



# **Воздушно-капельные инфекции :**

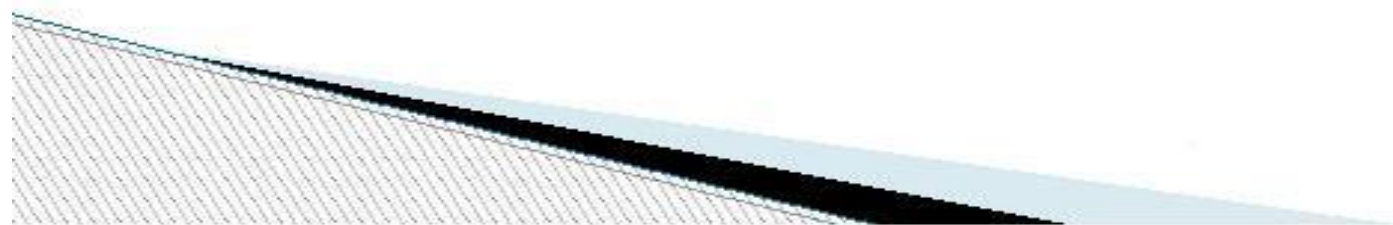
**Дифтерия**

**Коклюш и паракоклюш**

Преподаватель МК №3 – Мысина Л.Ю.

# Определение дифтерии

- ▶ Дифтерия - острое антропонозное инфекционное заболевание (токсикоинфекция), характеризуется фибринозным воспалением в месте входных ворот и общей интоксикацией с преимущественным поражением сердца, почек и нервной системы

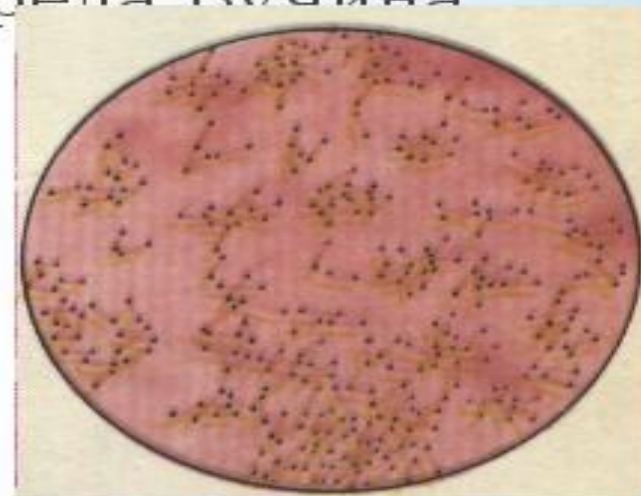


## Этиология дифтерии

- Семейство: **Corynebacteriaceae**
  - Род: **Corynebacterium**
  - Вид: **Corynebacterium diphtheriae**
- **C. diphtheriae** обнаружен в 1883 г.  
Э. Клебсом, выделен в чистой культуре  
Ф. Леффлером в 1884 г.

