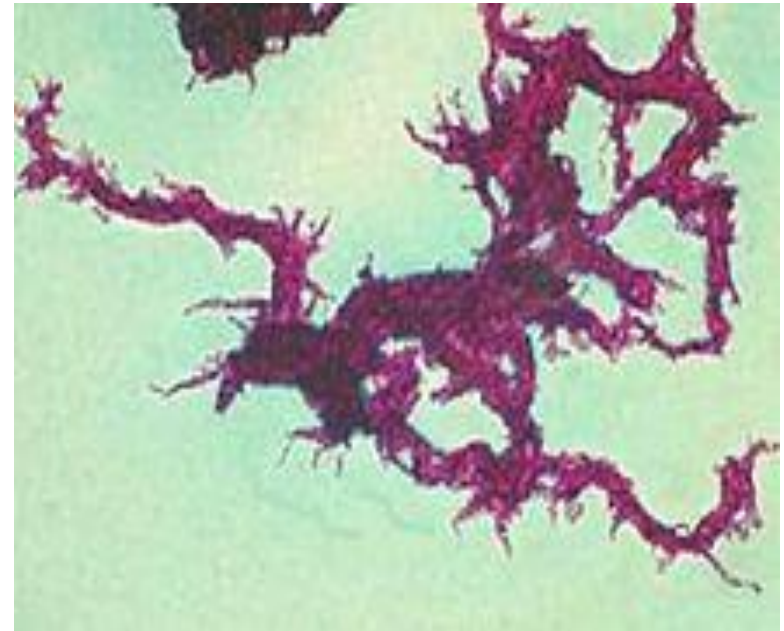
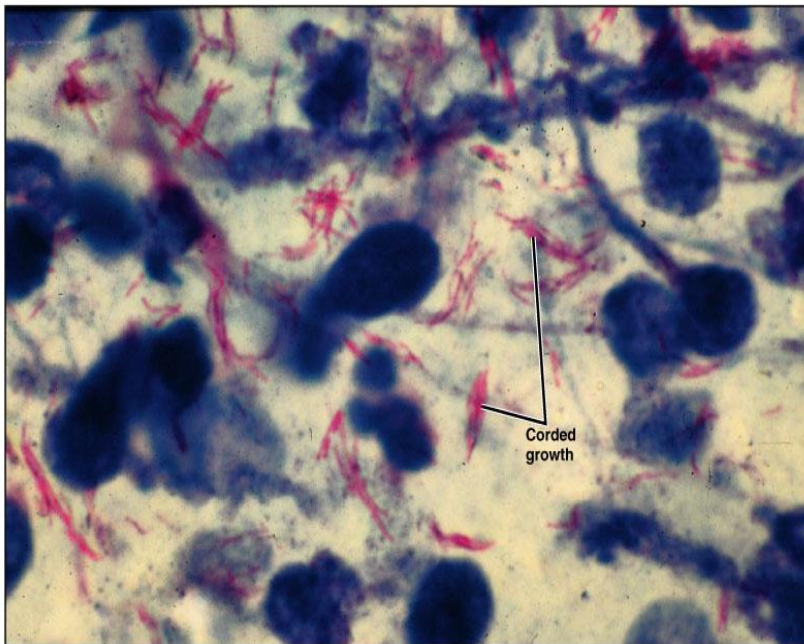


Среда Левенштейна — Йенсена

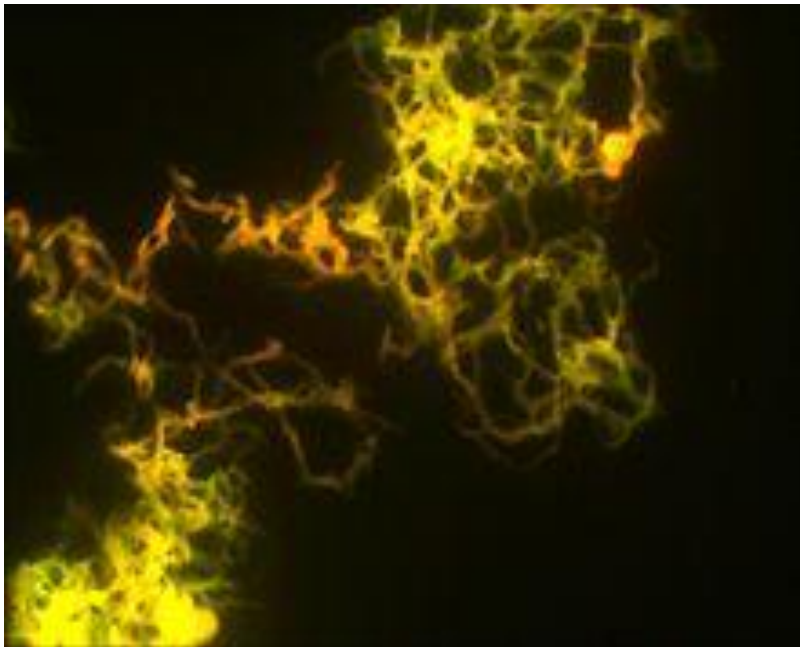
Культуральные свойства

На жидких питательных средах микробактерии туберкулеза растут в виде **сухой морщинистой пленки (Р-форма) кремового цвета**, поднимающейся на стенки сосуда, среда при этом остается прозрачной.

В микрокультурах по методу Прайса (на стекле в жидкой среде) образуют структуру, напоминающую **«КОСЫ»**



При внутриклеточном развитии микобактерии, а также при культивировании их на жидких средах хорошо выделяется характерный корд-фактор (трегалоза-6,6-димиколат).



Антигенная структура

различных видов микобактерий туберкулеза подобна.

- Основные носители антигенных свойств – **туберкулопротеины** (56% сухой массы клеток), вызывают ГЗТ.
- **липиды** (10-40%) сухой массы – развитие гранулем и казеозного некроза, подавляют активность фагоцитов.
- **фосфатидная и восковая фракции липидов** в комплексе с туберкулопротеинами вызывают сенсibilизацию организма.
- **с полисахаридами** связывают образование антител.

Факторы патогенности

Токсическими свойствами обладают компоненты клетки:

- ❖ **гликолипиды** (корд-фактор) – защита бактерий от фагоцитоза, блокирование энергетических процессов в митохондриях макрофагов, подавление миграции лейкоцитов,
- ❖ **липиды** (фтиоидная, миколовая фракции) – образование гигантских клеток,
- ❖ **фосфатиды** - образование эпителиоидных клеток.

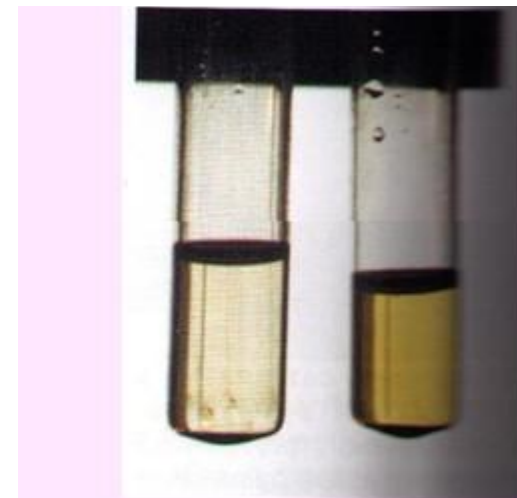
Биохимические свойства

Биохимическая активность **высокая**:

- ❖ ферментируют до кислоты этанол, глицерин, углеводы;
- ❖ синтезируют пероксидазу, уреазу, каталазу, ниациназу;
- ❖ восстанавливают нитраты, теллурит.

Ниациновую пробу используют для дифференциации микобактерий (ниацин синтезируют *Myc. tuberc.* и *Myc. microti*).

К культуре микобактерий в жидкой среде добавляют 1 мл р-ра KCN (цианистый калий) и 1 мл 5% р-ра хлорамина. При наличии ниацина появляется ярко-желтая окраска.



Эпидемиология

Источник возбудителя – человек с активной формой туберкулеза (чаще легочного) и больные животные

Механизмы передачи:

- аэрогенный,
- алиментарный,
- контактный.

Пути передачи :

- воздушно-капельный
- воздушно-пылевой
- пищевой
- прямой контакт
- контактно-бытовой
- трансплацентарный



- Вторым по значимости источником заражения является крупный рогатый скот, больной туберкулезом.
- При этом наибольшая опасность создается для животноводов и других работников, контактирующих с животными. В этом случае заражение также чаще происходит **воздушно-капельным** или **воздушно-пылевым** путем.
- Возможен и **алиментарный** путь заражения — при потреблении некипяченого или непастеризованного молока, или приготовленных из него продуктов.

Дополнение!

Наиболее опасно заражение туберкулезом в детском возрасте, особенно в раннем детском возрасте (до года и в 1—5 лет).

В этот период естественная резистентность еще несовершенна и не совершенствуется из-за недостаточного развития механизмов.

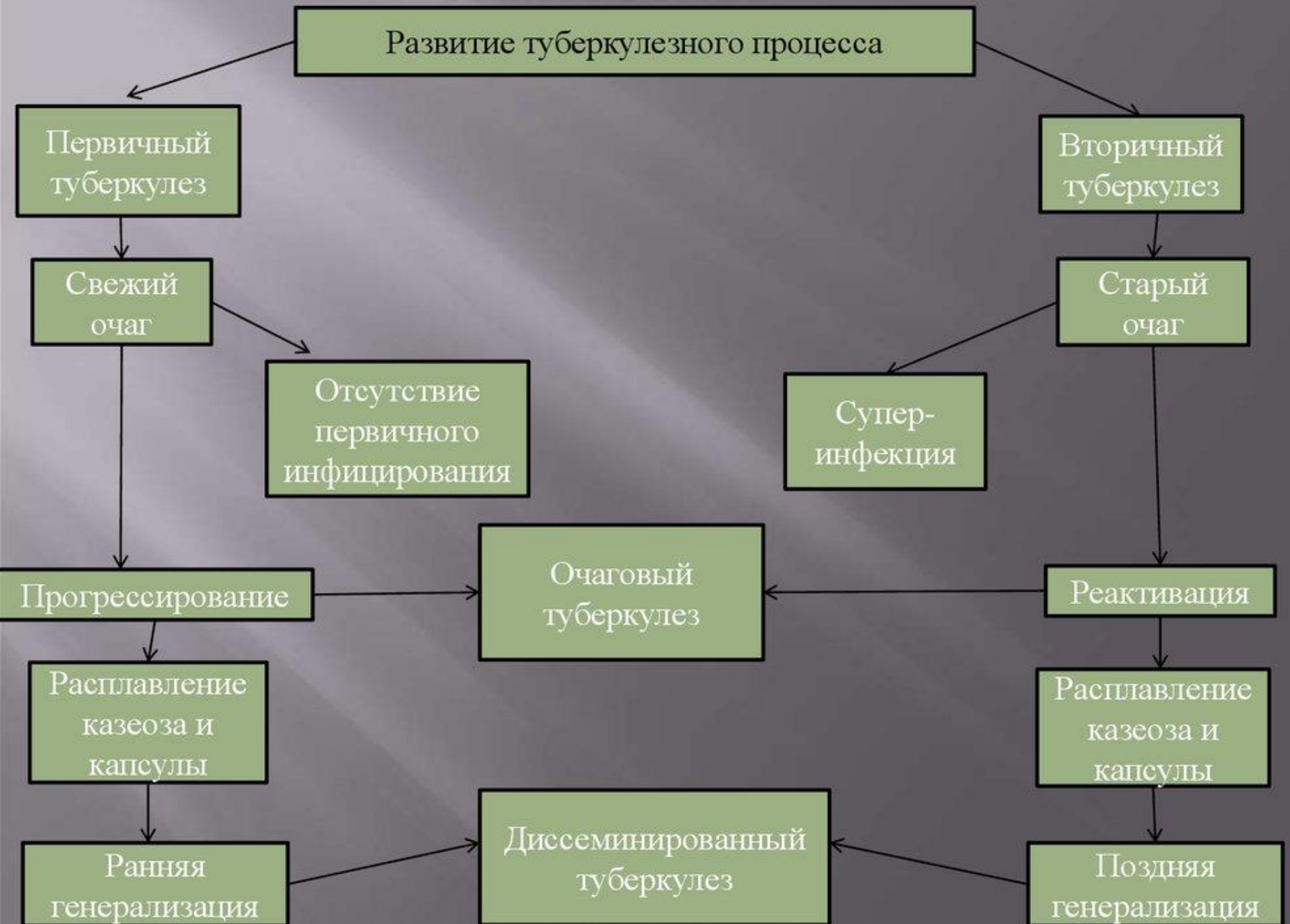
Дополнение!

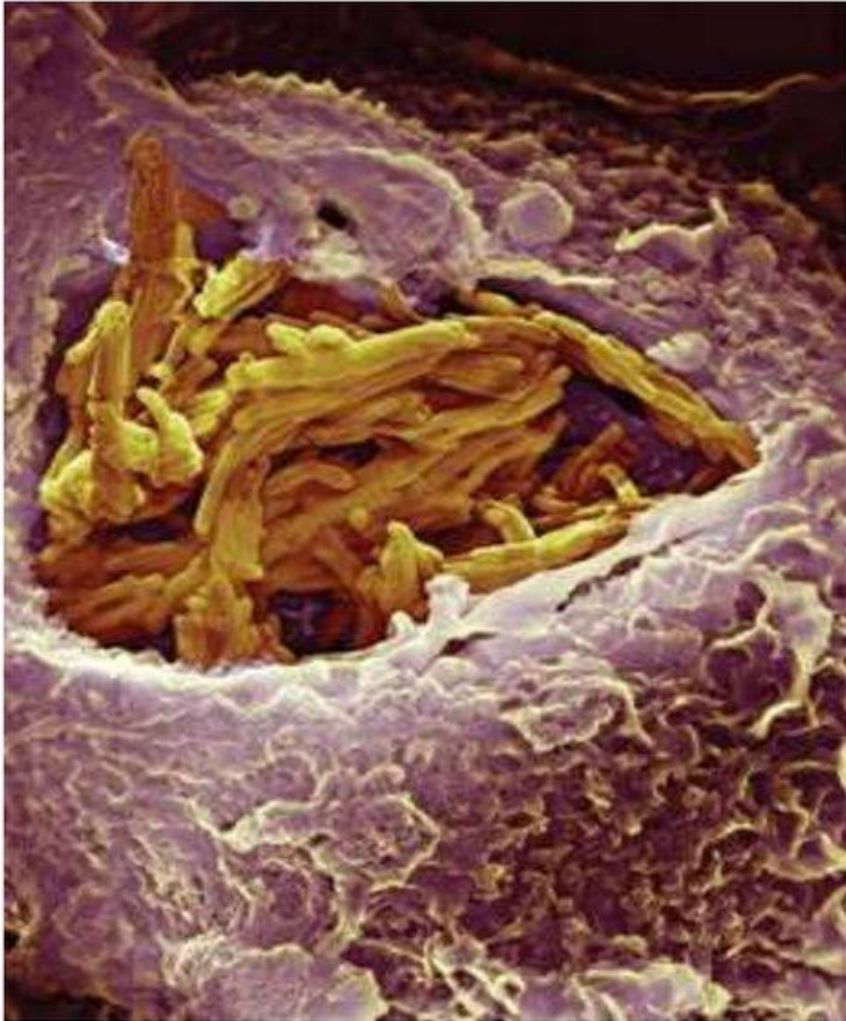
Патогенез

Взаимодействие микроорганизма и возбудителя при туберкулезе — это **классический пример внутриклеточной инфекции.**

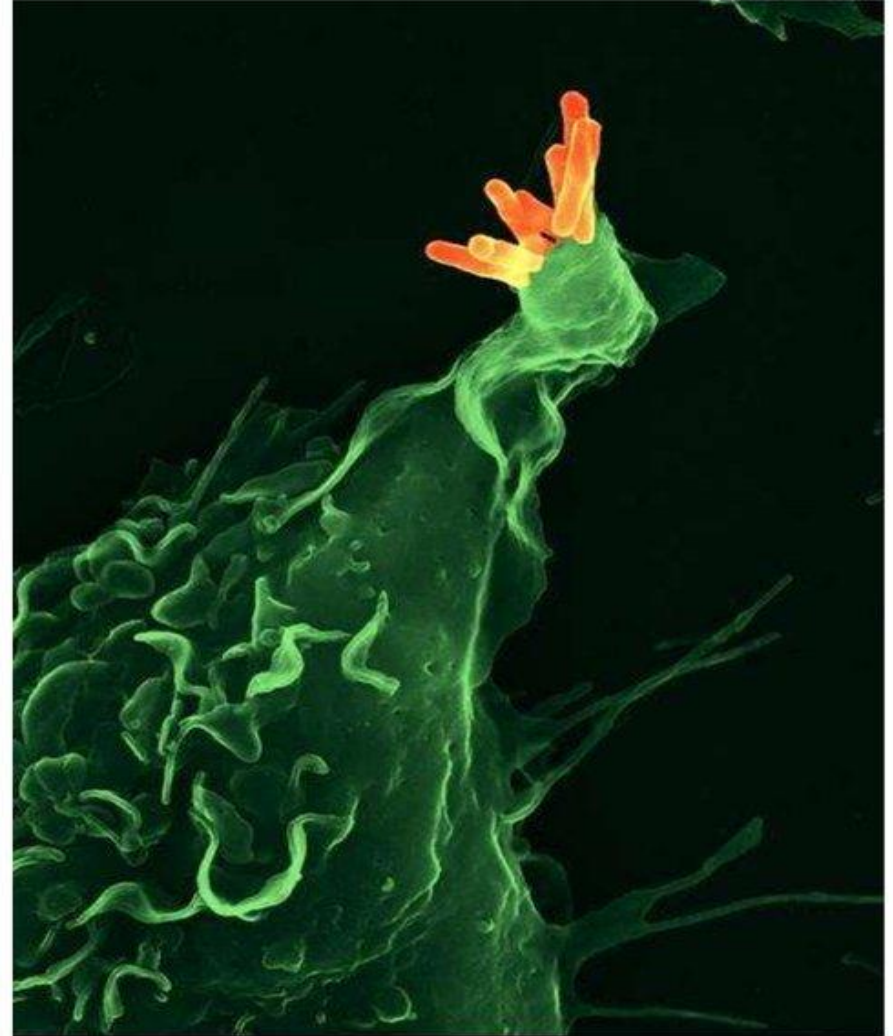
- Входные ворота – слизистые оболочки и кожа.
- **Первичный очаг** чаще возникает в **легких** (заражение чаще происходит **аспирационным механизмом**).
- В альвеолах м/о поглощаются макрофагами (фагоцитоз незавершенный) – **воспаление гранулематозного типа.**
- Образуется первичный **туберкулезный комплекс** : инфекционная гранулема (в центре - м/о, вокруг – вал из макрофагов, эпителиоидных клеток) и регионарный лимфангоит и лимфаденит.