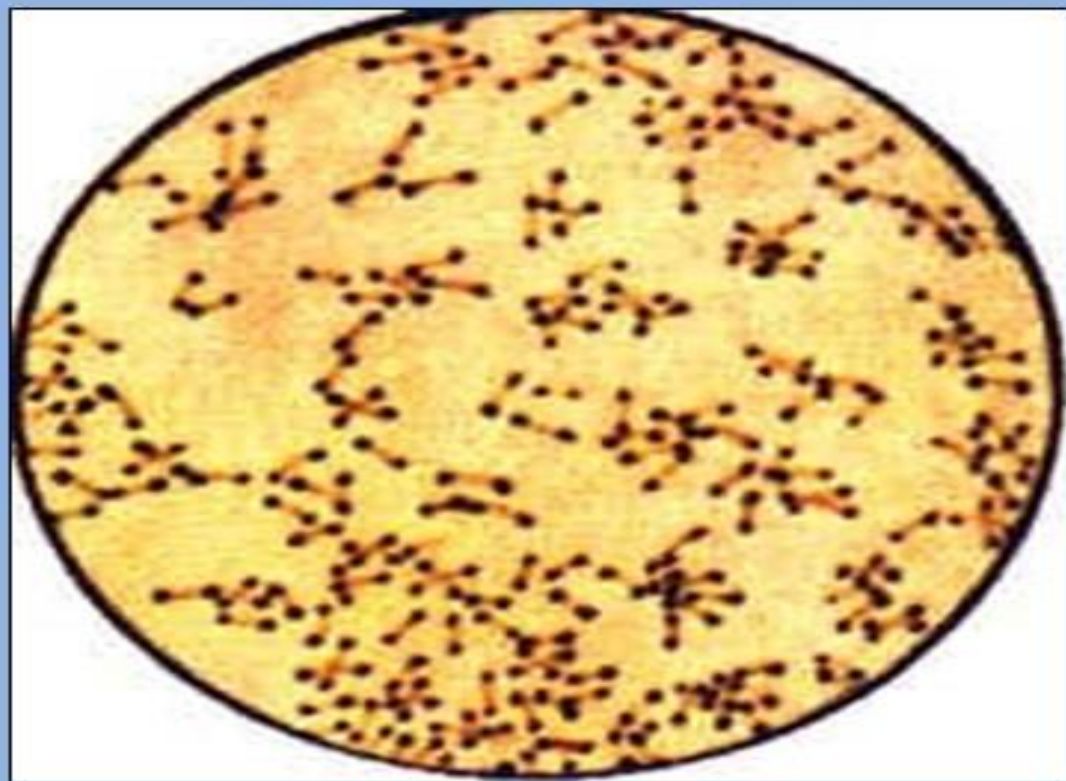
# Культуральные свойства

\*Факультативный аэроб. Температурный оптимум 37°C, pH 7,6—7,8. На простых питательных средах растет плохо. Для выращивания используют элективные сывороточные среды (Ру и Леффлера) и среды с теллуридом калия: кровяно-тёллуридовые (среда Клауберга), сывороточно-теллуридовые (среда Гинсдаля), ая среда Бучина



## Окраска:

по Нейссеру



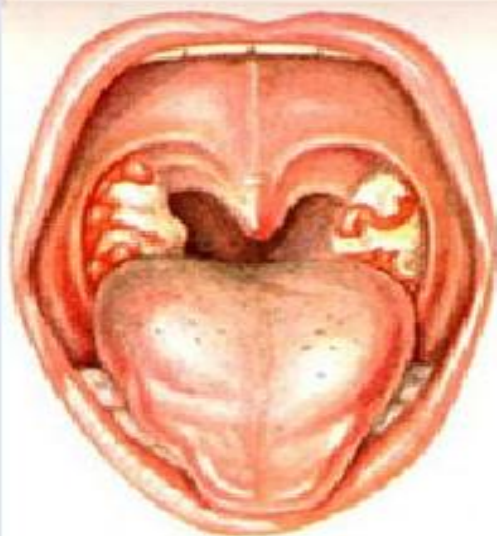
по Лёффлеру



# Дифтерия

- Инфекционное заболевание, распространяющееся воздушно-капельно

## Виды дифтерии



Локализованная  
дифтерия  
ротоглотки



Токсическая  
дифтерия  
ротоглотки



Распространенная  
дифтерия  
ротоглотки

# Лабораторная диагностика (схематично)



Материал



Бактериоскопическое исследование

Бактериологическое исследование

1 этап

Окраска мазков корифосфином

Окраска мазков по Граму и Нейссеру

Посевы на свернутую сыворотку, кровяной агар или среду Клауберга

2 этап

*Ответ*

Характер культур и колоний

Окраска мазков по Граму и Нейссеру

3 этап

Посев на свернутую среду (чистая культура)

Посев на «пестрый» ряд

Гемолиз

Определение токсигенности

Проба на цистиназу

Проба на уреазу

Реакция агглютинации

# Лабораторная диагностика

**1 день**

**Забор материала на дифтерию** проводят двумя стерильными тампонами: один используют для посева, с другого делают мазки и окрашивают их по Граму и Нейссеру. Взятый материал следует доставлять в лабораторию не позднее чем через 3 ч.





# Лабораторная диагностика (схематично)

1 день



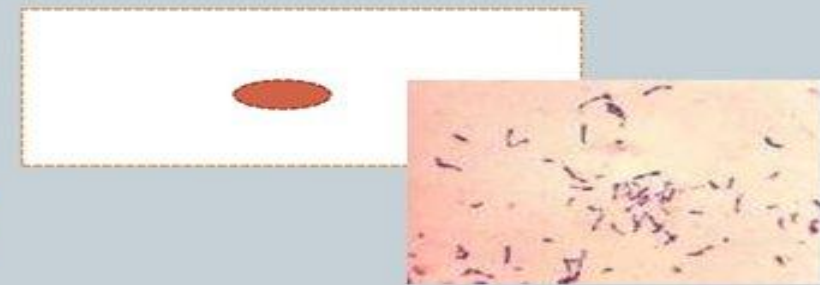
Посев на  
элективную ср.  
(кровяной агар)



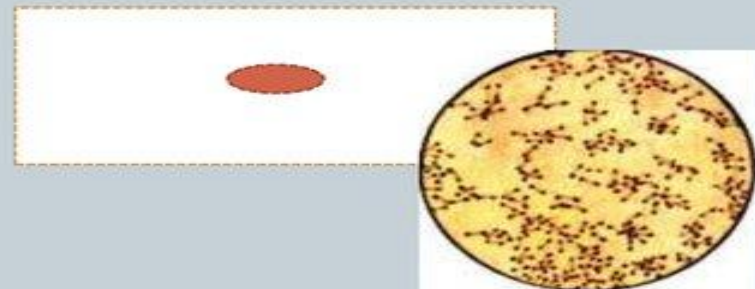
Материал для  
исследования



Термостат, 24ч, 37°C



Окраска по Граму

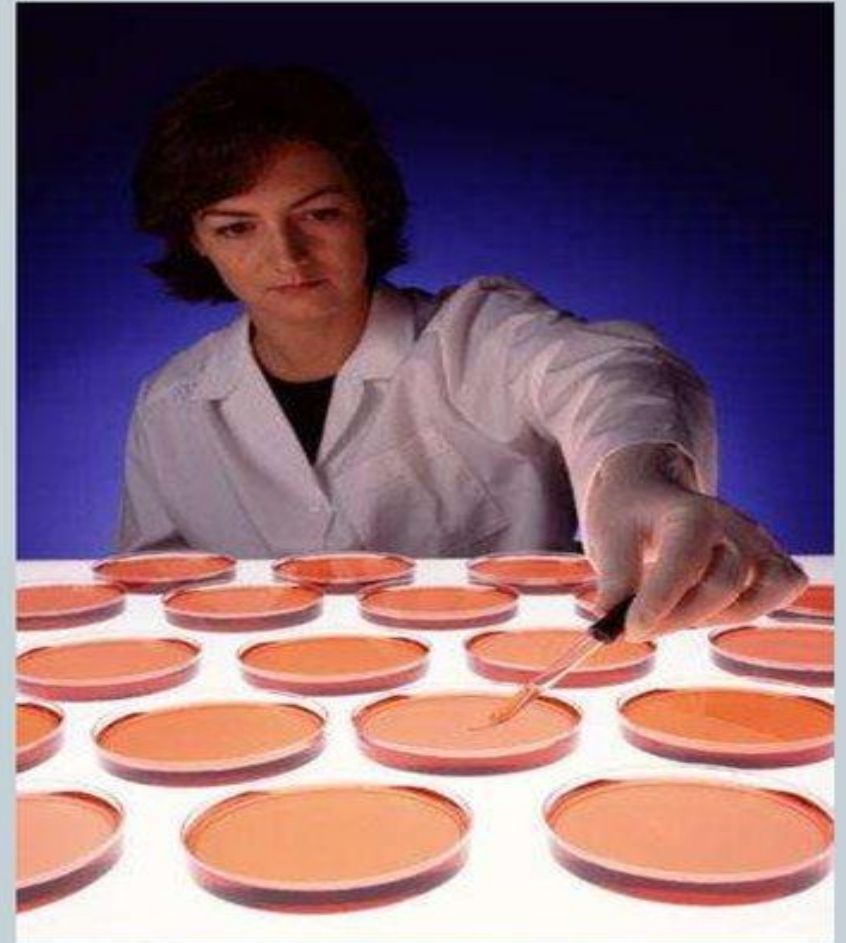
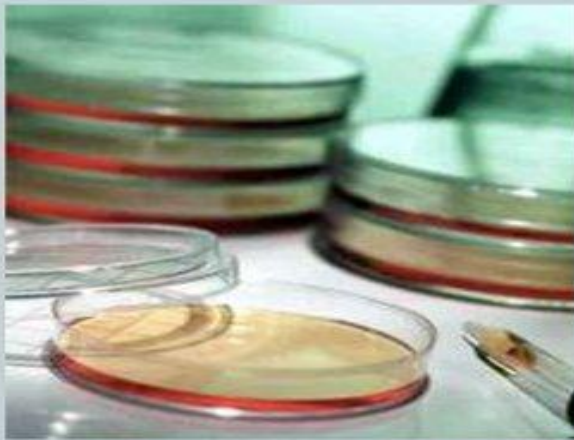


Окраска по Нейссеру

# Лабораторная диагностика



Посев материала производят на одну из элективных сред: кровяной агар, среда Клауберга и др. Материал втирают тампоном в поверхность среды.



# Лабораторная диагностика (схематично)



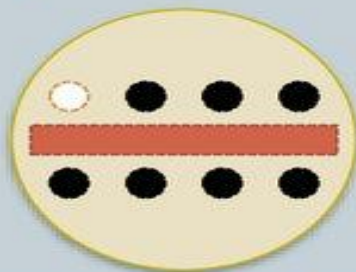
Рис. 3.89. Колонии *C. diphtheriae gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