Патогенез



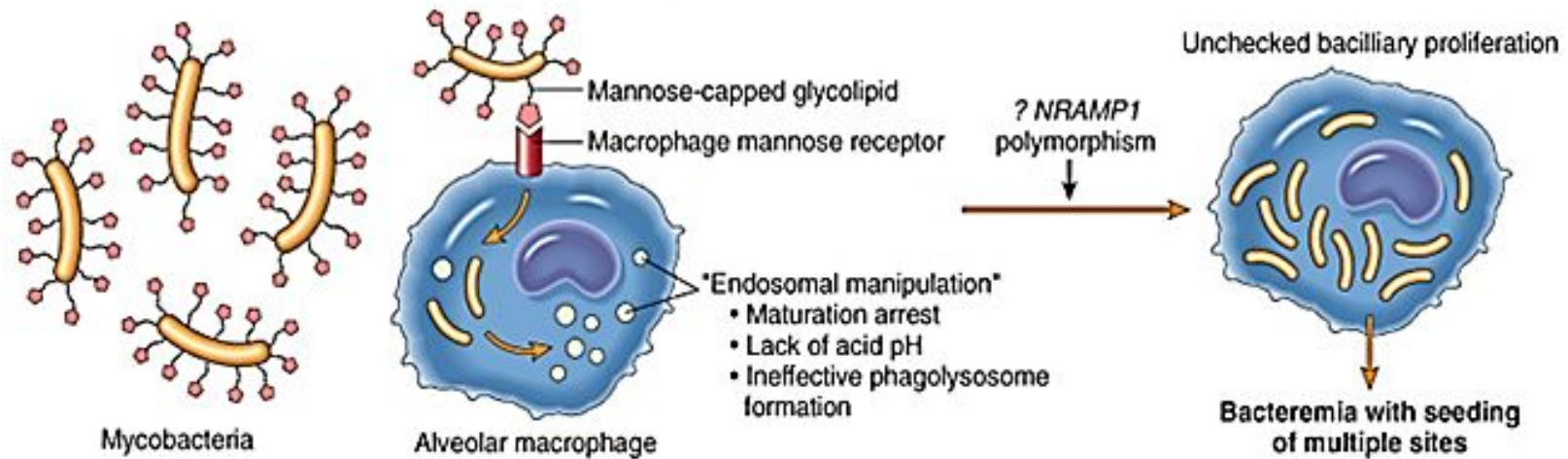


macrophage uptake of *M. tuberculosis*

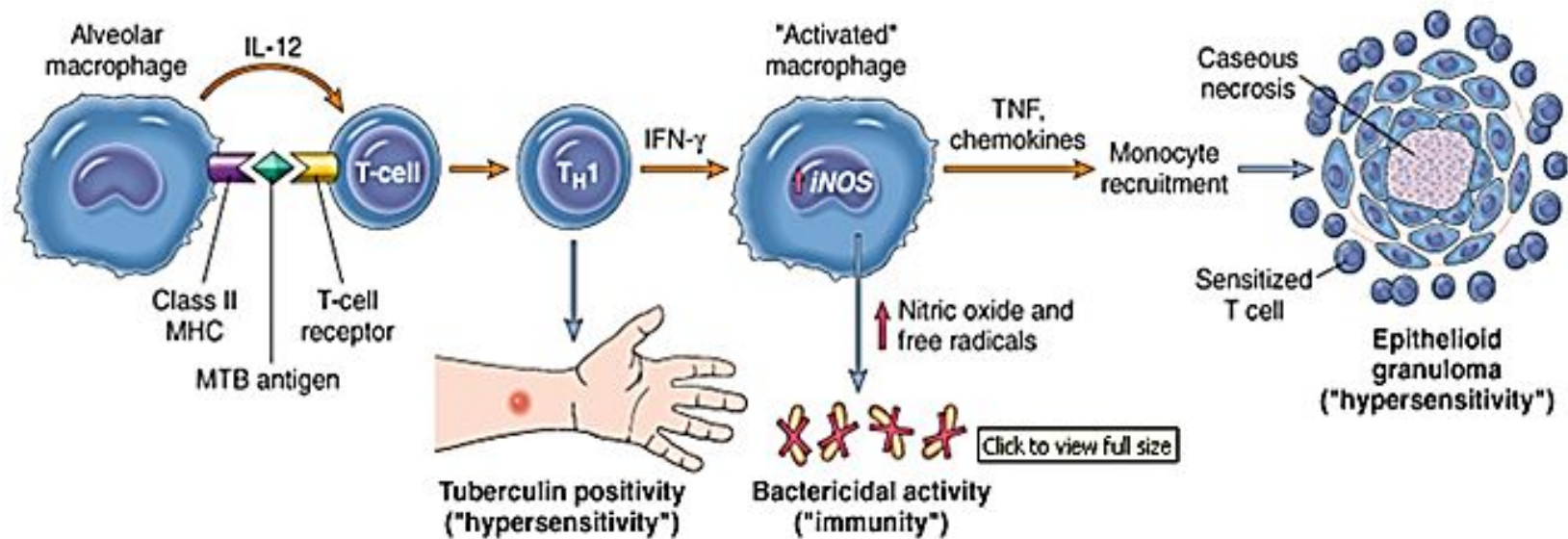


phagocytosis of *M. tuberculosis*

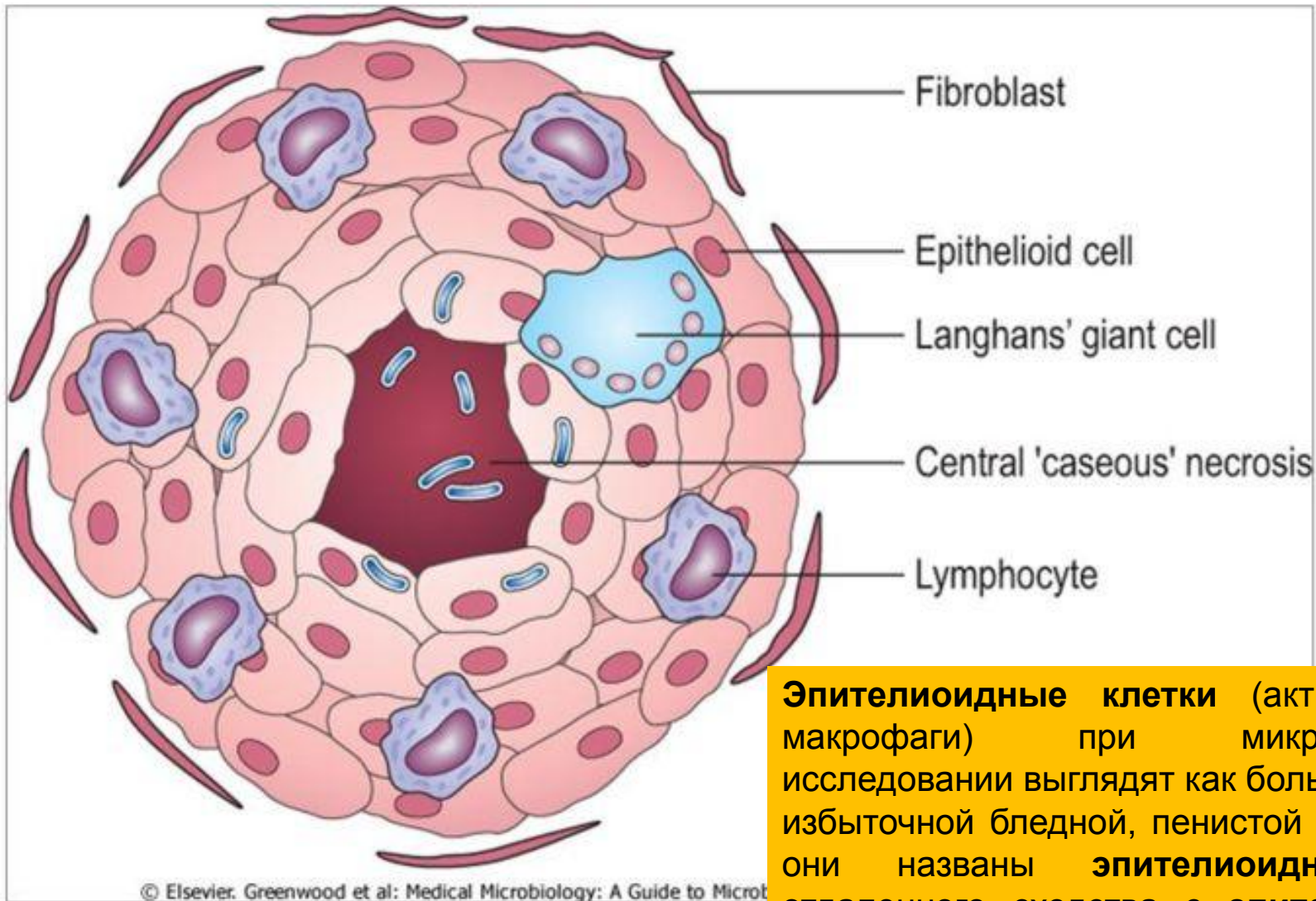
A. PRIMARY PULMONARY TUBERCULOSIS (0-3 weeks)



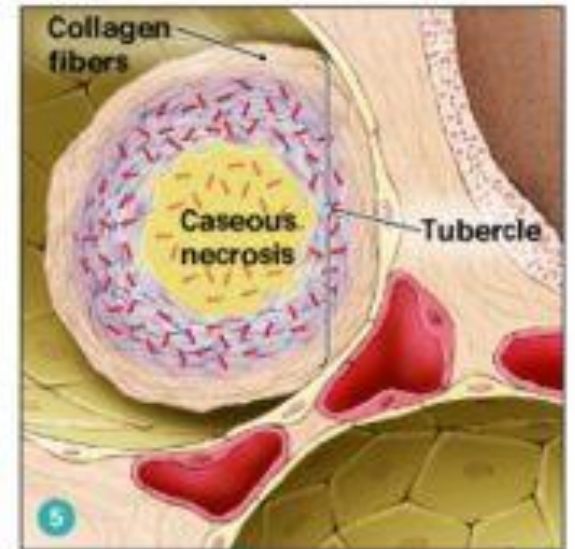
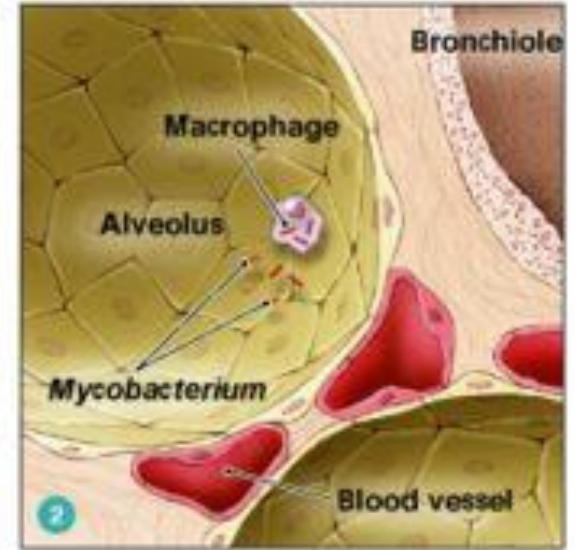
B. PRIMARY PULMONARY TUBERCULOSIS (>3 weeks)



Структура туберкулезной гранулемы



Эпителиоидные клетки (активированные макрофаги) при микроскопическом исследовании выглядят как большие клетки с избыточной бледной, пенистой цитоплазмой; они названы **эпителиоидными** из-за отдаленного сходства с **эпителиальными** клетками.



Патогенез

При **доброкачественном течении** первичного туб. комплекса происходит рубцевание очага, его кальцинация и затихание воспалительного процесса.

Освобождения организма от м/о не происходит.

Такие пациенты обладают:

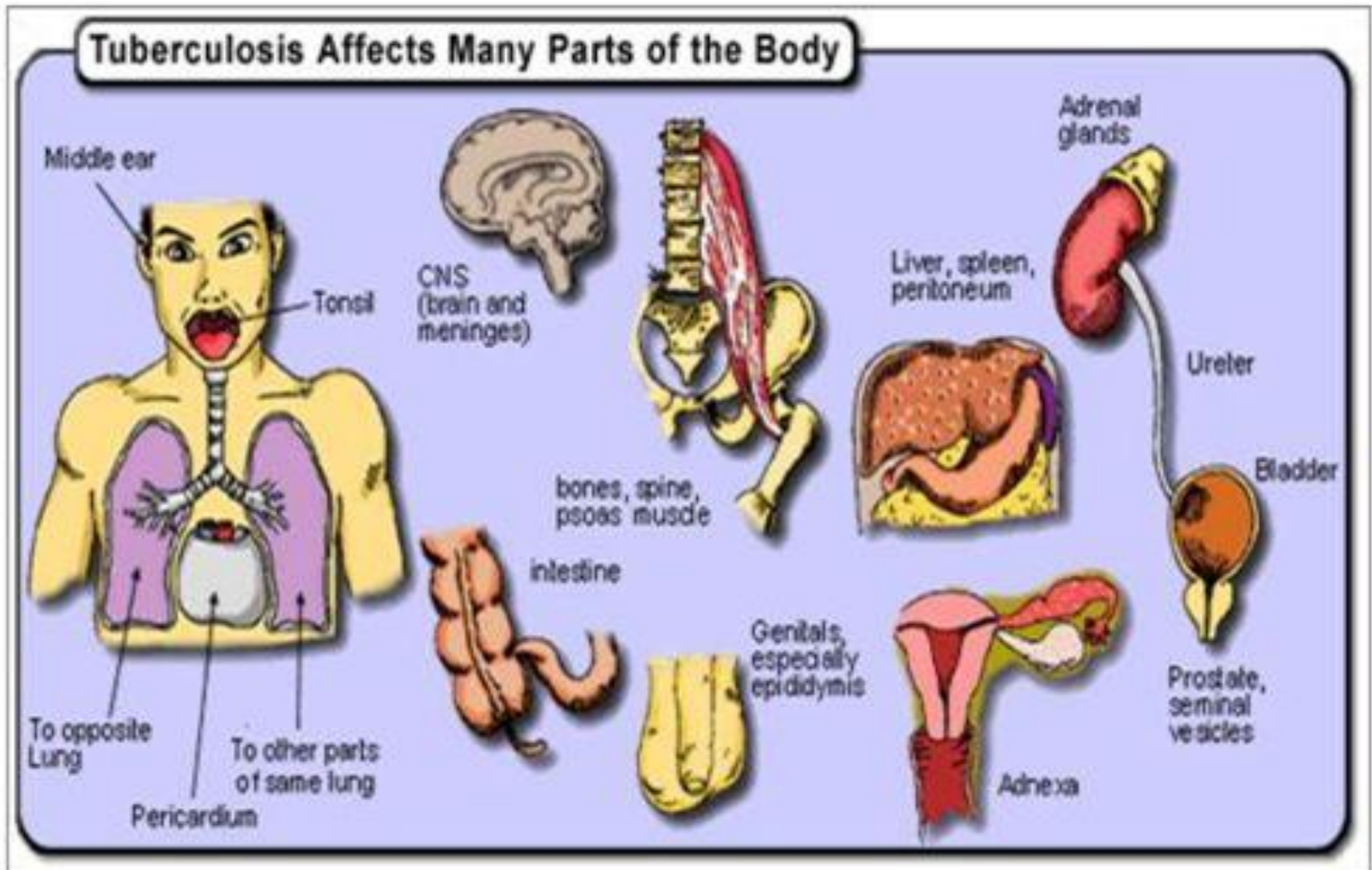
- нестерильным иммунитетом,

- потенциально скрытой формой туберкулеза.

• Другой исход первичного туб. комплекса – **увеличение первичного очага**, казеозный распад элементов гранулемы, прорыв в окружающие ткани и их обсеменение бактериями.

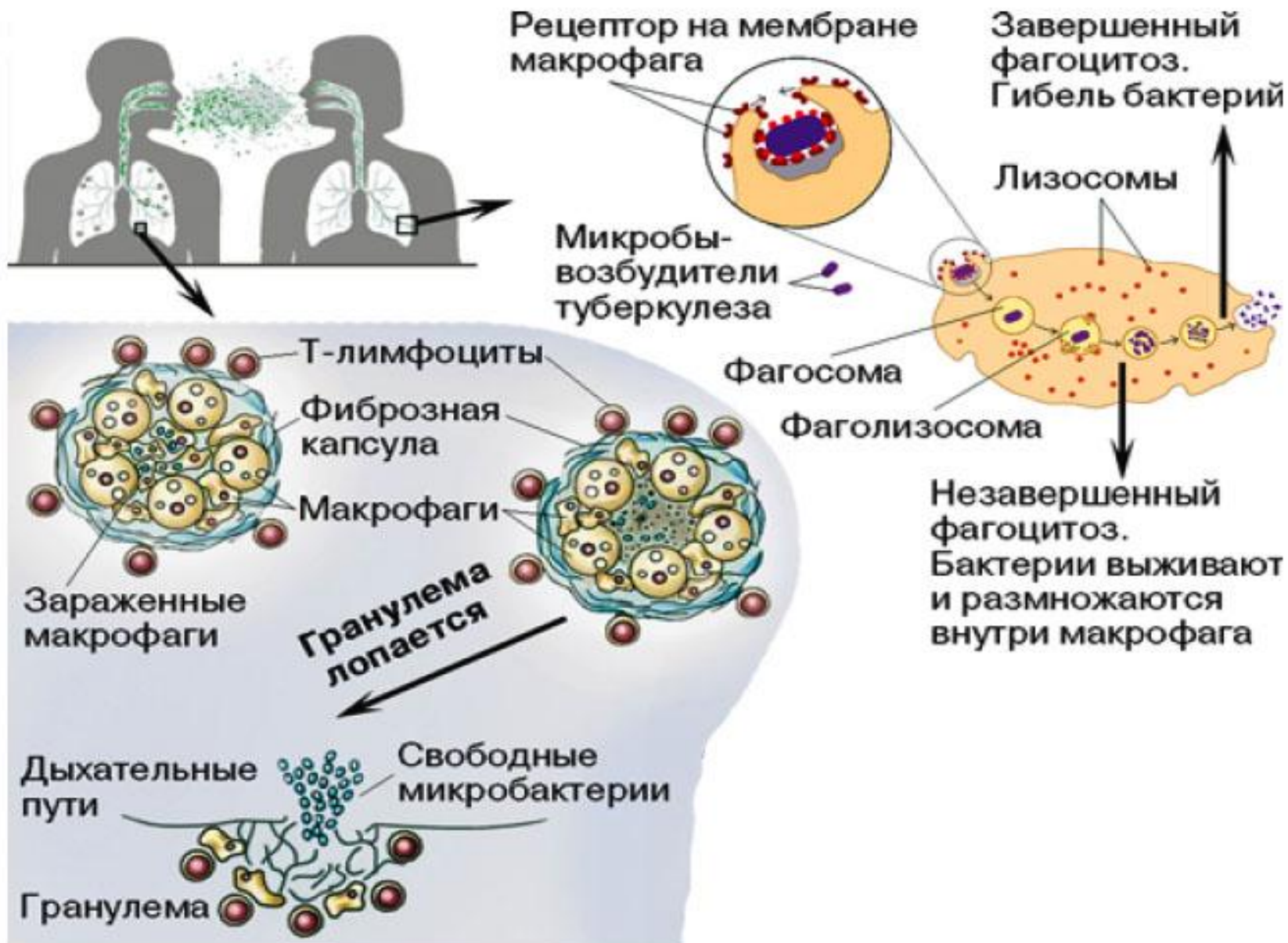
• Процесс может распространиться на весь орган, лимфогенно и гематогенно **м/о могут распространиться по организму, вызывая туберкулез органов дыхания, мочеполовой системы, кишечника, костей, суставов, мозговых оболочек, кожи, глаз.**

Внелегочные формы туберкулеза



Патогенез

- **Вторичный туберкулез** возникает обычно при реактивации эндогенного очага, реже при реинфицировании.
- **Протекает как хроническое заболевание.**
- В зоне реактивации образуется конгломерат растущих гранулем, затем образуется крупный очаг казеозного распада.
- Затем образуется полость (**каверна**), которая в дальнейшем окружается фиброзной тканью, что препятствует ее рубцеванию.
- **В кавернах м/о бурно размножаются, выделяясь с мокротой и превращая больного в источник инфекции.**
- При вторичном туберкулезе возможна генерализация процесса, образование новых легочных каверн или развитие фатальной бронхопневмонии (скоротечная чахотка).



В зависимости от места внедрения микобактерий туберкулеза воспалительный очаг, или первичный аффект, может образоваться в легких, ротовой полости, миндалинах, кишечнике и др.

В ответ на образование первичного аффекта развивается специфический процесс в регионарных лимфатических узлах и формируется первичный туберкулезный комплекс.

Дополнение!

Установлено, что первичный туберкулез, развивающийся в результате первого контакта макроорганизма с возбудителем, может проявляться не только в виде первичного туберкулезного комплекса, как это считалось ранее. В результате первичного заражения возможно развитие туберкулеза внутригрудных лимфатических узлов, плеврита, туберкулемы, очагового процесса.