2 день

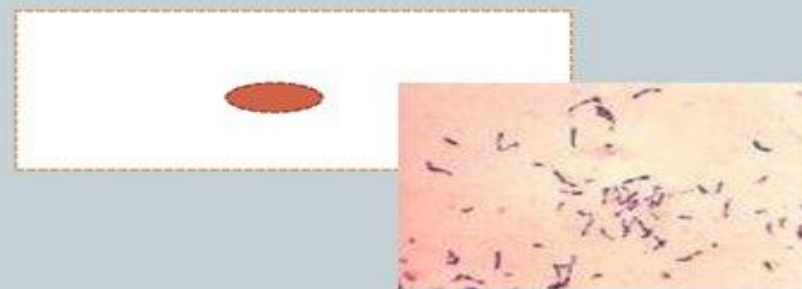
Изучение культуральных свойств



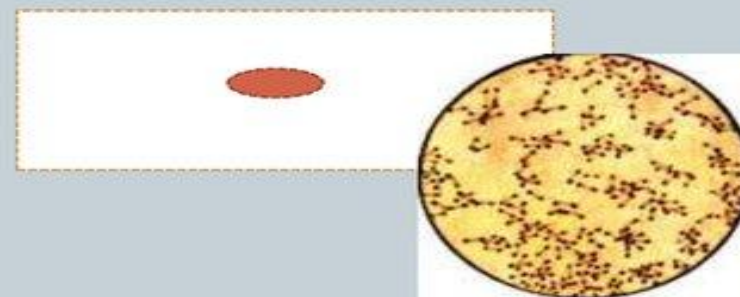
Пересевают на сывороточную среду



Пересев на фосфатно-пептонный агар (ср. Илека)



Окраска по Граму



Окраска по Нейссеру

# Лабораторная диагностика



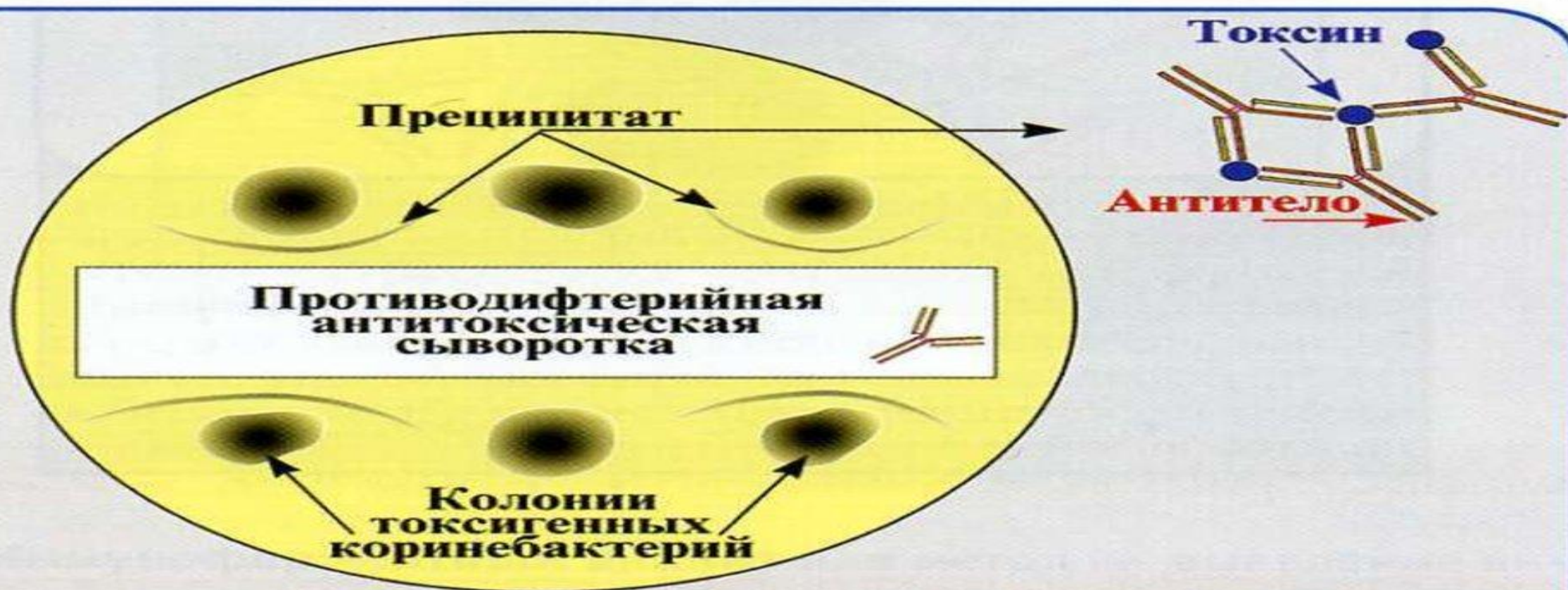
## **Проведение исследования**

- 1. Определение токсигенных свойств коринебактерий дифтерии с помощью реакции двойной иммунопреципитации в плотном агаровом геле.*

Чашку Петри со средой для определения токсигенности дифтерийных микробов подсушить при температуре 37°C в течении 15-20 минут. Затем на поверхность агара стерильным пинцетом поместить индикаторные бумажные диски с дифтерийным антитоксином.



## Модифицированный метод Илека



**Определение токсигенности дифтерийной палочки (преципитация в агаре).**

**В центре - колонии нетоксигенного штамма.**

**Рис. 7.55.** Реакция преципитации в агаре для определения дифтерийного экзотоксина

# Лабораторная диагностика



## 3 день

Учитывают результаты на кровяном агаре и на среде Илека. Делают пересев на «пестрый ряд», пробу на цистиназу и уреазу.

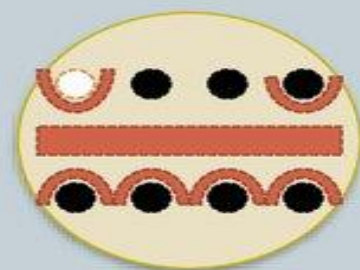


**Рис. 3.89.** Колонии *S. diphtheriae gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

# Лабораторная диагностика (схематично)



**3 день**



Определение токсигенности культур in vitro (метод Илека)

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

Изучение культуральных свойств чистой культуры



Изучение ферментативных свойств



цистин



пиразинамид



глюкоза



сахароза



крахмал



мочевина



## Положительная проба Пизу на наличие цистиназы

**В составе питательной среды: цистин и уксусно - кислый свинец.**

**Цистиназа расщепляет цистин, выделяется сероводород, который взаимодействуя с индикатором, образует серно - кислый свинец - соединение темно - коричневого цвета.**

**Инкубация 37 °С – 24 часа  
Ускоренный метод - большое количество культуры – 3 часа.**



## Проба на наличие уреазы



***C. diphtheriae***  
не имеет уреазы

В составе питательной среды: мочевины и фенолрот (крезолрот).

Уреаза расщепляет мочевины с образованием аммиака и углекислоты. Повышается pH среды - покраснение индикатора.

При отсутствии фермента среда остается желтой.

Ускоренная проба Заксе: 37 °C – 30 мин.  
Бульон с мочевиной: 37 °C – 24 часа

# Лабораторная диагностика (схематично)



**4 день**

Изучение ферментативных свойств

Коринебактерии	Тест					
	цистин	мочевина	глюкоза	сахароза	крахмал	мочевина
<i>C. diphtheriae</i>						
<i>gravis</i>	+	-	+	-	+	+
<i>mitis</i>	+	-	+	-	-	+
<i>intermedius</i>	+	-	+	-	-	+

Цвет среды в пробирке с цистином чернеет. Почернение происходит в результате того, что фермент цистиназа расщепляет цистин и освобожденная сера вступает в реакцию с ацетатом свинца – образуется сульфид свинца черного цвета.

Цвет среды в пробирке с мочевиной – малиново-красный

# Лабораторная диагностика дифтерии

Клинический материал: мазок из зева, слизь из носоглотки и др.

## Методы:

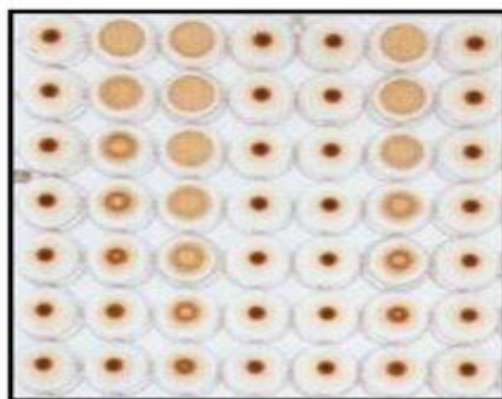
- **бактериоскопический** (окраска мазка по Леффлеру и Нейссеру – предварительный);
- **бактериологический (культуральный)** – основной:
  - 1 этап: посев клинического материала на кровяной теллуритовый агар (среда Клауберга).
  - 2 этап: макроскопическое изучение колоний, мазок по Леффлеру или Нейссеру;
  - 3 этап: идентификация по совокупности свойств: культуральных, морфологических, тинкториальных, биохимических, токсигенности (методом Оухтерлони), и чувствительности к антибиотикам.
- **серологический** (ИФА, латексагглютинация, реакция нейтрализации антител, РНГА) для обнаружения антител и/или токсина в сыворотке крови;
- **проба Шика** – реакция нейтрализации токсина *in vivo*.

# Лабораторная диагностика

## Экспресс-методы

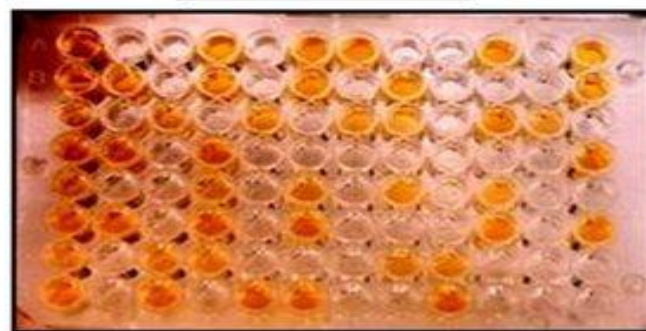
Отделяемое ран, кусочки тканей, кровь,  
объекты окружающей среды и тд.