Дополнение!

Первичный туберкулез в результате «свежего» заражения развивается лишь у **7–10% инфицированных лиц**, остальные переносят первичную туберкулезную инфекцию без клинических проявлений.

Наступившее заражение проявляется лишь в изменении туберкулиновых реакций.

Дополнение!

Получены доказательства роли наследственности в течение туберкулезного процесса.

Генетические факторы влияют на ответ иммунной системы и, в частности, определяют комплексный иммунный ответ, от которого зависит чувствительность или устойчивость к развитию туберкулеза.

Выявлено сцепление HLA-генотипов с заболеванием туберкулезом в семьях, в которых больны туберкулезом родители и дети.

Дополнение!

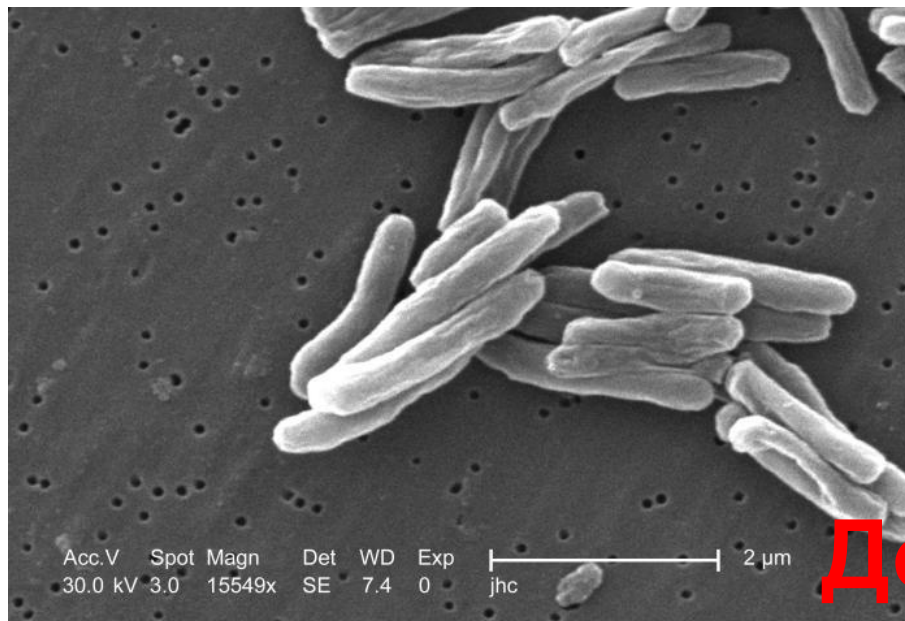
Период первичного инфицирования может завершиться излечением с минимальными или довольно выраженными остаточными изменениями.

Сохранение персистирующих микобактерий поддерживает приобретенный иммунитет и создает риск эндогенной реактивации туберкулезного процесса вследствие реверсии измененных форм возбудителя туберкулеза в бактериальную форму и размножения микобактериальной популяции.

Дополнение!

Возможен и другой путь развития вторичного туберкулеза — экзогенный, связанный с новым (повторным) заражением микобактериями туберкулеза (суперинфекция).

Вторичный туберкулез характеризуется большим разнообразием клинических форм.



Дополнение!

Основные разновидности патоморфологических изменений в легких и других органах характеризуются:

а) очагами с преимущественно продуктивной тканевой реакцией;

б) инфильтративно-пневмоническими изменениями с преимущественно экссудативной тканевой реакцией;

в) туберкулезной каверной.

Дополнение!

Из сформировавшихся зон поражения микобактерии могут распространяться с током лимфы или крови в непораженные участки и различные органы. Исход болезни зависит от ее течения — прогрессирующего или регрессирующего, эффективности лечения и обратимости изменений, сформировавшихся в процессе болезни.

Дополнение!

К факторам, способствующим реактивации, относятся недостаточное питание и различные заболевания: сахарный диабет, лимфогранулематоз, силикоз, ЯБЖ и ДПК, состояние после резекции желудка и ДПК, хронические воспалительные заболевания легких, психические заболевания, протекающие с депрессивным синдромом, алкоголизм, стрессовые ситуации, СПИД, длительный прием ГК, цитостатиков и иммунодепрессантов.

Дополнение!

Иммунитет

Из всех инфицированных (80% населения старше 20 лет) болеет не более 10%.

Существует генетическая предрасположенность к заболеванию.

Постинфекционный иммунитет имеет ряд особенностей:

- ❖ АТ не играют решающей роли (АТ к корд-фактору оказывают токсическое действие на м/о, АТ к полисахаридам усиливают фагоцитоз и активируют систему комплемента)
- ❖ сенсibilизация в виде ГЗТ (формируется и после введения вакцины – проа Манту)
- ❖ **иммунный ответ в основном клеточный (Т-лимфоциты распознают и уничтожают инфицированные м/о клетки)**

**Важная практическая проблема —
иммунодиагностика туберкулеза:**

- известен целый ряд заболеваний, имеющих сходную с туберкулезом клинико-рентгенологическую симптоматику,**
- вакцинация и инфицирование атипичными микобактериями (и другими микроорганизмами, имеющими перекрестные антигены с микобактериями) затрудняют изучение иммунного ответа на антигены микобактерий туберкулеза.**

Дополнение!

Профилактика

- 1. Мероприятия, проводимые среди всего населения.**
- 2. Мероприятия, осуществляемые в группах населения с повышенным риском развития туберкулеза.**
- 3. Меры, предпринимаемые в очагах инфекции.**

Профилактика



Вакцина БЦЖ (BCG) живая, содержит вакцинный штамм бациллы Кальметта—Герена (*Mycobacterium bovis BCG*), полученный в результате длительного (13 лет) культивирования которая утратила вирулентность для человека, будучи специально выращенной в искусственной среде.

Вакцину вводят внутрикожно, всем здоровым новорожденным на 3-7 сутки жизни.

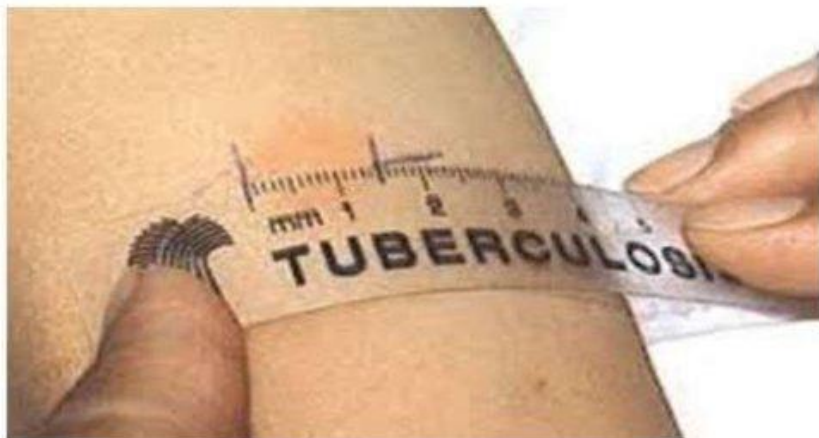
Ревакцинация в 7 и 14 лет детям с отрицательной реакцией на пробу Манту.



На фото медицинский работник вводит туберкулин.



Проведение вакцинирования в роддоме.



На фото реакция Манту. Замер папулы через 72 часа после введения туберкулина.



Замер рубчика после прививки БЦЖ.

Проба Манту

Проба Манту

- при диаметре папулы от 0 до 1 мм реакция считается отрицательной,
- от 2 до 4 мм — сомнительной,
- от 5 мм и более — положительной.
- гиперергическими у детей и подростков считают реакции с диаметром инфильтрата 17 мм и более, у взрослых — 21 мм и более, а также везикулонекротические реакции независимо от размера инфильтрата с лимфангоитом или без него.

Дополнение!

В **СССР** была принята массовая поголовная вакцинация новорождённых в родильных домах с **1962**.

Европейские страны, применяющие массовую вакцинацию новорожденных в настоящее время¹

[Азербайджан](#)Азербайджан, [Беларусь](#)Азербайджан, Беларусь, [Болгария](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, [Венгрия](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, [Ирландия](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, [Латвия](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, [Литва](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, [Польша](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Польша, [Португалия](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Польша, Португалия, [Румыния](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Польша, Португалия, Румыния, [Словакия](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Польша, Португалия, Румыния, Словакия, [Эстония](#)Азербайджан, Беларусь, Болгария, Венгрия, Ирландия, Латвия, Литва, Польша, Португалия, Румыния, Словакия, Эстония

Дополнение!

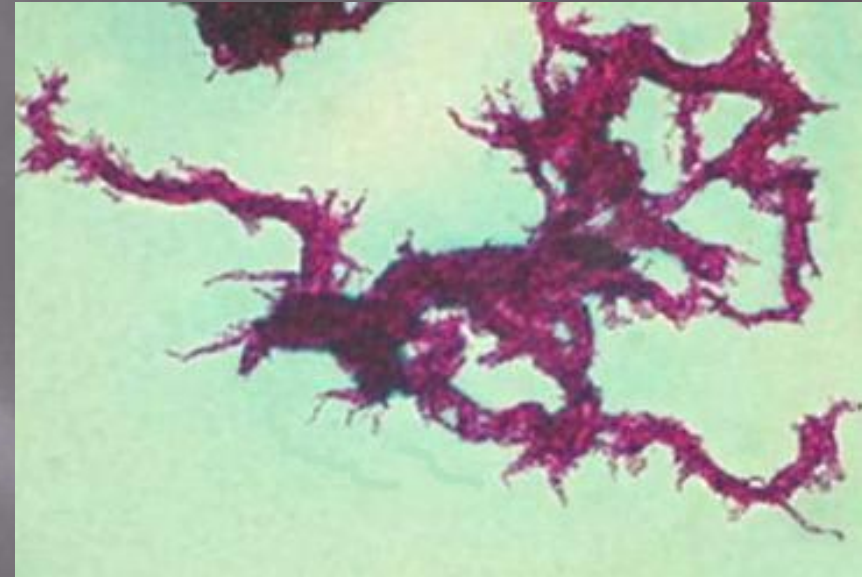
Микробиологическая диагностика

- **Бактериоскопический метод:** микроскопия мазков (окраска по Цилю—Нильсену) из патологического материала, в том числе из мокроты, обогащенной гомогенизацией или флотацией.
- **Бактериологический метод:** посев на среду Левенштейна—Йенсена, Финн 2 и др., микрокультивирование по Прайсу (рост микроколоний при помещении мазка в жидкую питательную среду).
- **Биологическая проба:** заражение морских свинок и кроликов.
- **Серологический метод:** РНГА, ИФА; определяют антитела против комплекса антигенов клеточной стенки, липоарабиноманнана, гликолипидов, фибронектинсвязывающего антигена.
- **Кожно-аллергические пробы:** внутрикожное введение туберкулина (проба Манту).
- **Молекулярно-генетический метод:** ПЦР; метод генной дактилоскопии возбудителя — Саузерн-блот-гибридизация с использованием инсерционного элемента (IS) в качестве зонда.

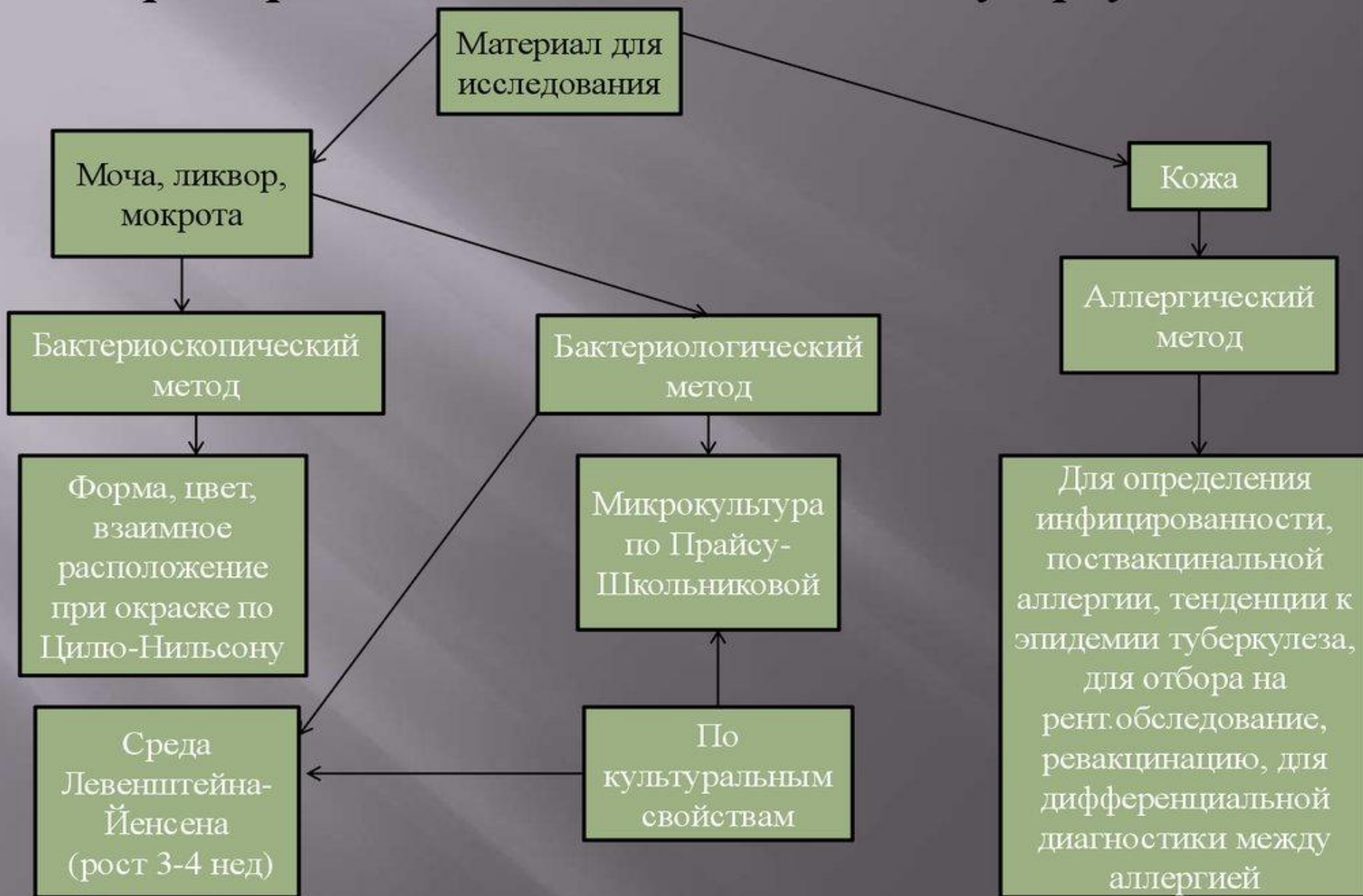
Ускоренный метод культивирования.

Методы Прайса – Школьниковой.

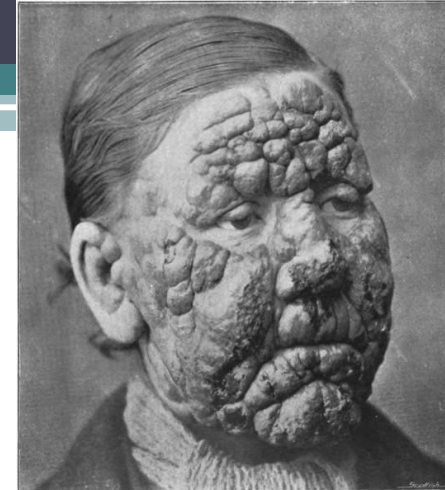
1. Предметное стекло
2. Толстым слоем мазок
3. Высушивание
4. Обработка H_2SO_4
5. Промывают физ. раствором
6. Опускают в стакан с цитратной кровью
7. Термостат 37° - на 7 – 14 дней
8. При микроскопии: рост бактерий в виде тяжей.



Лабораторные методы диагностики туберкулеза



1.2. Возбудитель лепры



Проказа известна с древности.

В средние века она поражала целые селения.

К проказе относились с мистическим ужасом, она всегда была окутана покровом тайны.

Проказа становилась основой многих литературных сюжетов. О прокаженных писали Стивенсон, Конан-Дойль, Джек Лондон.

В средневековой Европе прокаженные отсекались от мира здоровых людей. Необходимость изоляции и сейчас остается основным условием борьбы с проказой.

При диагнозе «проказа» человек вынужден порвать с прежней жизнью и поселиться в лепрозории. Начиная с XIV в. заболеваемость проказой в Европе резко снизилась, и сейчас проказа встречается в нескольких странах в виде спорадических случаев. **В настоящее время в мире насчитывается около 2 млн больных проказой.**

Лепра (проказа)

- — хроническое гранулематозное заболевание, которое может протекать в трёх клинических формах:
- лепроматозной,
- туберкулоидной
- и недифференцированной.
- Поражаются преимущественно **периферические нервы и нервные окончания**, верхние дыхательные пути, глаза, у мужчин — яички.
- **Основные пути передачи — воздушно-капельный и контактный.**

Морфология возбудителя

Морфология и биология лепры:

возбудитель проказы по морфологии сходен с туберкулезной палочкой.

Это прямая или слегка изогнутая микобактерия, сплошная или зернистая, которая легче, чем туберкулезная, окрашивается фуксином (без подогревания) и легче обесцвечивается кислотами и щелочами. **Грамположительна.**

В лепрозных узлах (лепромах) палочки Хансена встречаются в громадном количестве, лежат значительными скоплениями в виде "связок сигар".

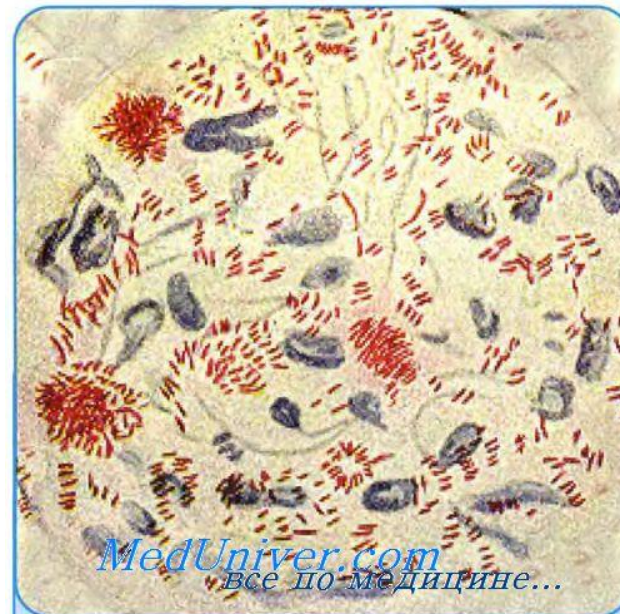


Рис. 3.95. Рисунок *M. leprae* в лепрозном бугорке. Окраска по Цилю—Нильсену.

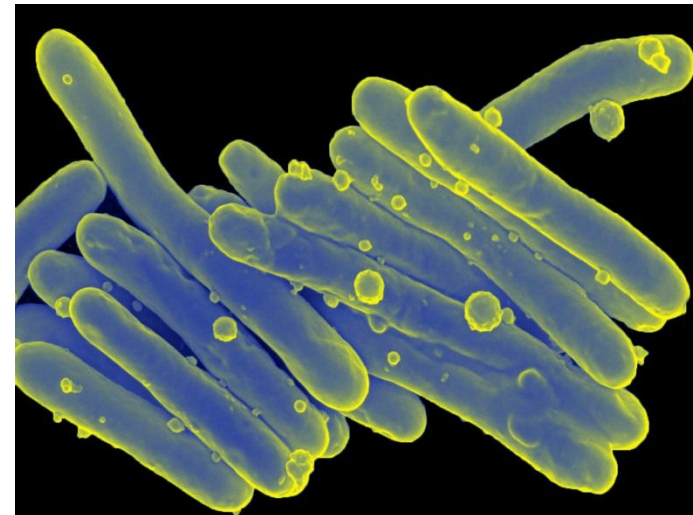
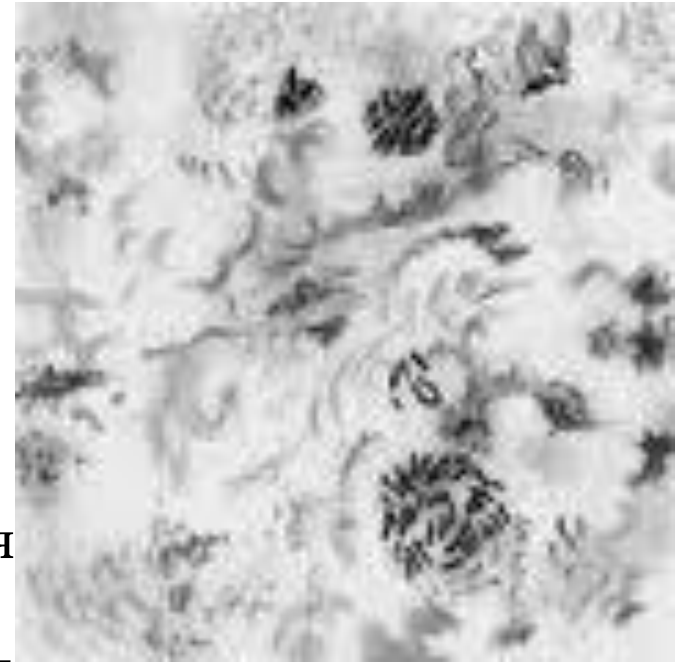
M. leprae — по морфологическим и тинкториальным признакам сходны с туберкулезными палочками; отличаются меньшей кислотоустойчивостью. Окрашиваются по Цилю—Нильсену в красный цвет. Неподвижны. Время генерации 11–30 дней. Располагаются внутриклеточно: параллельными рядами, наподобие пачки сигар, очень редко поодиночке или под углом

На ультраструктурном уровне *M. leprae* принципиально не отличается от других микобактерий.

Поверхность клеток *M. leprae* представлена электронно-плотной бахромчатой микрокапсулой толщиной 5-15 нм.

Под микрокапсулой определяется 3-слойная клеточная стенка (ее толщина 8-20 нм), состоящая из наружного осмиофобного слоя и двух плотно прилегающих друг к другу осмиофильных слоев.

Клеточная стенка обладает выраженной ригидностью, устойчивостью к деформации и химическим воздействиям; она хорошо сохраняется в тканях лепрозных поражений даже при полном лизисе цитоплазмы



К внутренней поверхности клеточной стенки примыкает 3-слойная плазматическая мембрана. В цитоплазме выявляется небольшое число (1-2) мезосом, представляющих собой инвагинаты в цитоплазму плазматической мембраны и характеризующихся выраженным полиморфизмом (петлевидные, гроздевидные, трубчатые).

Собственно цитоплазма представлена мелкогранулярным умеренно электронно-плотным веществом, в котором находятся рибосомы, небольшие электронно-плотные включения волютина, включения типа вакуолей (предположительно, липоидные), крупные гомогенные включения невыясненной природы, **Дополнение!** называемые «спороподобные тельца».

Особенно важным является вопрос о так называемых «спороподобных тельцах», хорошо сохраняющихся при полном лизисе остальной части цитоплазмы бактериальной клетки. На ультратонких срезах полость этих сферических образований заполнена веществом умеренной электронной плотности, напоминающим цитоплазму гомогенных микобактерий. Диаметр спороподобных телец иногда приближается к поперечнику самой бактериальной клетки, но чаще равен примерно одной трети - одной четвертой части его.

Дополнение!

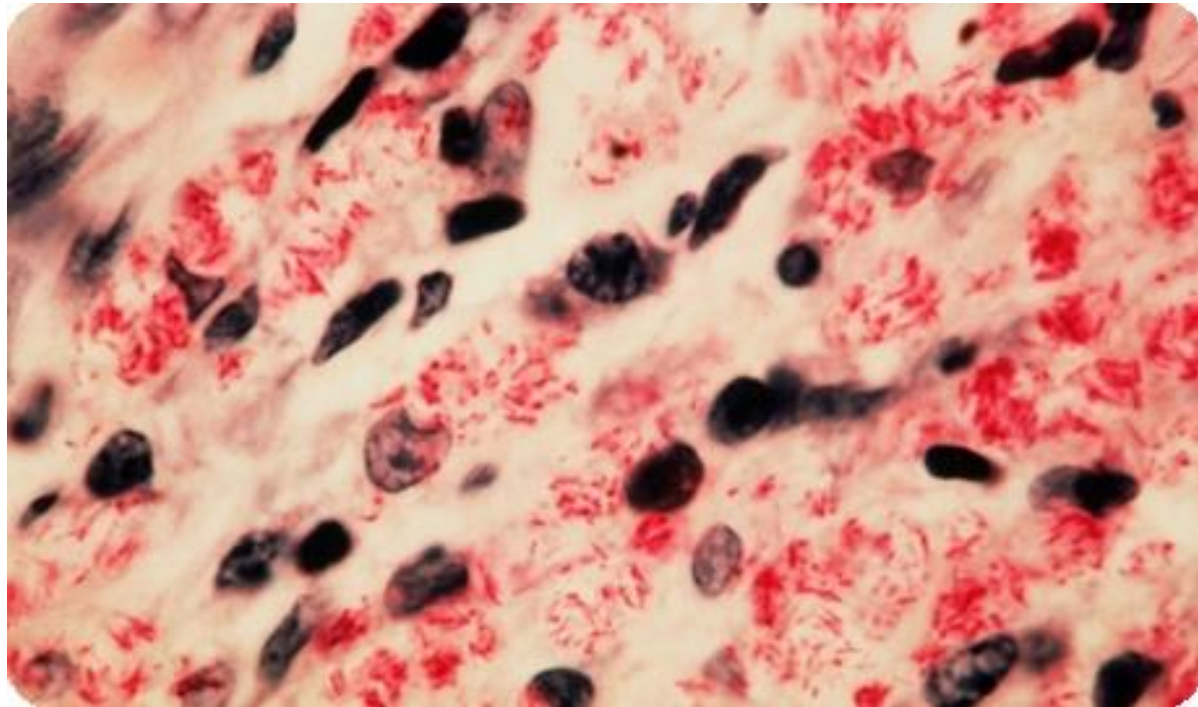
Недавно возможность формирования возбудителем лепры спороподобных структур была подтверждена J.Gomez, J.De Maio, C.Ko и W.Bishai, которые сообщили об обнаружении ими в геноме *M.tuberculosis* и *M.leprae* генов **sigF** и **whiB**, являющихся регуляторными генами спорообразования у *Bacillus subtilis* и *Streptomyces coelicolor*.

Нарушение экспрессии этих генов влияет на темпы роста и морфологию колоний микобактерий, т.е. на их адаптацию в стационарной и латентной фазах. Отсюда - наличие гомологов регуляторных генов споруляции в этих патогенных микобактериях подтверждает гипотезу о том, что скрытая стадия туберкулеза и лепры может быть обусловлена спороподобным состоянием возбудителя. Тем самым получено генетическое подтверждение более ранних данных электронно-микроскопических исследований о наличии у *M.leprae* спороподобных образований (Ющенко А.А., 1969, 1970).

Дополнение!

Культуральные свойства

M. leprae **трудно выращивать на питательных средах.** Культуры развиваются очень медленно (6—8 недель), образуют колонии в виде сухого морщинистого налета.



Отсутствие качественных методов культивирования *M. leprae* чрезвычайно затрудняет изучение их биологических свойств, а также решение многих важнейших проблем практической лепрологии, например, разработку диагностикумов, получение вакцины, скрининг *in vitro* новых лекарственных средств и т.д.

При изучении традиционными методами биохимических свойств *M. leprae*, выделенных из инфицированных тканей человека, всегда оставалось сомнение: не обусловлены ли получаемые результаты фрагментами клетки-хозяина, адсорбированными на поверхности бактерий?

Дополнение!

Наши знания о биологии возбудителя лепры значительно пополнились только после появления высокоразрешающих электронных микроскопов и электронной цитохимии, а также высокочувствительных радиоизотопных методов исследования.

Длительное время не удавалось, используя общепринятые подходы, воспроизвести лепру и на лабораторных животных. То есть триада Генле-Коха при лепре до сих пор не получена.

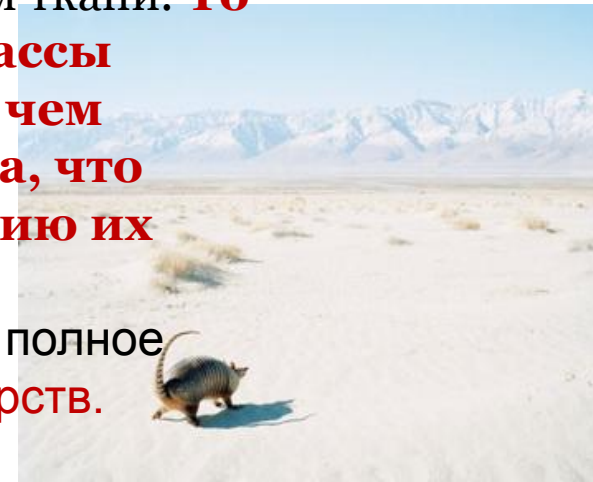
Дополнение!

Культуральные свойства

В 1960 году американский ученый Ch.Shepard сообщил об ограниченном размножении *M.leprae*, взятых от больного человека, в подушечке лап мыши. В 1971 году W.Kirchheimer и E.Storrs удалось показать, что при внутривенном или подкожном заражении возбудителем лепры девятипоясных броненосцев через 1,5-2 года у броненосцев развивается генерализованный инфекционный процесс с поражением кожи и внутренних органов, напоминающий лепроматозный тип лепры у человека.

При этом из лепром на коже, инфицированных печени и селезенки можно получить до 10^9 *M.leprae* на 1 грамм ткани. **То есть эта модель обеспечивает получение биомассы *M.leprae* в значительно больших количествах, чем удастся выделить из лепром больного человека, что позволяет расширить исследования по изучению их биологических свойств.**

Особенностью девятипоясных броненосцев является полное пренебрежение **территориальными границами государств.**



Эпидемиология

Источник инфекции – больной человек. Резервуаром инфекции в природе могут быть дикие броненосцы и низшие приматы, но случаев заражения от них человека не описано. Мужчины заболевают чаще, чем женщины.

Механизмы **передачи**: аспирационный, контактный (при повреждении кожного покрова), возможен трансмиссивный (кровососущими насекомыми). Инкубационный период в среднем **3-7 лет**.

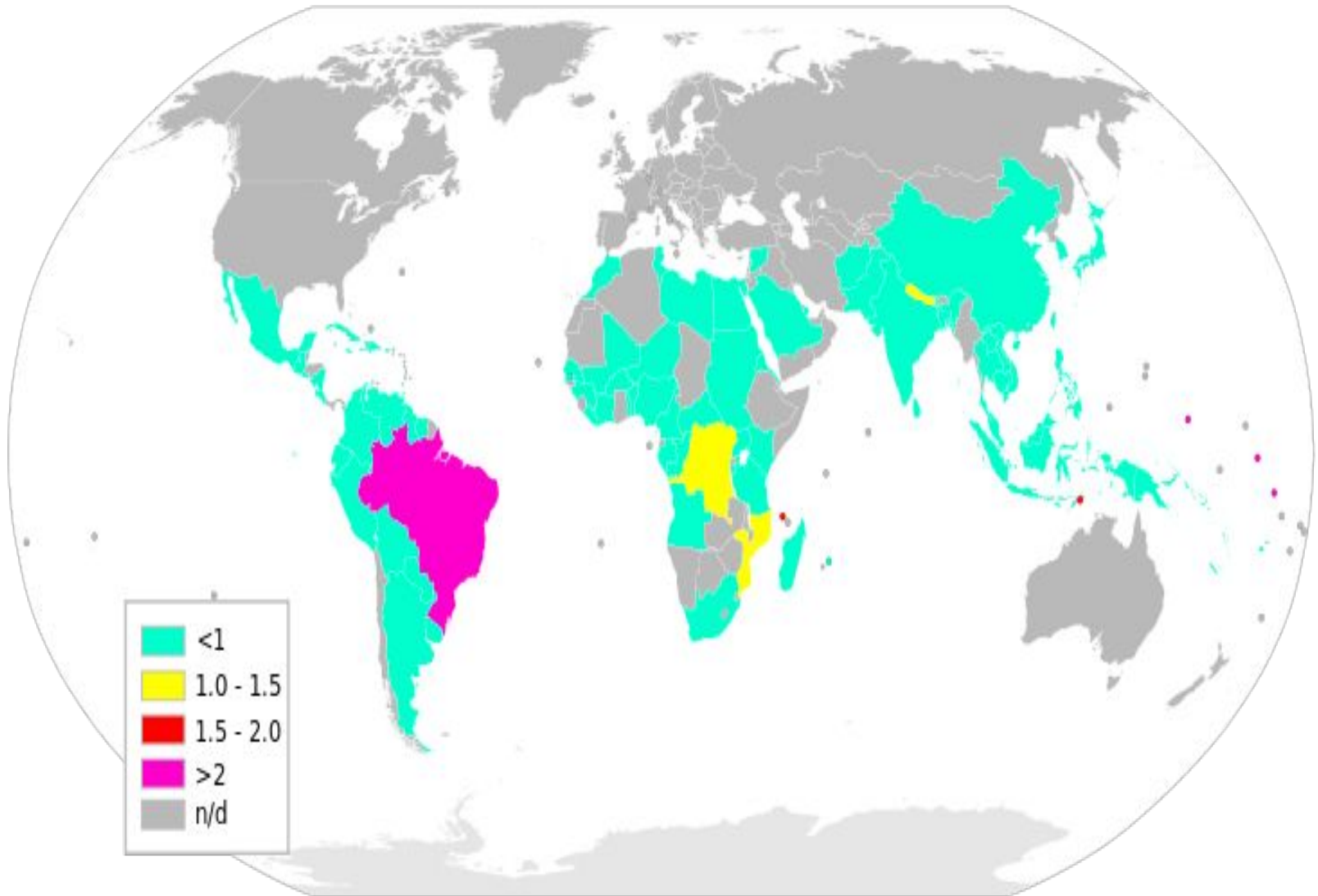
Передача инфекции происходит при тесном и длительном контакте с больным (между супругами, от родителей к детям). При контакте с нелечеными больными лепрой риск заражения около 10%. Инфицирование детей в семьях чаще происходит в возрасте до 10 лет.

Эпидемиология

Лепра широко распространена в странах Африки, Азии и Южной Америки. В период с середины 1960-х до середины 1980-х годов число больных лепрой в мире было довольно стабильным и составляло 10-12 млн. Применение во многих странах комбинированной терапии привело к снижению в 1991 году числа больных до 5,5 млн. Число лиц с деформациями вследствие лепры (включая излечившихся) составляло 2-3 млн человек. На 25 стран приходится 95% больных, а на 5 из них - 82% больных лепрой. Наиболее распространена лепра в Индии (около 3 млн), Нигерии, Бразилии, Индонезии, Вьетнаме. В США и странах Европы спорадические случаи лепры выявляются у иммигрантов из эндемичных регионов

Дополнение!

- Число новых случаев, зарегистрированных в глобальных масштабах в 2015 году, составило 211 973 .
- В США, по данным центров контроля и предупреждения заболеваемости, в 2015 отмечено 178 новых случаев. Максимального значения — 2505 человек — число зарегистрированных больных лепрой в России достигло в начале 1960-х годов.
- По состоянию на 2007 год, в России официально около 600 больных лепрой, из них госпитализированы 35 %, остальные находятся на амбулаторном лечении и под диспансерным наблюдением. За 1996-2007 годы в России отмечено 14 новых случаев заболевания.
- В 2015 году в Астрахани был выявлен случай заболевания рабочего-мигранта из Таджикистана, который ранее два раза работал в Химках на строительстве медицинского центра



В настоящее время господствующим является мнение, что в природе не существует сколько-нибудь значимого резервуара возбудителя лепры, имеющего эпидемиологическое значение, а единственным источником инфекции является больной человек. Не выяснены причины «высокой» первичной заболеваемости лепрой при 100% охвате больных комбинированной противолепрозной терапией. Нет объяснения возникновению «спонтанных» случаев лепры, когда источник инфекции выявить не удастся. Нет достаточно веских аргументов для объяснения преобладания лепроматозного типа лепры при угасании эндемии. Сложно объяснить причины инфицированности броненосцев в США, обезьян в Заире и определить значение этих животных в поддержании инфекции в данной местности. Остаются невыясненными пути передачи и входные ворота инфекции, а также причины существования эндемичных по лепре регионов.

Гипотетически многие вопросы становятся разрешимыми, а особенности лепры *понятными*, если предположить, что *Mycobacterium leprae* способны автономно существовать вне организма хозяина в окружающей среде.

Дополнение!

Патогенез

Воротами инфекции является кожа и слизистая оболочка верхних дыхательных путей.

От момента внедрения микробов до появления первых проявлений чаще проходит от 3 до 5 лет, но иногда и несколько десятилетий. Развернутая картина болезни развивается далеко не во всех случаях.

Лишь у 10-20% инфицированных лиц развиваются малозаметные признаки инфекции и лишь у половины из них (т. е. у 5-10% инфицированных) в дальнейшем формируется развернутая картина болезни.

Развитие определенной клинической формы связывают с генетическими особенностями организма (в частности с гаплотипами HLA).

У больных лепрой выявляется дефект клеточного иммунитета, существенно отличающийся от дефектов клеточного иммунитета у ВИЧ-инфицированных. Даже при интенсивной гематогенной диссеминации возбудителя деструктивные процессы ограничиваются кожей, периферическими нервами, передними отделами глаза, яичками, верхними и нижними конечностями. Особенно часто поражается локтевой нерв около локтевого сгиба. При лепроматозной форме лепры микобактерии обнаруживаются в печени, селезенке, костном мозге.

Дополнение!

Симптомы и течение.

Инкубационный период колеблется от 6 мес до нескольких десятилетий (чаще 3-5 лет). По клинико-гистологическим данным болезнь подразделяют на две формы: **лепроматозная и туберкулоидная**.

При первой наиболее выражены **кожные поражения**, в меньшей степени поражаются нервы.

При туберкулоидной форме кожные изменения менее заметны и более выражены **поражения нервных стволов**. Есть и пограничные формы.

Дополнение!

Болезнь развивается постепенно.

У некоторых больных может отмечаться повышение температуры тела, слабость, боли в суставах, у других лихорадка отсутствует, отмечается анемия, слабость, сонливость, могут быть парестезии, расстройства потоотделения.

Типичным проявлением ранней лепры считается появление кожных изменений. Появляется одно или несколько гипопигментированных пятен или гиперпигментированных бляшек, в области которых чувствительность полностью отсутствует или отмечается парестезия.

При локализации очагов поражения на лице чувствительность может сохраняться. **Дополнение!**

Клиника

две формы:

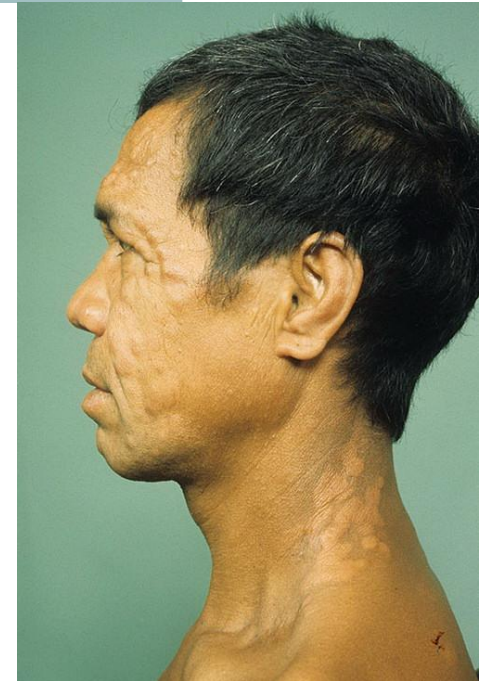
1. туберкулоидная форма.
2. лепроматозная форма (резко выраженные изменения кожи, слизистых оболочек и лимфатических узлов. Очаги кожных поражений чаще всего располагаются на лице (нос, щеки, брови), ушных раковинах, запястьях, локтевых суставах, ягодицах, коленных суставах. Выраженность инфильтрации, уплотнения и других поражений кожи постепенно прогрессирует .