Реакция  
Непрямой  
Гем  
Агглютинации



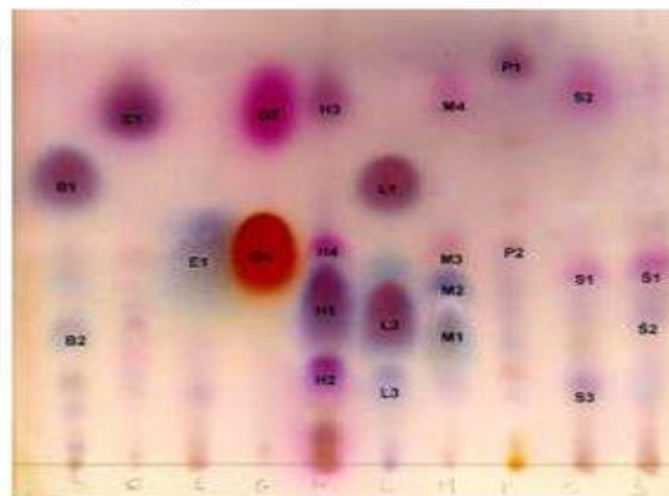
С антительным  
специфическим  
диагностикумом

Иммуно  
Ферментный  
Анализ

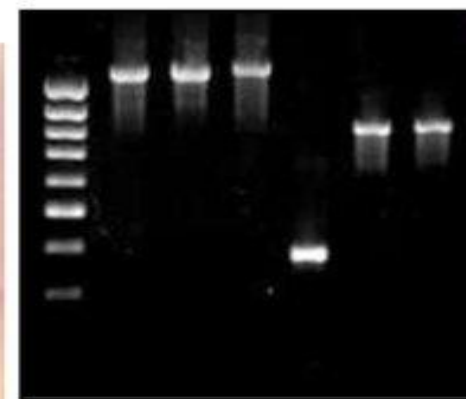


Выявление токсина

Хроматография



Полимеразная  
цепная  
реакция



Выявление ДНК  
микрорганзизма

# Профилактика дифтерии

## Активная иммунизация

- проводится всем детям (с учетом противопоказаний) адсорбированной коклюшно-дифтерийно-столбнячной вакциной (АКДС) и адсорбированным дифтерийно-столбнячным анатоксином (АДС).
- первичная вакцинация проводится, начиная с 3-месячного возраста троекратно по 0,5 мл вакцины с интервалом 1,5 месяца
- ревакцинация той же дозой вакцины – в 18 мес.
- в возрасте 6 и 14 лет детей ревакцинируют только против дифтерии и столбняка АДС-М-анатоксином
- взрослые с 18 лет ревакцинируются каждые 10 лет от момента последней вакцинации.

**Коклюш и паракоклюш** — это острые антропонозные инфекционные заболевания человека, которые характеризуются поражением верхних дыхательных путей и приступами спазматического кашля.



# БОРДЕТЕЛЛЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ КОКЛЮША

- **Род: Bordetella**

## **Патогенные виды:**

**B. pertussis** – вызывает коклюш,

**B. parapertussis** – вызывает паракоклюш; сходен с коклюшем, но протекает легче;

**B. bronchiseptica** – вызывает бронхисептикоз, у человека встречается редко, в основном у работников собачьих питомников и кролиководов (этот микроорганизм вызывает респираторные заболевания у собак, кошек и кроликов); у человека клинически протекает как острая респираторная вирусная инфекция, под этим диагнозом, как правило, и регистрируется.

# Возбудитель коклюша



- **Возбудитель коклюша — *Bordetella pertussis*—** был выделен из мокроты ребенка, больного коклюшем, в 1906 г. Борде и Жангу.
- В 1937 г. был описан микроб от больного коклюшем, сходный, но не идентичный с бактерией *пертуссис* (коклюша), названный бактерией *парапертуссис* (паракоклюша).
- **Морфология:** короткая грамотрицательная овоидной формы палочка размером 0,2 на 0,4—1,2 мкм. При окраске толуидиновым синим обнаруживаются биполярно расположенные метакроматические гранулы. У палочки коклюша можно обнаружить также капсулу.