В течении всех типов лепры различают прогрессирующую, стационарную, регрессирующую и резидуальную стадии. Возможны трансформации одного типа в другой.

Лепроматозный тип- наиболее злокачественный, отличается наличием в очагах поражения большого количества микобактерий. Эти больные особенно контагиозны, так как выделяют огромное количество возбудителя. Поражаются кожа, слизистые оболочки, глаза, лимфатические узлы, периферические нервные стволы, а также эндокринная система и некоторые внутренние органы.. В результате диффузной инфильтрации кожи лица надбровные дуги резко выступают, нос деформируется, щеки, губы подбородок приобретают дольчатый вид-развивается "львиное лицо" (Facies Leonina). Брови выпадают начиная с наружной стороны.

Дополнение!

Больные лепрой



Дополнение!

Лечение комплексное, сочетающее специфические средства с общеукрепляющими и стимулирующими. К числу первых относятся основные противолепрозные препараты (диафенилсульфон, солюсульфон, диуцифон и другие производные сульфонового ряда), а также рифампицин, лампрен, протионид, этионид. Ко вторым - гамма-глобулин, пирогенал, метилурацил, витаминные препараты, иммуномодуляторы и др.

Лечение проводят (в прогрессирующей стадии в лепрозории) курсами продолжительностью до 6 мес с интервалами 1 мес. Эффективность лечения оценивается по результатам бактериоскопического контроля и гистологического исследования.

Дополнение!

Профилактика

Профилактика - раннее выявление, рациональное лечение больных, обследование групп населения в эпидемических очагах, превентивное лечение лиц, находящихся в тесном контакте с больным лепрой.

2. Патогенные бордетеллы

Филум В XII *Proteobacteria*

Класс II *Betaproteobacteria*

Порядок *Burkholderiales*

Семейство *Alcaligenaceae*

Род *Bordetella* (бордетеллы)

Виды *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchoseptica*

Бордетеллы – это мелкие **грамотрицательные** аэробные бактерии, **обитающих в респираторном тракте человека** и некоторых животных.

Некоторые виды вызывают **коклюш** - острое инфекционное заболевание, сопровождающееся поражением респираторного тракта и приступами спазматического кашля.



Bordetella pertussis

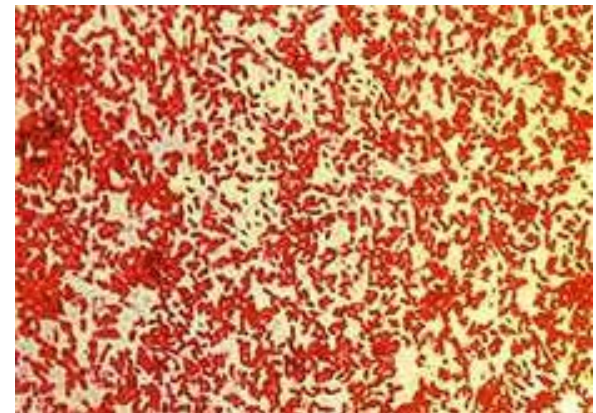
Роль отдельных представителей в патологии человека

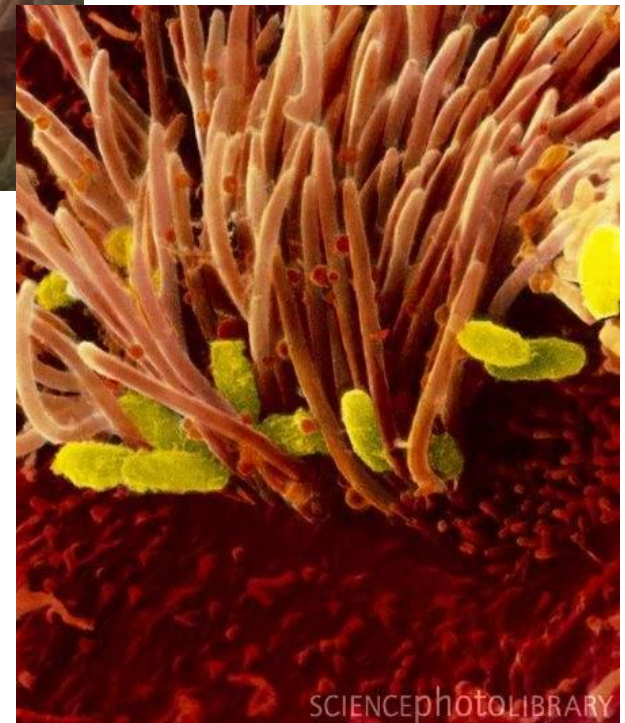
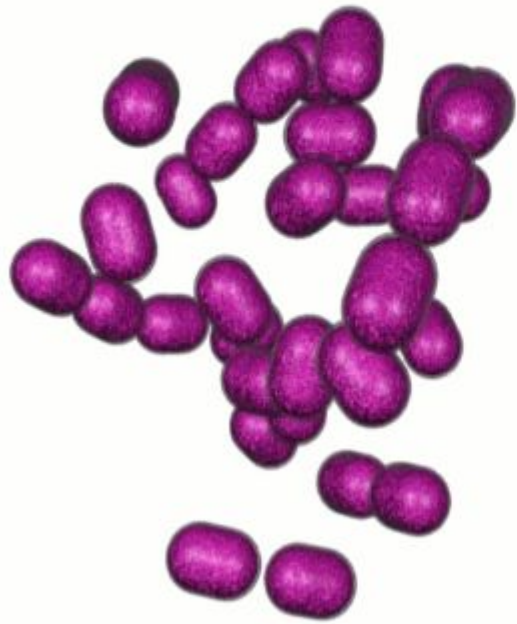
6 видов рода *Bordetella* могут вызывать заболевания человека:

- *B. parapertusis*, *B. pertusis* (возбудители паракоклюша и коклюша),
- *B. bronchiseptica* (возбудитель зоонозной инфекции кошек и собак, и иногда инфекций дыхательных путей человека, преимущественно при иммунодефицитах),
- *B. hinzi* (источник инфекции - домашние птицы),
- *B. holmsei*, *B. trematum* - могут вызывать бактериемию, отит, раневую инфекцию.

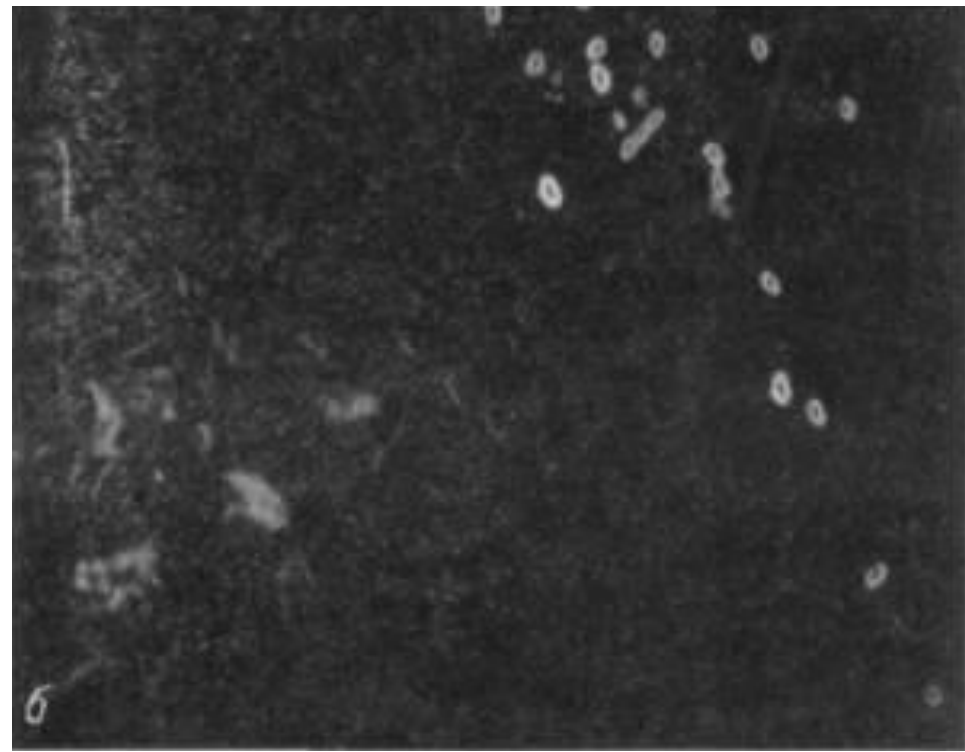
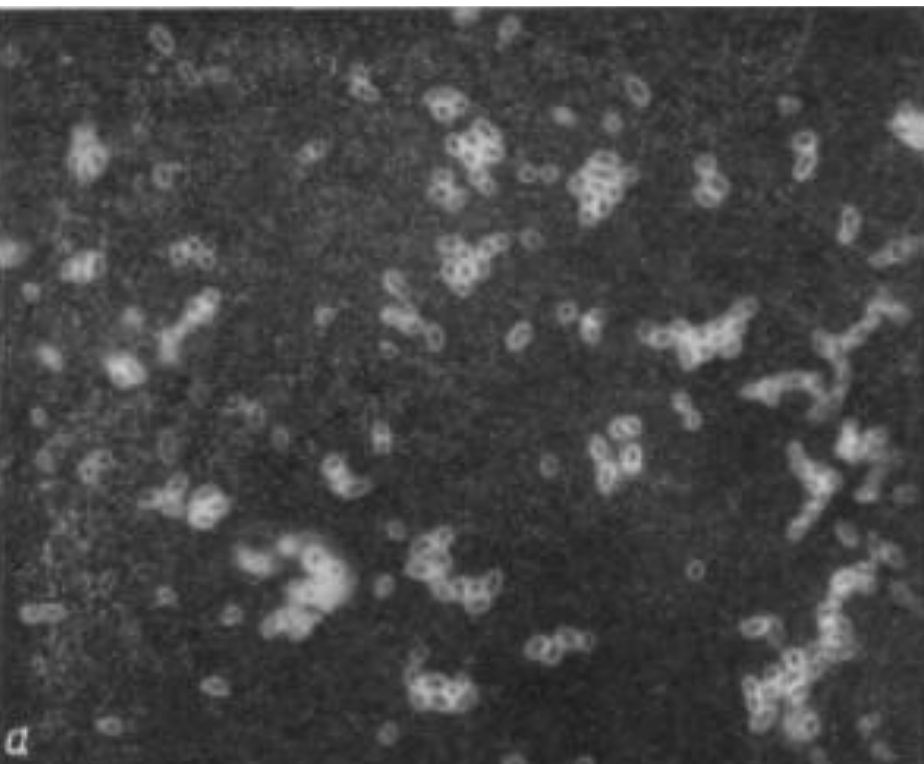
Морфология

Мелкие подвижные (перитрихи) или неподвижные неспорогенные коккобациллы, могут **образовывать нежную капсулу**. Грамотрицательны. Размеры 0,2:0,5 x 0,5:2 ,0 мкм)





Чистая культура *B.pertussis* (а) и мазок из носоглотки (б),
обработанные флюоресцирующими гомологичными антителами
(люминесцентная микроскопия, X 3000)



Устойчивость

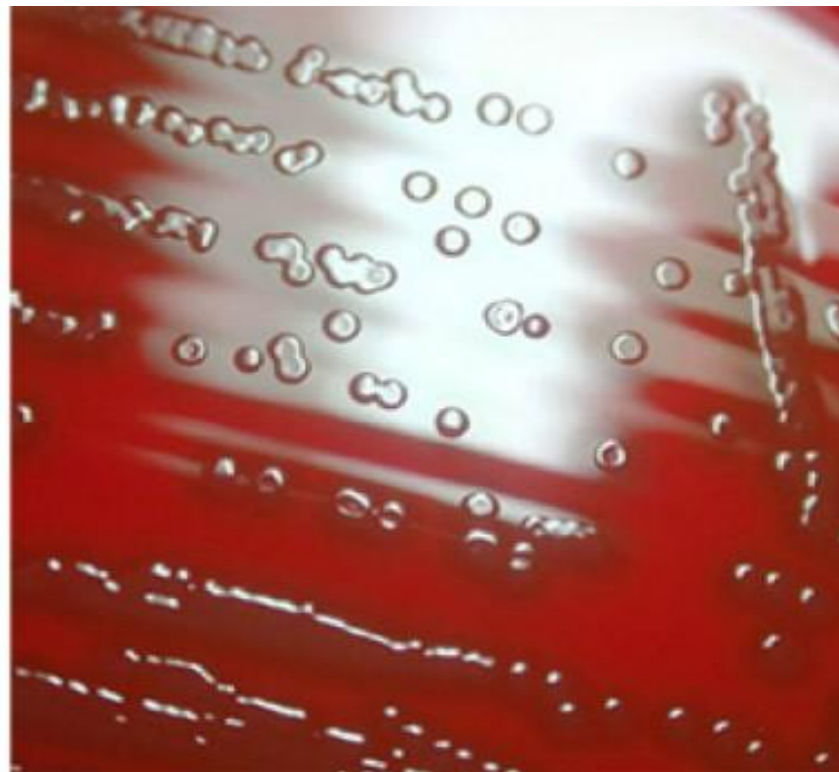
- **Бордетеллы** мало устойчивы во внешней среде. Чувствительны к солнечному излучению. При 50-55 °С погибают за 30 мин, при кипячении — мгновенно.
- **Бордетеллы** в мокроте сохраняются более длительно, при высыхании последней погибают в течение нескольких часов. Очень чувствительны к действию дезинфектантов и антисептиков

Культуральные свойства

- Облигатные аэробы, капнофилы (CO_2 – 5-7%)
- Оптимальная температура роста 35-37 °С.
- Метаболизм только дыхательного типа.
- Хемоорганотрофы, ауксотрофы: нуждаются в никотинамиде, органических соединениях серы (например, цистеине) и органических азотистых соединениях (аминокислотах).
- Выращивают на средах, содержащих сорбенты (акт. уголь или ионообменные смолы), так как чувствительны к продуктам собственного метаболизма.
- Элективные среды: КУА (казеиново-угольный агар), Борде-Жангу (картофельно-глицериновый агар), кровяной агар.
- Колонии с незначительной зоной гемолиза, мелкие блестящие влажные выпуклые («капельки ртути»)



Казеиново-угольный агар



Среда Борде-Жангу

На этих средах формирование колоний происходит на 3 — 4 день после посева. Колонии микробов блестящие, серовато-кремовой окраски, напоминают по внешнему виду капельки ртути, имеют вязкую консистенцию. После снятия колоний с питательной среды остается сметанообразный след.

Культуральные свойства

Культуральные свойства меняются в ходе инфекционного процесса:

- I типа – колонии S-типа, вирулентны, в катаральном периоде заболевания.
- II и III типа – промежуточные, м/о полиморфны, колонии более крупные, плоские, слизистые.
- IV типа – авирулентны, колонии R-формы, крупные (до 3 мм), с желтым или зеленым пигментом.

▪ Возбудители *коклюша* не расщепляют углеводы и не ферментируют белки. Окисляют глутаминовую кислоту, пролин, аланин, аспарагиновую кислоту и серин с образованием аммиака и CO₂. Лакмусовое молоко подщелачивают.

Культуральная и биохимическая характеристика рода *Bordetella*

| № п п | Тест | Вид <i>Bordetella</i> ... | | | | |
|-------------|--|---------------------------|--------------------|---------------------|-----------------|----------------|
| | | per-tussi s | parape- rtussis | bronchi- septica | avium (1984) | holmesii ** |
| 1 | Срок появления колоний на КУА (в часах) | 48-72 | 24-48 | 18-24 | 18-24 | |
| 2 | Размер колоний на КУА (в мм) | 1-2 | 2-4 | 2-4 | Не опр. | |
| 3 | Длительность роста на среде Борде-Жангу (в часах) | 72-144 | 48-72 | 24-48 | 24-48 | |
| 4 | Рост на простом агаре | - | + | + | ± | ± |
| 5 | Рост на агаре Мак Конки | - | + | + | + | + |
| 6 | Рост при 25 °С | - | ± | + | + | ± |
| 7 | Рост при 35 °С | + | + | + | + | + |
| 8 | Рост при 42 °С | - | ± | ± | + | - |

| № пп | Тест | Вид <i>Bordetella</i> ... | | | | |
|---------|---|---|---------------------------|----------------------------|------------------------|------------------------------|
| | | <i>pertussis</i> | <i>paraper tussis</i> | <i>bronchi septica</i> | <i>avium</i> (1984) | <i>holmesii</i> ** |
| 9 | Морфология | *спп | *кпп | *спп | *спп | *кб, кпп, иногда дп |
| | Примечание: | * спп – прямые палочки средней длины; кб – коккобациллы; кпп – короткие прямые палочки; дп – длинные палочки | | | | |
| 10 | Окраска по Граму | - | - | - | - | - |
| 11 | Подвижность | - | - | + | + | - |
| 12 | Образование пигмента из тирозина | - | + | - | ± | |
| 13 | Изменение цвета питательных сред (побурение) | - | + | - | ± | + |
| | | | коричн евый | | | коричн евый |
| 14 | Расщепление мочевины | - | + | ± | - | - |

| № пп | Тест | Вид <i>Bordetella</i> ... | | | | |
|---------|----------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | | <i>pertussis</i> | <i>paraper tussis</i> | <i>bronchis eptica</i> | <i>avium</i> (1984) | <i>holmesii</i> ** |
| 15 | Утилизация цитратов, Симмонса | - | вар | + | + сл. | - |
| 16 | Каталаза | + | + | + | + | вар |
| 17 | Оксидаза | + | - | + | + | - |
| 18 | Редукция нитратов | - | - | + | - | - |
| 19 | Разжижение желатины | - | - | - | - | - |
| 20 | Гемолиз эритроцитов | + | + | + | β - гемолиз | -, редко + |

| № п/п | Тест | Вид <i>Bordetella</i> ... | | | | |
|----------|---|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------|-----------------------|
| | | <i>pertussis</i> | <i>paraper tussis</i> | <i>bronchis eptica</i> | <i>avium</i> (1984) | <i>holmesii</i> ** |
| 21 | Образование индола | - | - | - | - | - |
| 22 | Образование H₂S (с ацетатом Pb) | - | ± | ± | - | - |
| 23 | Гидролиз крахмала | - | - | - | | |
| 24 | Ферментация глюкозы, ксилозы, маннитола, лактозы, сахарозы, мальтозы | - | - | - | - | - |
| 25 | Аргининдегидрогеназа | - | + | ± | - | - |

| № пп | Тест | Вид <i>Bordetella</i> ... | | | | |
|---------|-------------------------------------|---------------------------|-------------------|--------------------|-----------------|----------------|
| | | pertussis | paraper tussis | bronchis eptica | avium (1984) | holmesii ** |
| 26 | Лизиндезаминаза | - | - | - | - | - |
| 27 | Орнитин- декарбоксилаза | | | | - | - |
| 28 | Глутаминдезаминаза | ± | ± | + | | |
| 29 | Глутамин- декарбоксилаза | - | - | + | | |
| 30 | Глициндезаминаза | - | ± | + | | |

Антигенная структура

- У бордетелл установлено существование **14 термолабильных капсульных (К) антигенов-агглютининов.**
- Они выявляются в реакции агглютинации .
- Их часто называют также “факторами” и обозначают арабскими цифрами.
- Для бордетелл характерны общие (родовые) и специфические (видовые) антигены.
- Общий антиген 7-ой.
- Видовой для *B. pertussis* – 1-ый АГ.
- Видовой для *B. parapertussis* – 14-ый АГ.
- Видовой для *B. bronchiseptica* – 12-ый АГ

Схема агглютиногенного состава видов рода *Bordetella*

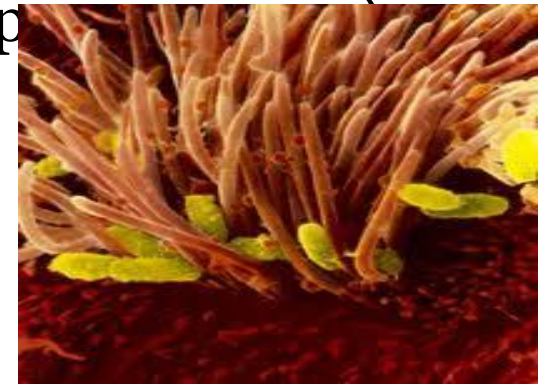
| Агглютино- генные факторы | <i>Bordetella</i> <i>pertussis</i> | <i>Bordetella</i> <i>parapertussis</i> | <i>Bordetella</i> <i>bronchiseptica</i> |
|--|---|---|--|
| Общий для рода | 7 | 7 | 7 |
| Специфи- ческий для вида | 1 | 14 | 12 |
| Отдельные серовары | 2, 3, 4, 5, 6, 13 | 8, 9, 10 | 13, 8, 9, 10, 11 |

**Подавляющая масса выделяемых в настоящее время от больных коклюшем штаммов относится к серовару 1.0.3 и аллельному варианту рtxA1 и рrn2.
(Москва)**

Дополнение!