← *B. parapertussis*

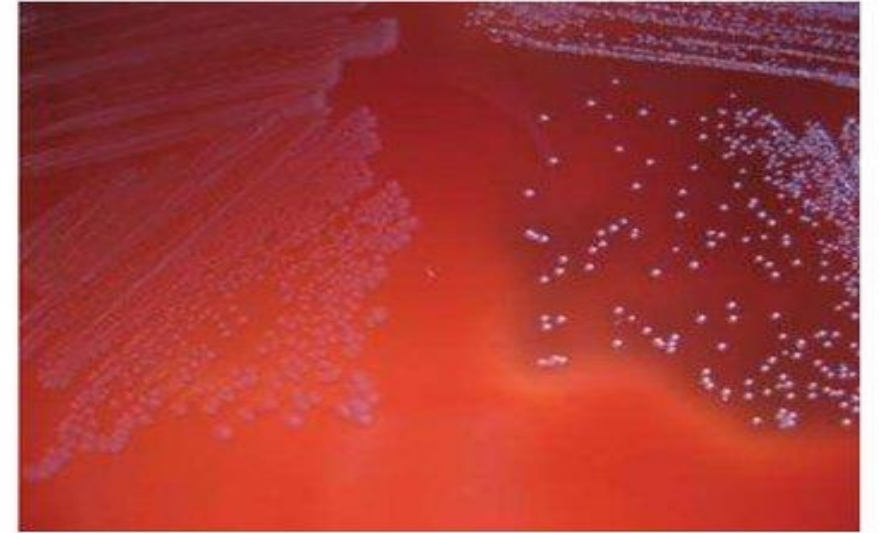


## *Возбудитель паракоклюша* - Bordetella parapertussis

- вызывает сходное с коклюшем заболевание, но легче протекающее
- возбудитель отличается по культуральным, биохимическим и антигенным свойствам
- паракоклюш распространен повсеместно и составляет примерно 15% от числа заболеваний с диагнозом коклюш
- перекрестный иммунитет при этих болезнях не возникает
- иммунопрофилактика паракоклюша не разработана

# Культуральные свойства

- ❑ Оптимальная  $t$  культивирования 35-37°C при pH 7,2.
- ❑ Не растет на простых питательных средах, культивируется на картофельно-глицериновом агаре с кровью (среда Борде-Жангу) и на полусинтетическом казеиново-угольном агаре без добавления крови (КУА).
- ❑ Характерна R-S-трансформация, т. е. переход от вирулентной S-формы через промежуточные стадии в авирулентную R-форму в процессе культивирования
- ❑ Свежие изоляты бордетелл, т.е. чистая культура бактерий, выделенная от больного, представляет собой S-форму (I фаза)



Рост *Bordetella pertussis* на агаре Борде-Жангу- колонии выпуклые, гладкие, блестящие, серебристого цвета, напоминающие капли ртути, окруженные зоной гемолиза – «жемчуг на красном бархате»



Рост *Bordetella pertussis* на казеиново-угольном агаре – колонии выпуклые, гладкие, серого цвета, с жемчужным, желтоватым или беловатым оттенком – «жемчуг на черном бархате»

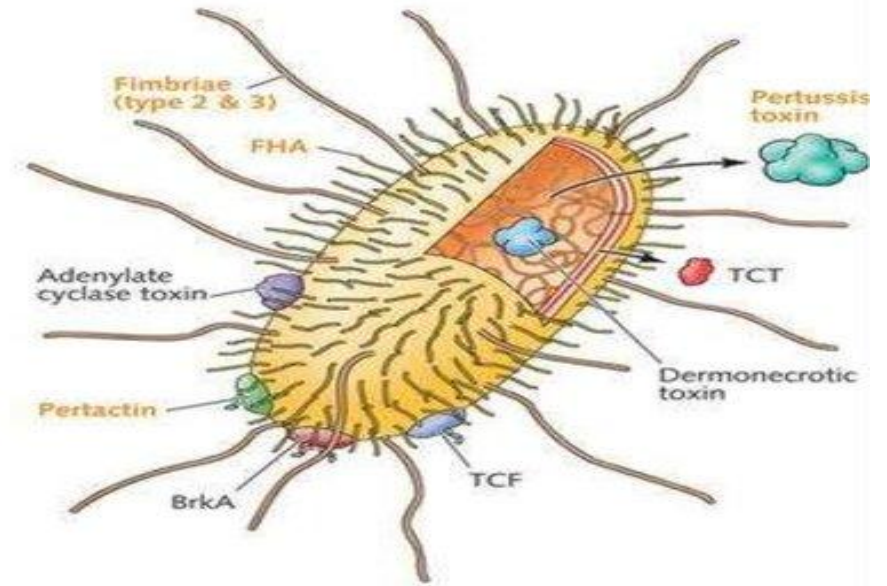
# Антигенная структура бордетелл

Выделяют **14 агглютиногенов**, являющихся поверхностными термолабильными капсульными К-антигенами (К-АГ), которые принято называть факторами.

**Фактор 7** является общим для всех бордетелл - **родоспецифический АГ**.  
**Фактор 1** - **видоспецифический АГ** *B. pertussis*,

**фактор 14** - **видоспецифический АГ** для *B. parapertussis*,

**фактор 12** является основным у *B. bronchiseptica*. Их выявляют в реакции агглютинации с моноклональными сыворотками.



Бактерии рода *Bordetella* также имеют соматический термостабильный **родоспецифический O-антиген**, обнаруживаемый у вирулентных S-форм бордетелл всех видов.