Факторы патогенности

- **факторы адгезии** (гемагглютинин, пертактин),
- **пертуссис-токсин** (лимфоцитоз-стимулирующий фактор, гистамин-сенсibiliзирующий фактор),
(обуславливает приступы кашля)
- внеклеточная **аденилатциклаза**,
- трахеальный **цитотоксин** (индуктор синтеза медиаторов воспаления, оказывает повреждающее действие на мерцательный эпителий)
- **дерматонекротический токсин**, (спазм артериол, развитие ишемии и некроза в респираторе)
- **термостабильный эндотоксин**,
- ферменты агрессии



Эпидемиология

Типичное антропонозное заболевание с выраженной сезонностью (осень-зима).

Источник инфекции – больные люди с 1 дня до 25 дня заболевания.

Механизм передачи – аспирационный

Путь передачи – воздушно-капельный (при длительном и тесном контакте с больным).

Входные ворота – слизистые оболочки респираторного тракта.

Патогенез коклюша

Входные ворота - слизистые дыхательных путей

Бронхогенное распространение по мелким бронхам и бронхиолам без бактериемии

Повышение возбудимости рецепторов слизистых дыхательных путей

Формирование застойного очага возбуждения в кашлевом центре

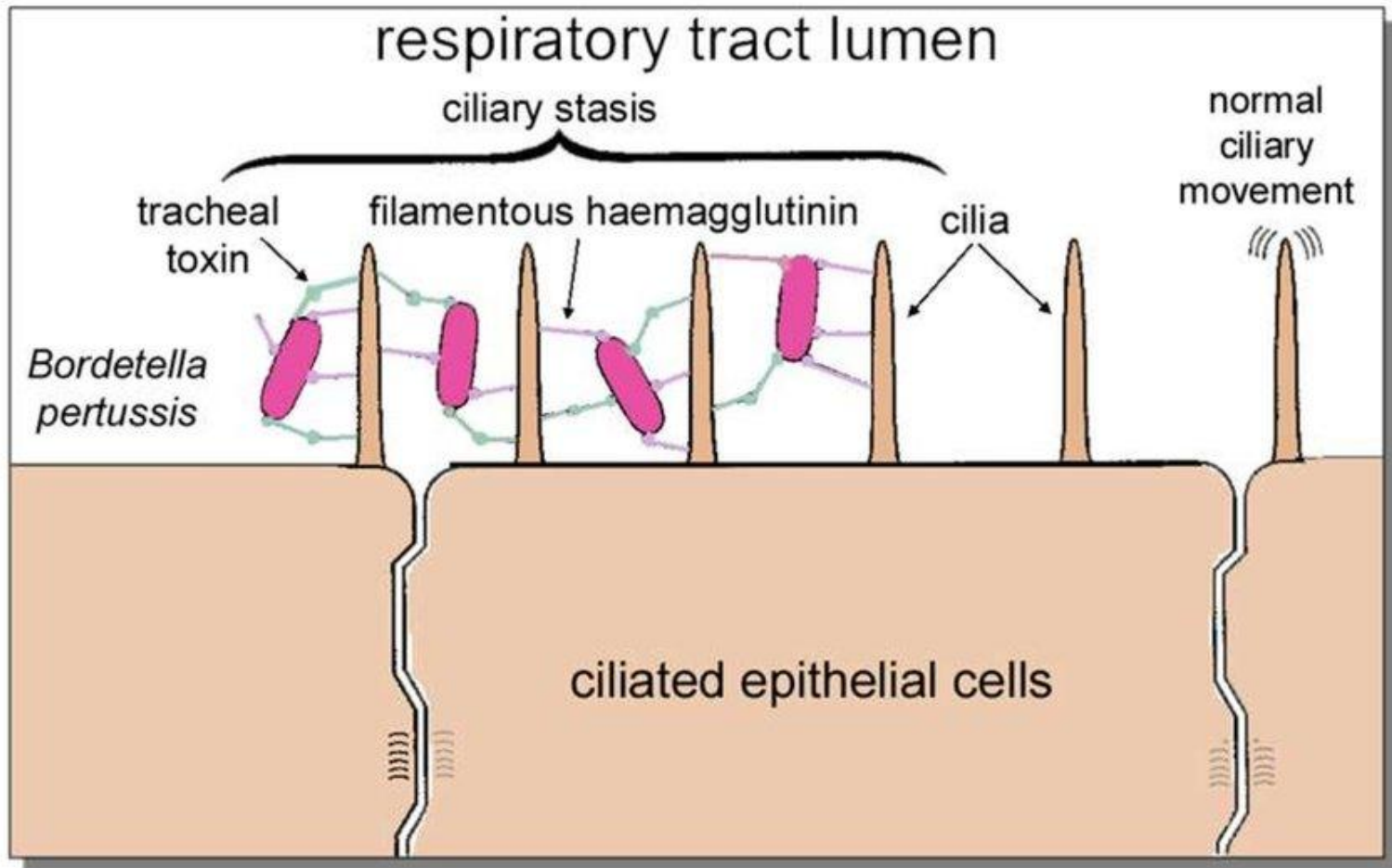
Изменение ритма дыхания и появление характерного спазматического кашля

Гипоксемия и гипоксия

Гипоксическая энцефалопатия

- Осложнения: бронхопневмония, ателектаз легкого, нарушения мозгового кровообращения, грыжи, вторичные инфекции (дефицит Т-звена иммунитета).

B. pertussis: Attachment to pneumocytes



Нарушение движения реснитчатых эпителиальных клеток (цилиарный стаз)

В генезе судорожных приступов кашля имеет значение сенсibilизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обуславливает кашель и приводит к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты. Вследствие этого типичные приступы спазматического кашля могут быть вызваны и неспецифическими раздражителями.

Дополнение!

**Кашель
при
коклюше**



***Bordetella pertussis*,
прикрепившаяся
к мерцательному
эпителию
дыхательных путей.
Стрелкой отмечено
скопление бактерий,
прикрепившихся к
реснитчатой клетке.**

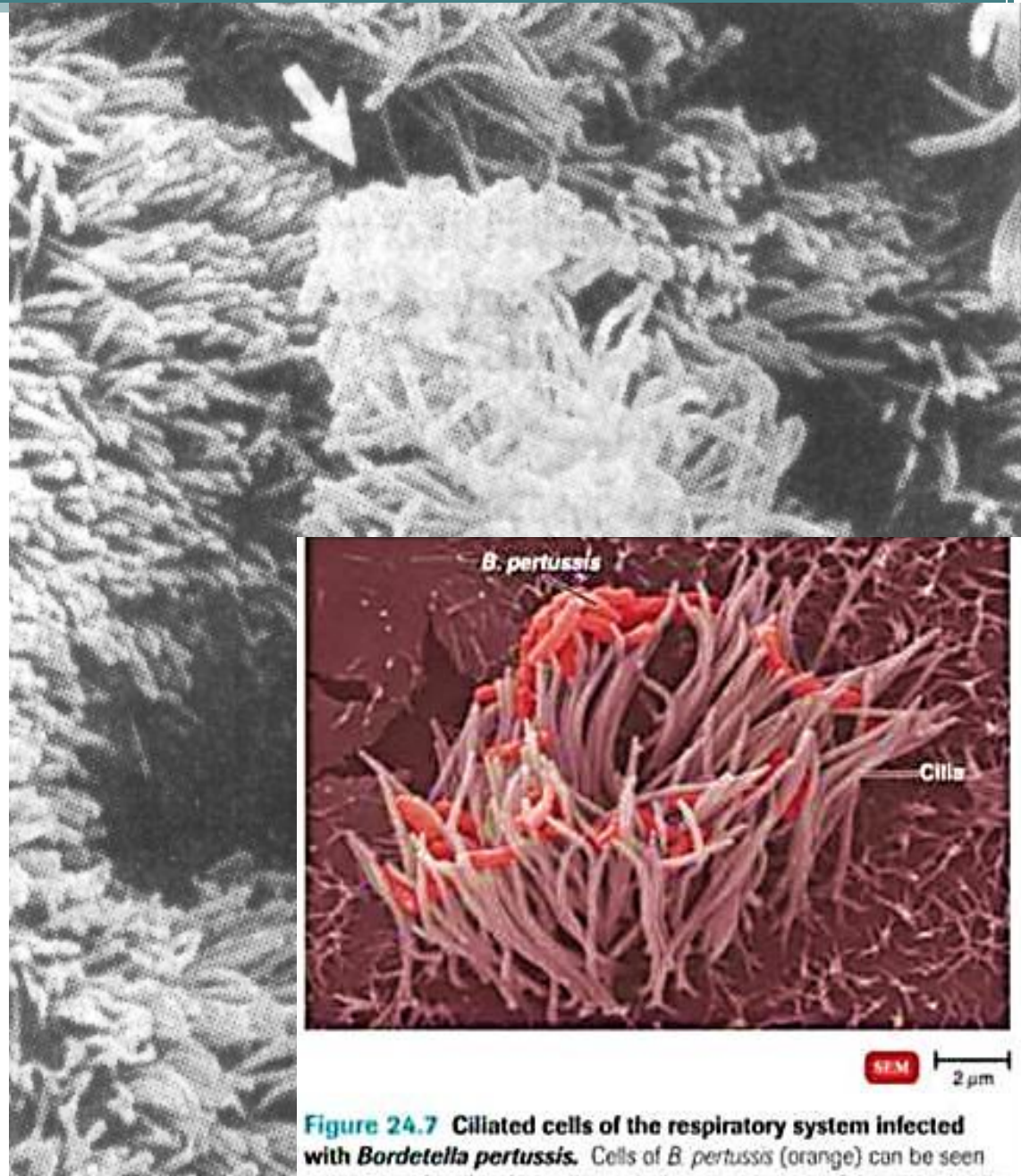
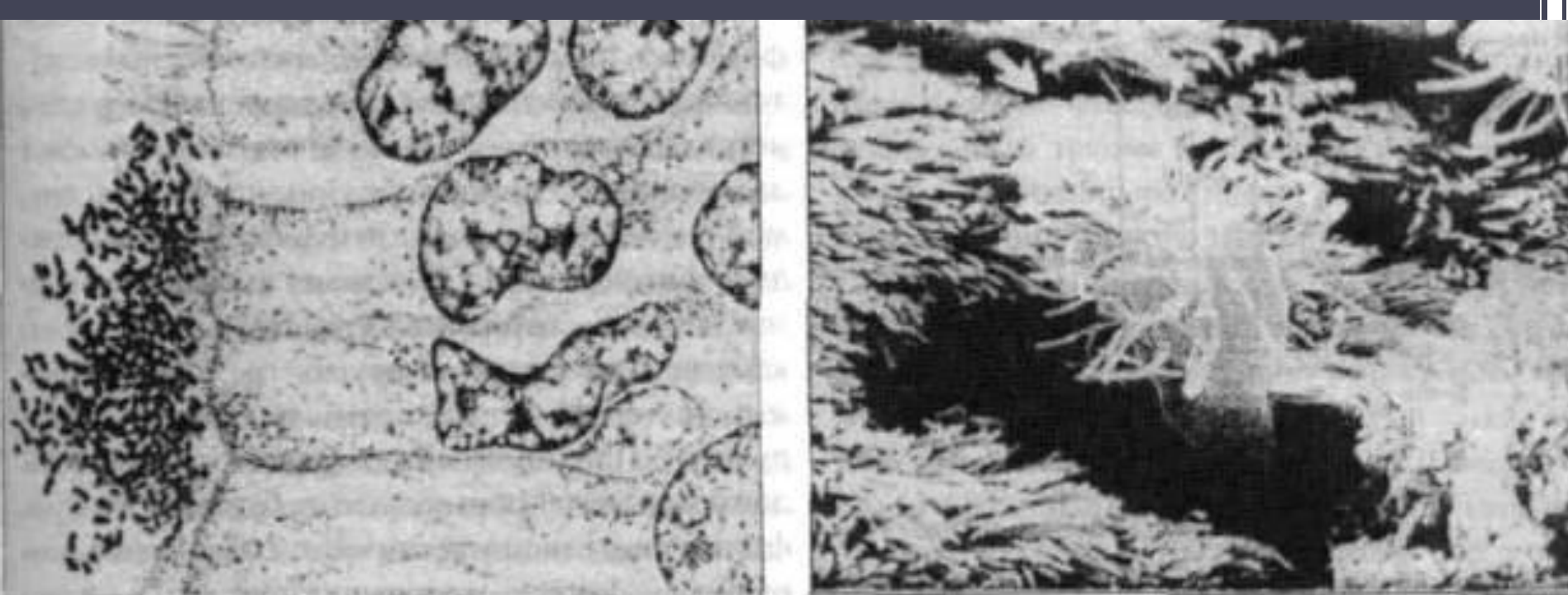


Figure 24.7 Ciliated cells of the respiratory system infected with *Bordetella pertussis*. Cells of *B. pertussis* (orange) can be seen growing on the cilia; they will eventually cause the loss of the ciliated cells.



Слева - Скопление коклюшных палочек между ресничками двух клеток на поверхности трахеи [Burrow's Textbook of Microbiology, 22nd ed. W. B. Saunders Company, 1985]

Справа - Сканирующая электронограмма *B. pertussis*, инфицирующих клетки цилиндрического реснитчатого эпителия респираторного тракта. Скопление бактерий на частично «вытолкнутой» эпителиальной клетке (стрелка) [Schaechter M., Medoff G., Eisenstein B.I. (eds.). Mechanisms of Microbial Disease. Williams & Wilkins, 1993]

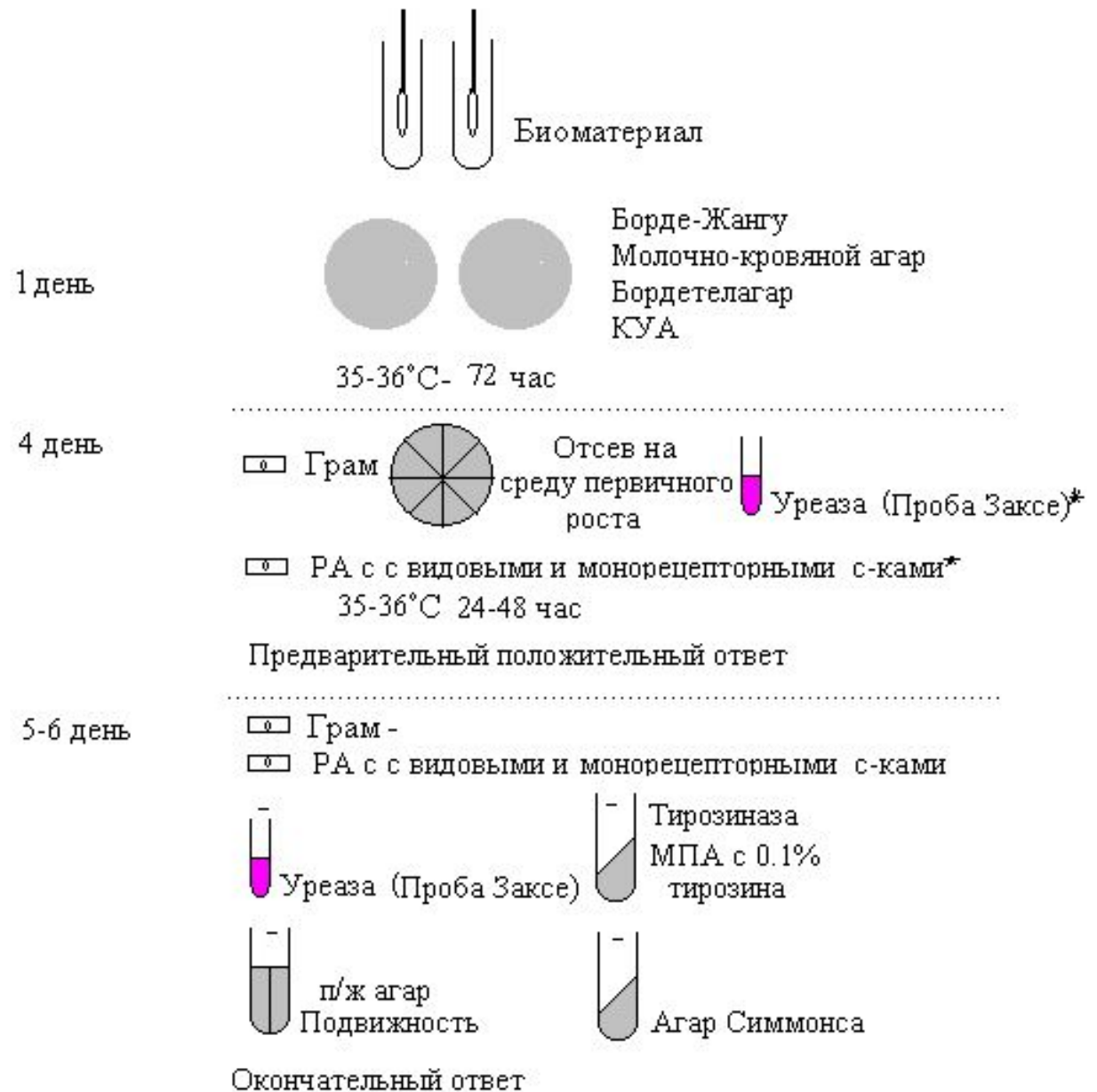
Иммунитет

- **Иммунитет после перенесённого заболевания стойкий**, но видоспецифичный.
- Бывают стертые формы коклюша (около 30 %), они обычно не диагностируются.
- В настоящее время доказано бактерионосительство коклюша.
- Перенесенный коклюш (как и противококлюшные прививки) не обеспечивает напряженного пожизненного иммунитета, поэтому **ВОЗМОЖНЫ повторные заболевания коклюшем** (около 5% случаев коклюша приходится на взрослых людей).

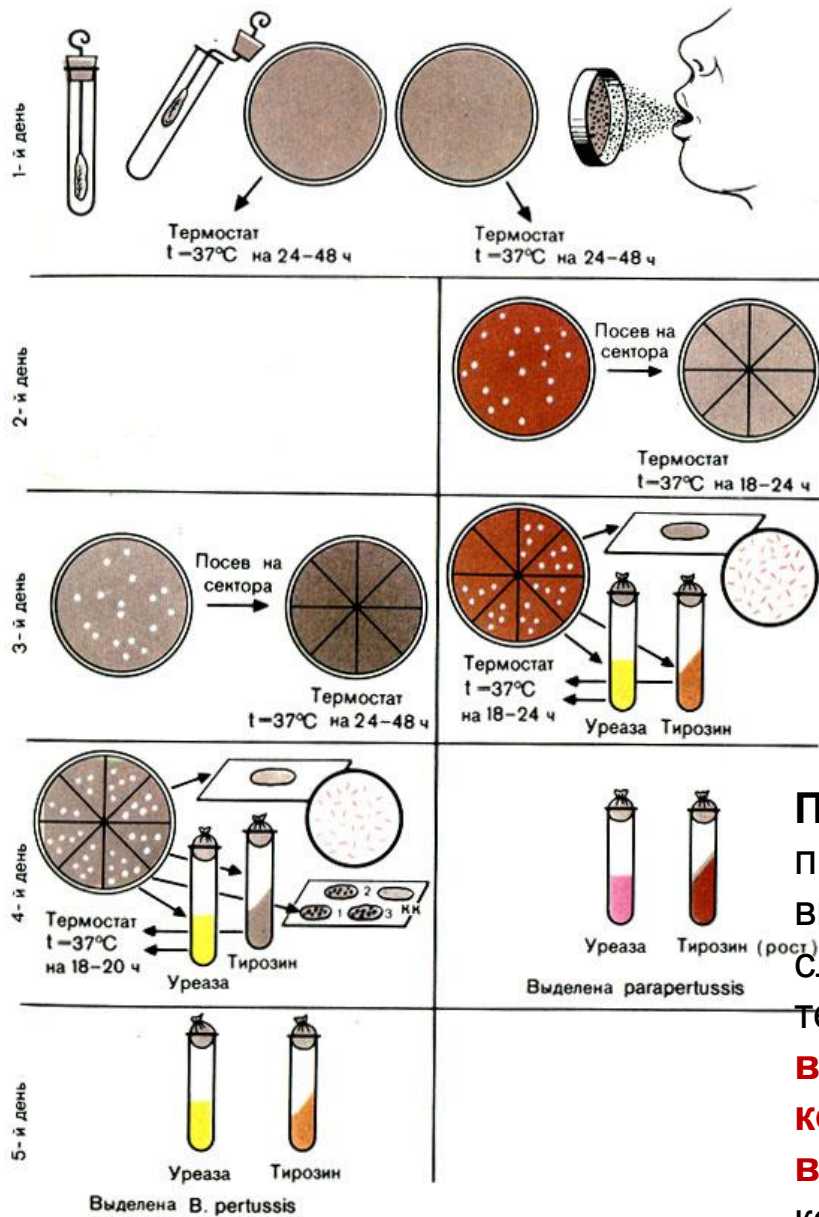
Лабораторная диагностика

- **Основной метод - бактериологический.** Для выделения чистой культуры в качестве материала используют слизь с задней стенки глотки, которую высевают на КУА или среду Борде-Жангу. Материал берут с помощью клювовидного (через рот) или прямого (через нос) тампона с задней стенки глотки. Посев также может быть сделан **методом “кашлевых пластинок”** (во время кашля ко рту больного на расстоянии 8-10 см подносят открытую чашку с питательной средой). Выросшую культуру идентифицируют по культуральным, биохимическим и антигенным свойствам.
- В качестве ускоренного применяют **иммунофлуоресцентный метод – РИФ** с материалом из зева больного и флуоресцентной сывороткой (позволяет получить ответ через 4-5 часов после взятия материала).
- **Серологические методы** (реакция агглютинации, непрямой гемагглютинации, связывания комплемента) используют как вспомогательные при выявлении атипичных форм, а также для ретроспективной диагностики, поскольку антитела к возбудителю появляются не ранее третьей недели заболевания.

Схема бактериоло- гического исследования



* при достаточном количестве колоний



Проба на уреазу. В маленькую пробирку наливают 0,3-0,4 мл 2% раствора **мочевины**, вносят петлю **культуры** и добавляют 2-3 капли фенолфталеина. Пробирку встряхивают и ставят в термостат. Учитывают реакцию через 2 и 24 ч. **Бактерии коклюша не изменяют цвет среды.** **Бактерии паракоклюша** обладают ферментом уреазой, который расщепляют мочевину с образованием аммиака. Аммиак изменяет индикатор и среда окрашивается в **красный цвет**.

Проба с тирозином. На скошенный МПА в пробирках с 0,1% тирозином засевают выделенную культуру и ставят в термостат. На следующий день вынимают пробирку из термостата и просматривают ее. **Наличие роста в пробирке и окрашивание среды в коричневый цвет свидетельствуют о росте возбудителей паракоклюша.** Возбудители коклюша на этой среде не растут.

Специфическая профилактика и лечение

- Для специфической профилактики коклюша используют адсорбированную коклюшно-дифтерийно-столбнячную вакцину (АКДС), где коклюшный компонент представлен **убитыми** коклюшными бактериями.
- Для лечения применяют антибиотики (гентамицин, ампициллин, эритромицин, тетрациклин), которые эффективны в катаральном периоде и не эффективны в судорожном периоде заболевания.

3. Патогенные коринебактерии

Филум **B14**. *Actinobacteria*

Класс *Actinobacteria*

Подпорядок *Corynebacterinae*

Семейство *Corynebacteriaceae*

Род *Corynebacterium* (коринебактерии)

Виды *Cor. diphtheriae*, *Cor. ulcerans*, *Cor. xerosis*, *Cor. pseudodiphtheriae*

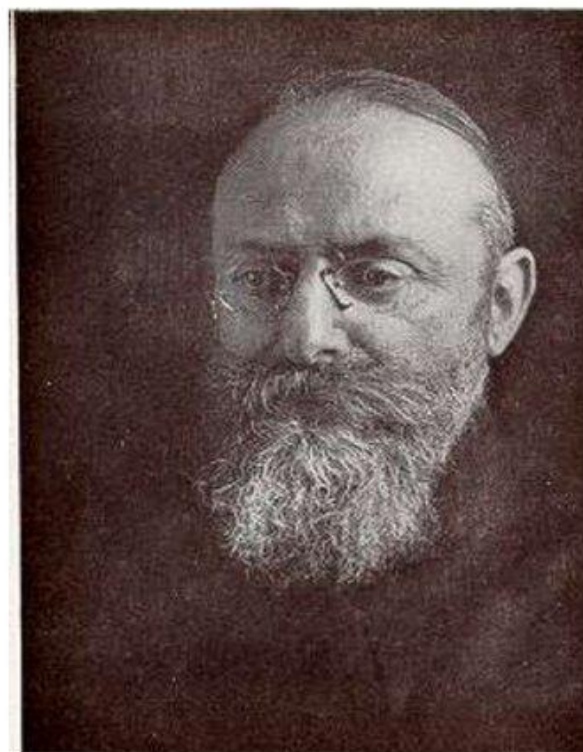
Возбудитель дифтерии - ***Corynebacterium diphtherii***

Дифтерия

- это острое инфекционное заболевание преимущественно детского возраста, которое проявляется глубокой интоксикацией организма дифтерийным токсином и характерным фибринозным воспалением в месте локализации возбудителя. Название болезни происходит от греческого слова ***diphtheria*** — кожа, пленка, так как в месте размножения возбудителя образуется плотная, серовато-белого цвета пленка.



Леффлер-получил
чистую культуру в 1884г.



Нейссер-метод
окраски- (тёмные зёрна
на фоне жёлтой
цитоплазмы)

Морфология



- **Грамположительные** неподвижные
- **палочки** с утолщениями на концах, напоминающими булаву
- («coryne» – булава), обусловленными волютином.
- В культурах палочки находятся под углом друг к другу (особенности деления), образуя различные фигуры – букв V, Y, L или «китайских иероглифов».
- Размеры 0,3-0,8 x 1,8-8,0 мкм.
- Наличие поверхностных липидов приводит к спонтанной агглютинации бактерий.
- Спор не образуют.
- Имеют микрокапсулу с входящим в ее состав корд-фактором.

Тинкторильные свойства

- ❖ по методу Нейссера – темно-синие зерна волютина, клетки бактерий желто-коричневые,
- ❖ по Леффлеру – фиолетовые зерна волютина, клетки бактерий синие,
- ❖ окраска корифосфином, люминесцентная микроскопия – оранжево-красные зерна волютина, клетки желто-зеленые,
- ❖ по Граму – фиолетовые клетки, зерна волютина не видны.

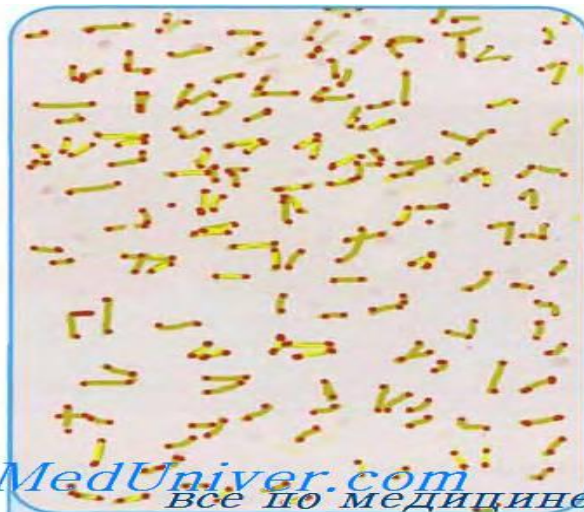
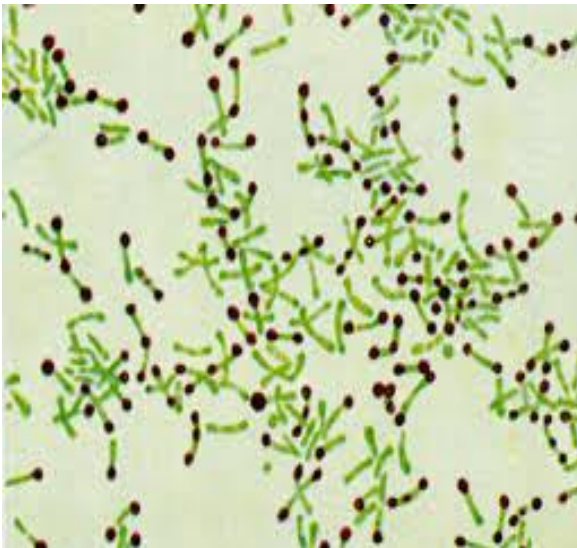
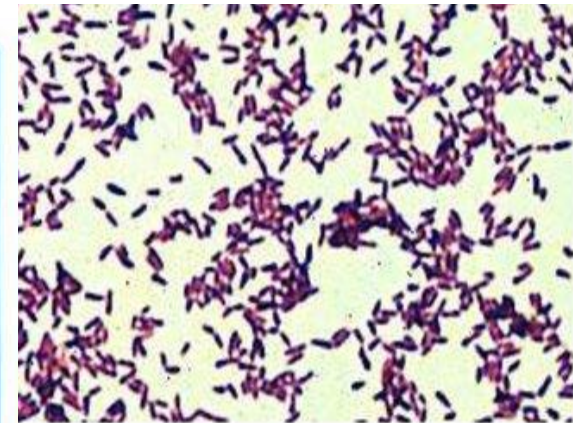


Рис. 3.87. Рисунок мазка из чистой культуры *C. diphtheriae*. Окраска по Нейссеру



окраска по Граму

Культуральные свойства

Факультативные анаэробы., культивируются при 33-37⁰С и рН=7,6-8,0. требовательны к питательным средам, так как не синтезируют эндопротеаз, необходим нативный белок (кровь, сыворотка).

Для культивирования используют:

- среду Леффлера (свернутая лошадиная сыворотка с сахарным бульоном)
- среду Ру (свернутая кровяная бычья сыворотка)
- хинозольную среду Бучина
- цистеин-теллурит-сывороточную среду Тинсдаля-Садыковой
- среду Клауберга (кровяной теллуритовый агар)
- теллурит-шоколадный агар Маклеода.

Коринебактерии дифтерии восстанавливают теллурит до металлического теллура, что придает их колониям темно-серый или черный цвет.

На элективных средах возбудитель дифтерии опережает в росте другие м/о и через 8-14 часов дает рост в виде желтовато-кремовых точечных колоний, которые сливаясь, образуют «шагреневую кожу». Биовар *gravis* дает колонии с радиальной исчерченностью («цветки маргаритки»).

В бульоне дает помутнение, иногда нежную пленку.



Рис. 3.89. Колонии *C. diphtheriae gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

Биохимические свойства

- Обладают высокой биохимической активностью.
- Ферментируют глюкозу и мальтозу до кислоты.
- Отсутствие активности в отношении сахарозы и мочевины – важный **дифференциальный признак от дифтероидов**.
- Обладают цистеназной активностью (расщепляют цистеин до сероводорода) – **проба Пизу**.



По культуральным и биохимическим свойствам

различают 3 биовара: *gravis*, *intermedius*, *mitis*, *belfanti*

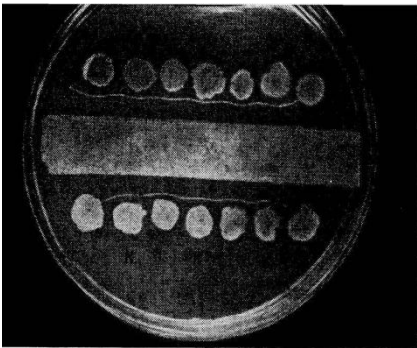
Cor. gravis – наиболее вирулентны, колонии R-формы, в бульоне дают зернистый осадок и пленку, ферментируют глюкозу, мальтозу, крахмал и гликоген.

Cor. mitis – колонии S-формы с зоной гемолиза, в бульоне помутнение и порошкообразный осадок, разлагают только глюкозу и мальтозу.

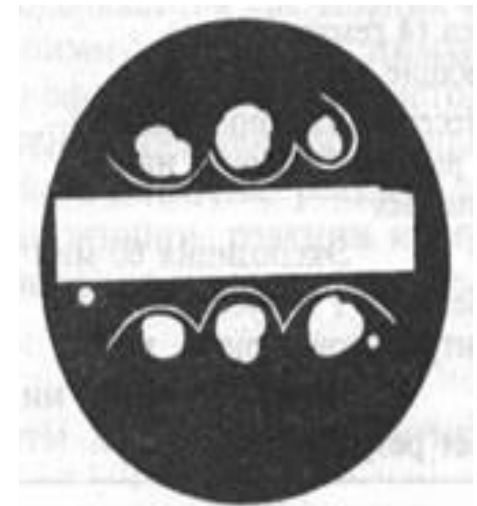
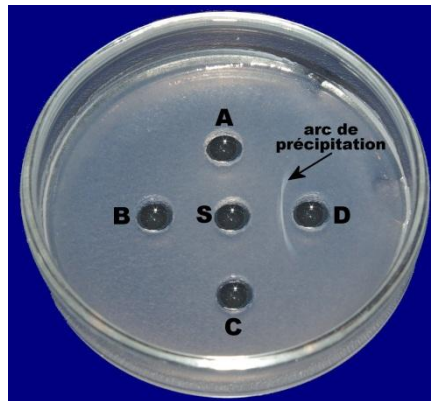
Cor. intermedius – промежуточные свойства

Факторы патогенности

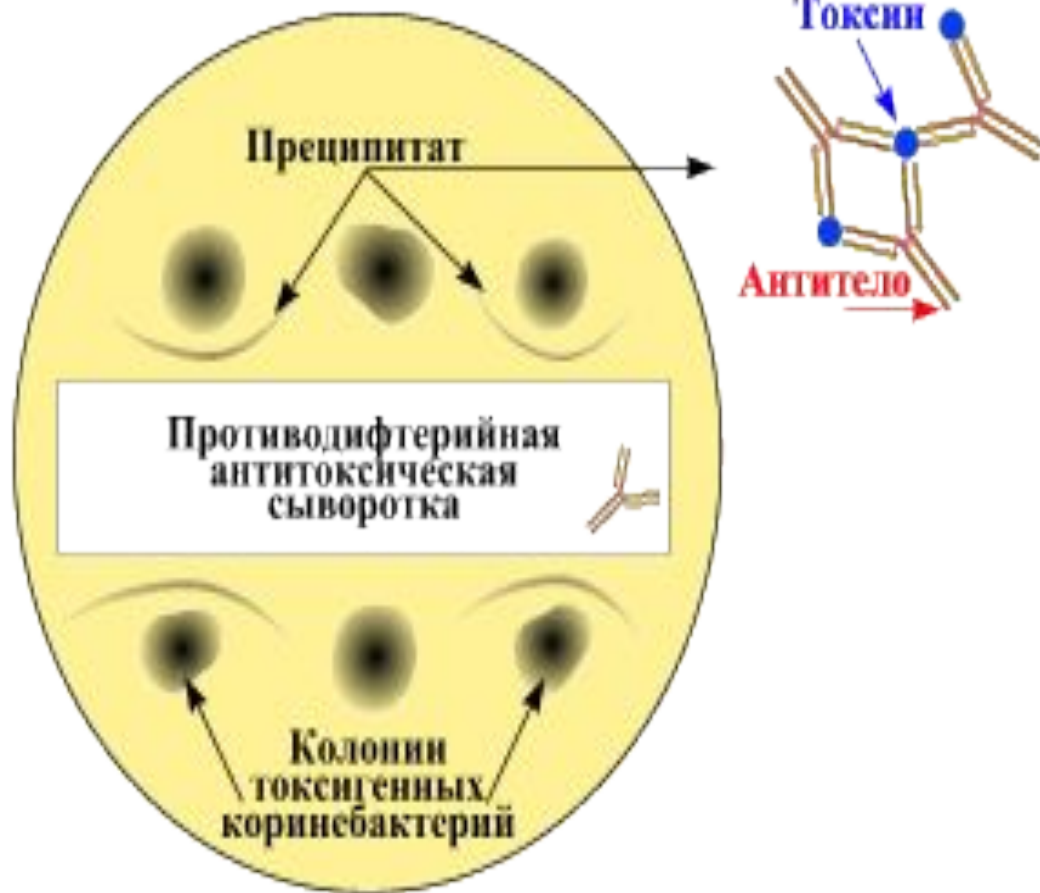
- **дифтерийный гистотоксин** (вызывает блок синтеза белка в органах, наиболее интенсивно снабжаемых кровью)
- **экзотоксин** (цитотоксин),
- **ферменты агрессии** (гемолизин, нейраминидаза, гиалуронидаза), обуславливают инвазивность
- дермонекротоксин,



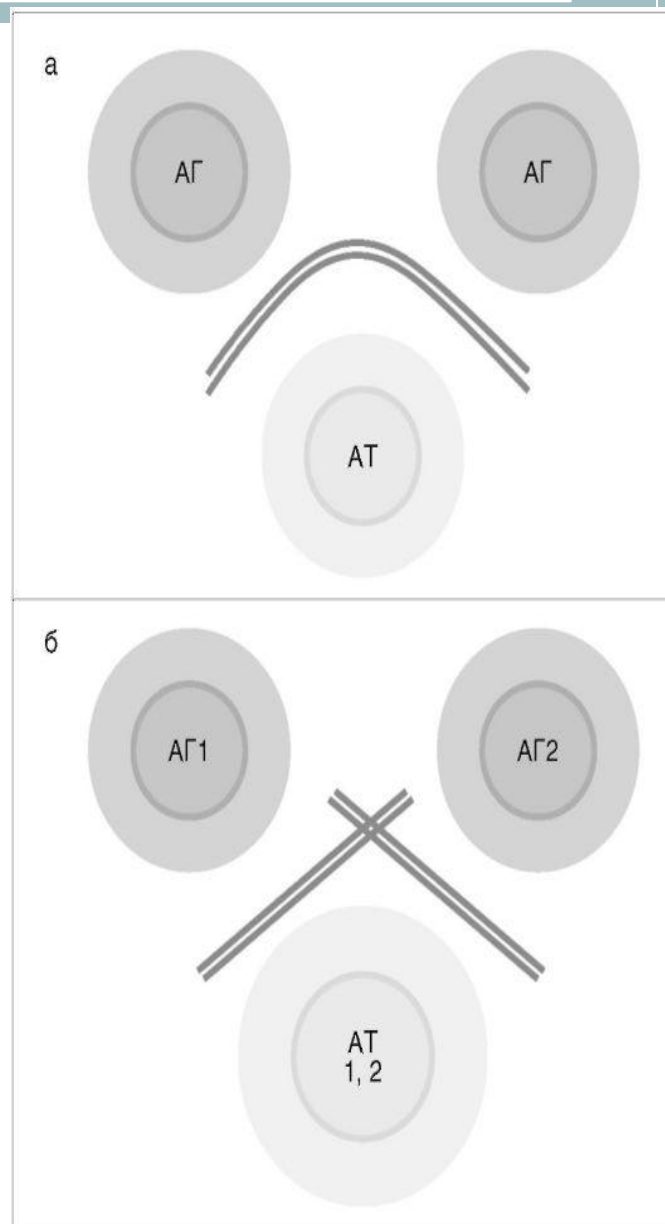
Определение токсигенности коринебактерий дифтерии (чашка Петри).



Дифтерию вызывают только токсигенные штаммы *Corynebacterium diphtheriae*! Способны к токсинообразованию только лизигенные штаммы, содержащие в геноме умеренный профаг, несущий **tox-ген**.



Определение токсигенности дифтерийной палочки (преципитация в агаре).
 В центре - колонии нетоксигенного штамма.



Антигенная структура

- Имеет К- и О-антигены
- Полисахаридные компоненты О-антигенов клеточной стенки обладают межродовыми свойствами, обуславливая неспецифические перекрестные реакции с микобактериями и актиномицетами (нокардиями).
- Поверхностные К-антигены – капсульные белки, обладают видовой специфичностью и иммуногенностью.
- Описано 58 сероваров, наиболее сложна антигенная структура биовара mitis 40 сероваров

Эпидемиология

Дифтерия - антропонозная токсикоинфекция

Источник инфекции - заболевший человек, здоровый носитель бактерий.

Механизмы передачи:

- аспирационный (основной)
- контактный
- алиментарный.

Путь передачи:

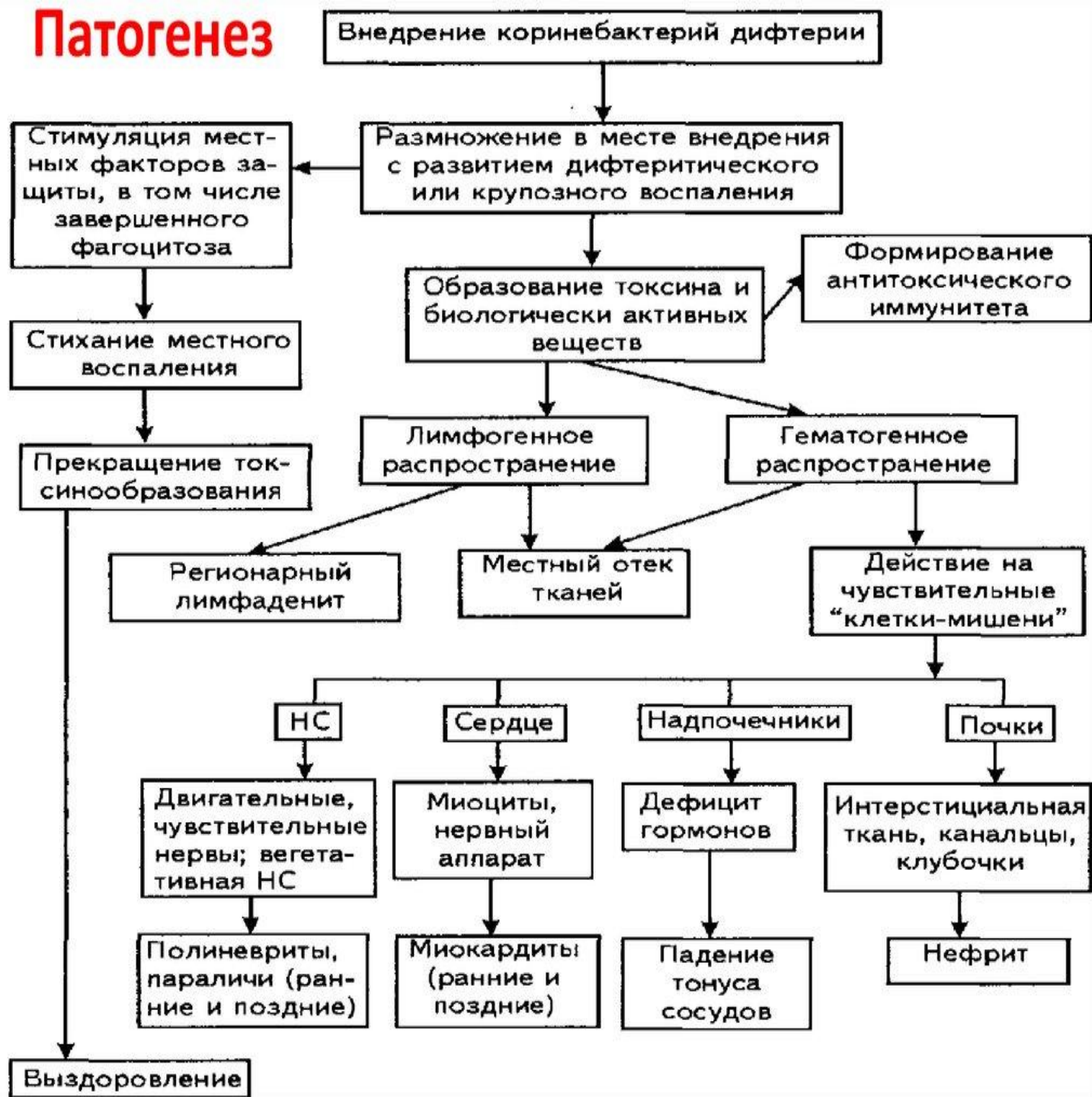
- воздушно-капельный
- воздушно-пылевой
- пищевой (молоко)
- контактно-бытовой
- прямой контакт

Патогенез

Входные ворота – слизистые оболочки миндалин, конъюнктивы глаз, глотки, носа, гортани, реже – поврежденная кожа, раневая и ожоговая поверхность, слизистая оболочка половых органов и ротоглотки (90-95%).

- адгезия (корд-фактор, миколовые кислоты)
- колонизация
- продукция экзотоксина
- воспалительная реакция в месте входных ворот (СО с многослойным плоским эпителием), отек, некроз
- образование фибринозной пленки сероватого или желтоватого оттенка (плотно спаяна с подлежащей тканью и при попытке снять, СО сильно кровоточит)
- токсин по лимфатическим путям проникает в ткани, вызывает отек СО и регионарных лимфозлов, поступая в кровь, действует на нервную, симпатoadреналовую и ССС – миокардит, невриты, некроз надпочечников, токс. нефроз.

Патогенез

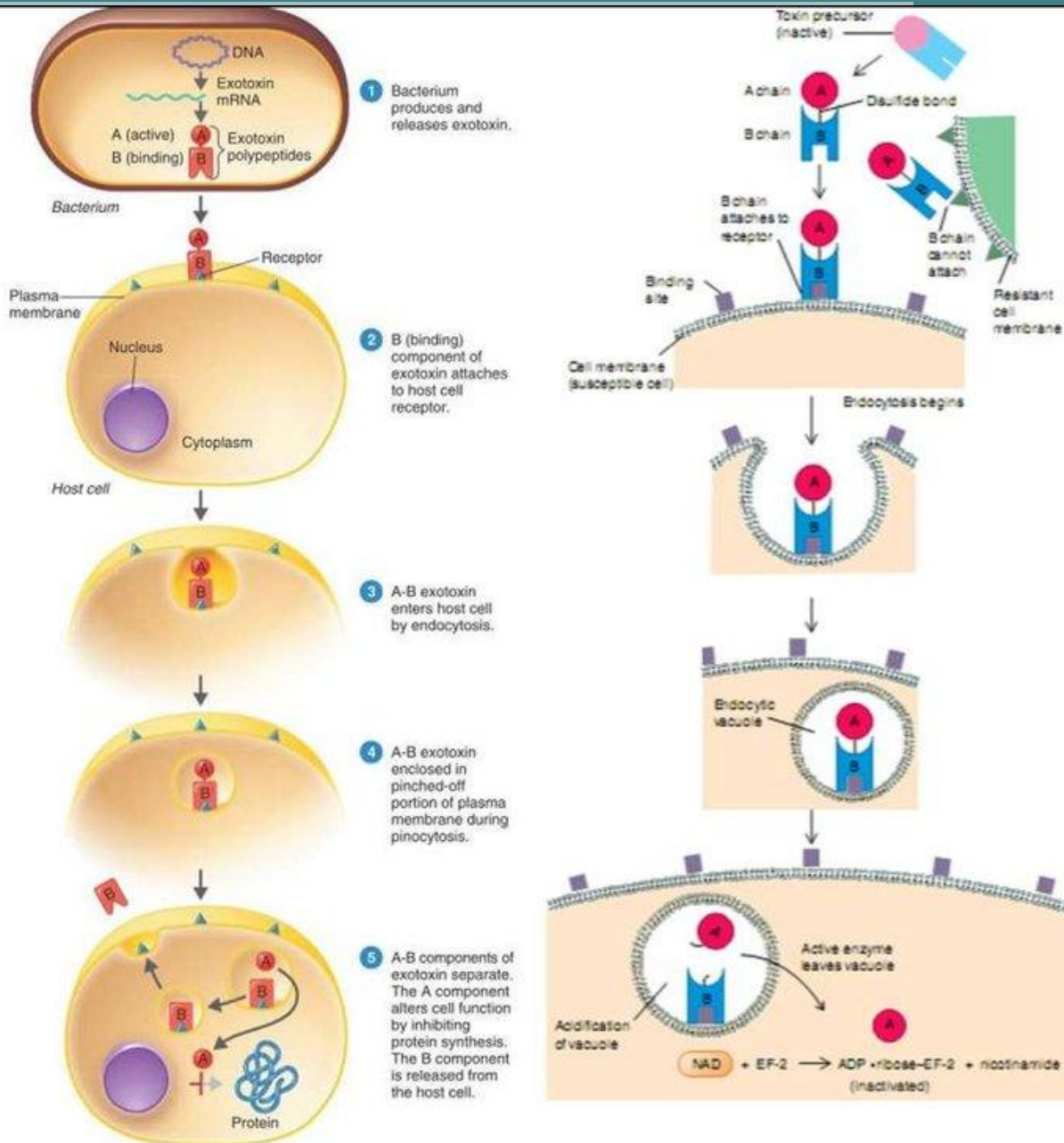


Дифтерийный гистотоксин

- Гистотоксин состоит из двух субъединиц: токсического полипептида (А) и транспортного полипептида (В), ответственного за доставку токсического компонента к клеткам-«мишеням».
- Образование первого контролируется бактериальными генами, второго - генами фага, лизогенизовавшего бактериальную клетку;

Только лизогенные бактерии, содержащие tox-ген, полученный в результате фаговой конверсии патогенны

- Фиксация гистотоксина происходит на рецепторах мембран мышечных клеток сердца, паренхимы сердца, почек, надпочечников, нервных ганглиев.
- После проникновения в клетку субъединица А взаимодействует фактором элонгации EF-2 и осуществляет его АДФ-рибозилирование. При этом блокируется синтез белка на рибосомах, что, в конечном итоге, приводит к гибели клеток.



Токсины, ингибирующие синтез белка – субстратом для них служат факторы элонгации (EF) и 28S-рибосомальная РНК. Они рибозилируют EF, что ведет к его инактивации. Так действует дифтерийный гистотоксин, шигатоксин (*Stx-toxin S.dysenteriae*), шигаподобные токсины энтеропатогенных и энтерогеморрагических *E.coli*

Figure 15.5 The action of an A-B exotoxin. A proposed model for the mechanism of action of diphtheria toxin.

Иммунитет

После перенесенного заболевания формируется длительный, прочный антитоксический иммунитет (основную роль играют АТ к компоненту В гистотоксина). Но гуморальный антитоксический иммунитет не препятствует формированию бактерионосительства. Клеточно-опосредованный иммунитет серовароспецифичный и малоэффективный.

Профилактика

Важна роль иммунизации (вакцинации). Применяют:

- дифтерийный анатоксин
- АКДС-вакцину (содержит в составе дифт анатоксин)
- АДС-М (вакцина с уменьш содерж антигенов)
- АД-М - (адсорб дифт анатоксин с уменьш содерж антигена)
- вакцина «Тетракокк»
- вакцина «Д. Т. Вакс»
- вакцина «ДТ-Адюльт»
- вакцина «Бубококк»
- вакцина «Бубо-М»

Лечение

- противодифтерийная лошадиная сыворотка (раннее введение – в первые 3 суток болезни)
- противодифтерийный иммуноглобулин человека (в/в)

Микробиологическая диагностика



Культуральный метод

Основной.

- Засев производят на среды **Ру, Клауберга**;
- идентификацию до **рода** проводят по
 - **морфологическим** (наличие зерен волютина) и
 - **культуральным** (характер и скорость роста на среде Ру, характер роста на среде Клауберга) признакам;
- идентификацию **вида** проводят
 - по **биохимическим** (пробы Пизу и Закса) признакам;
- **биовар** *gravis* идентифицируют по
 - **культуральным** (колонии в виде цветком маргаритки) и
 - **биохимическим** (ферментация крахмала и гликогена) признакам.

Определением токсигенности

- **in vivo**: заражают морскую свинку (подкожно или внутрибрюшинно), при вскрытии павшего животного обращают внимание на **увеличенные и гиперемированные надпочечники**,
- **in vitro**: ставят реакцию преципитации по **Оухтерлони**.

4. Гемофильная инфекция

- **Гемофильная инфекция** — острое инфекционное заболевание, вызванное гемофильной палочкой.
- Гемофильная инфекция характеризуется преимущественным поражением органов дыхания, центральной нервной системы и развитием гнойных очагов в различных органах.
- Возбудитель — ***Haemophilus influenzae*** (палочка Пфайфера) относится к семейству ***Pasteurellaceae***

Распространенность

- Гемофильная инфекция остается серьезной угрозой для жизни и здоровья, вызывая, по оценкам специалистов, около **3 млн случаев** тяжелых заболеваний в мире и более **350 тыс. случаев летальных исходов в год**. Почти все жертвы – дети в возрасте до пяти лет, при этом наиболее уязвимы к инфекции дети в возрасте от 4 до 18 месяцев.
- При этом большинство штаммов остаются устойчивыми к применяемым антибиотикам, а осложнения происходят у 40% больных.

Представляет собой мелкую
грамотрицательную
коккобациллу (0,3 мкм в
диаметре), для своего роста
требуется наличия
содержащихся в эритроцитах
термолабильного фактора V
(НАД) и термостабильного
фактора X (гемин).



По культуральным свойствам (продукция индола, активность уреазы и др.) разделяется на 7 биотипов (от I до VII).

Часть выделенных со слизистых оболочек палочек инфлюэнцы имеет капсулы.



- Известно 6 антигенно различающихся капсульных типов, обозначаемых от А до F.
- Наибольшее значение в патологии человека имеет ***Haemophilus influenzae type b.***
- Данный серотип отличается от других наличием 8 генов, ответственных за образование фимбрий, которые способствуют улучшению адгезивных и пенетрантных свойств.
- Также, в отличие от других серотипов, гемофилус инфлюэнцы типа b — **единственно способная проникать в кровеносное русло.**

Эпидемиология

Источником и резервуаром инфекции является только человек.

Путь распространения — воздушно-капельный.

Возбудитель локализуется на слизистой оболочке верхних дыхательных путей.

H. influenzae можно выделить из носоглотки 90 % здоровых людей, причем на более вирулентный тип b приходится около 5 % всех выделенных штаммов.

Здоровое носительство может продолжаться от нескольких дней до нескольких месяцев.

Носительство сохраняется даже при высоком титре специфических антител и даже при назначении высоких доз антибиотиков. **Чаще всего заболевают дети в возрасте от 6 мес до 4 лет**, реже болеют новорожденные, дети более старшего возраста и взрослые.

Патогенез



Патогенез и эпидемиология

- Воротами инфекции является слизистая оболочка носоглотки.
- Возбудитель может длительное время персистировать в области ворот инфекции в виде латентной бессимптомной инфекции.
- В некоторых случаях латентная форма переходит в манифестную. Риск перехода в манифестную форму усиливается при наличии сопутствующей вирусной инфекции и повышении микробной массы.
- Инфекция распространяется по окружающим тканям, обуславливая развитие синуситов, отитов, бронхитов, пневмоний, воспаление подкожной жировой клетчатки, или путём гематогенной диссеминации поражает суставы и другие органы, протекая по типу сепсиса. Системные заболевания вызывают только возбудители, обладающие капсулой, в 95 % случаях это гемофильная палочка типа b. **Уникальным свойством бактерий данного типа является их способность проникать в кровеносное русло путём разрывания межклеточных соединений.** Также, более выраженная патогенность этих штаммов связана с тем, что капсула способна подавлять фагоцитоз. Возбудитель может в течение нескольких суток персистировать в кровеносном русле бессимптомно до тех пор, пока масса микробных тел не станет критической. Затем бактерия проникает в ЦНС через хориоидальные сплетения, вызывая инфильтрацию и гнойное воспаление мягких мозговых оболочек

Иммунитет

У перенесших заболевание развивается стойкий иммунитет.

Иммунный ответ имеет несколько особенностей.

- Вследствие подавления фагоцитоза, продукция антител В-лимфоцитами активируется без участия Т-хелперов, поэтому иммунный ответ на инвазию Hib в большинстве случаев недостаточен,
- Также отмечается слабая Т-независимая продукция специфических антител в возрасте до 18 месяцев.
- Местный иммунитет, представленный секреторными антителами класса IgA изучен недостаточно. Более того, было обнаружено, что капсульные виды *H.influenzae* выделяют протеазы, инактивирующие антитела.
- Проведенные исследования местного иммунитета у здоровых носителей показали, что роль местного иммунитета может быть достаточно важной — блокировка пенетрации слизистой оболочки бактериями, предотвращение проникновения микроорганизмов в кровеносное русло.

Профилактика



- Здоровым носителям Ніб и лицам из группы риска, контактирующим с больными гемофильной инфекцией, в течение первой недели после регистрации первого случая заболевания рекомендуется принимать рифампицин внутрь в дозе 10-20 мг/кг/сут (максимум 600 мг/сут) однократно в течение 4 дней.
- В настоящее время обязательная иммунизация против гемофильной инфекции введена в США (1990), Канаде (1990) и ряде других стран. **С 2011г. прививка против Ніб стала обязательна в России.**
- Вакцинация проводится детям в 3 этапа: в 3, 4,5 и 6 месяцев. В возрасте 18 месяцев — однократная ревакцинация.



Новый календарь прививок

Министерство здравоохранения опубликовало новый календарь прививок. Его составлено согласно рекомендациям ВООЗ

▼ внутримышечно 💧 перорально

▼ Гепатита В2 ▼ Туберкулеза ▼ Гепатита В2



1 день



3-7 день



1 месяц



3 месяца



4 месяца



5 месяцев



6 месяцев

▼ Дифтерии, кашлюка, столбняка
.....
Полиомиелита
.....
Гемофильной инфекции

▼ Дифтерии, кашлюка, столбняка
.....
Полиомиелита
.....
Гемофильной инфекции

▼ Дифтерии, кашлюка, столбняка
.....
💧 Полиомиелита

▼ Гепатита В2
.....

▼ Кори, краснухи, паротита
.....

▼ Дифтерии, кашлюка, столбняка
.....
Гемофильной инфекции
.....
💧 Полиомиелита

▼ Дифтерии, столбняка
.....
Кори, краснухи, паротита
.....
💧 Полиомиелита

▼ Туберкулеза*
.....

▼ Дифтерии, столбняка
.....
💧 Полиомиелита

▼ Дифтерии, столбняка
.....



12 месяцев



18 месяцев



6 лет



7 лет



14 лет



18 лет

* только в случае негативной реакции манту