# **Факторы патогенности *B.pertussis***

## **Токсические вещества**

- **Эндотоксин (ЛПС)** - системное воздействие (лихорадка)
- **Трахеальный цитотоксин** ( муреин)  
- разрушает клетки реснитчатого эпителия
- **Коклюшный токсин** – термостабильный, системное и местное воздействие, биохимическая активность - АДФ-рибозилирующий белок, нарушающий хемотаксис нейтрофилов, процесс фагоцитоза

**Механизм действия:** воздействуя на G-белок клеточной мембраны, способствует повышению внутриклеточного синтеза цАМФ и выделению слизи из клеток эпителия в виде вязкой мокроты

# ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

- Коклюш - строгий антропоноз.
- **Источник инфекции** - больной с любой формой и бессимптомное бактериовыделение.
- В катаральный период и в 1 нед. спазматического кашля - 90-100% детей выделяют палочку.
- На 2 неделе - 60-70%.
- На 3 неделе - 30-35%
- На 4 неделе - 10%
- **Путь передачи** - воздушно-капельный.
- Благодаря крупнодисперсному характеру выделяемого аэрозоля передача микроба возможна только при тесном контакте (на 2-2,5 метров)



# Эпидемиология

- В естественных условиях к коклюшу восприимчив **только человек**.
- **Источник инфекции** при коклюше и паракоклюше – **больной человек** типичной или стертой формой, особенно в период до появления спазматического кашля или **бактерионоситель**.
- **Путь передачи** возбудителя - **воздушно-капельный**. Бордетеллы обладают специфическим **тропизмом** к реснитчатому эпителию респираторного тракта хозяина. К инфекции восприимчивы люди всех возрастов, но более всего дети от 1 года до 10 лет.
- Наиболее тяжело коклюш протекает у детей первого года жизни.

# Патогенез коклюша



Входные ворота  
инфекции

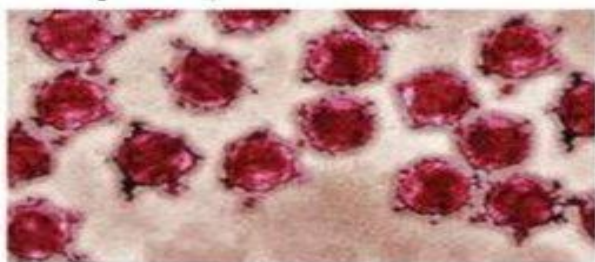
Возбудитель коклюша попадает на слизистую оболочку верхних  
дыхательных путей



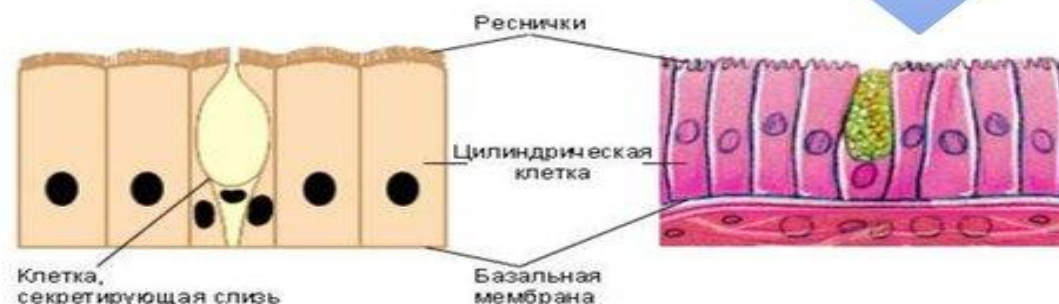
Бактерии прикрепляются к клеткам реснитчатого эпителия трахеи, происходит  
колонизация возбудителя коклюша на клетках цилиндрического эпителия, в ходе которой  
микробы выделяют токсины

Коклюшная палочка образует экзотоксин, который оказывает выраженное  
влияние на весь организм: на дыхательную, сосудистую, нервную и  
иммунную системы. На месте адгезии возникает цилистаз, кровоизлияние,  
некроз эпителия. Клиника при этом соответствует продромальному периоду:  
появляется кашель, не отличающийся от такового при других респираторных  
инфекциях

Точка  
приложения



Поражение  
мерцательного  
эпителия ВДП



# КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

- **Особенность коклюша** – постепенное развитие клинических симптомов с максимальной выраженностью через 2-3 недели от начала заболевания.
- Характерна **цикличность**:
  - инкубационный период,
  - продромальный - катаральный (псевдокатаральный),
  - спазматический,
  - разрешения,
  - реконвалесценции.
  - **Инкубационный период** - 3-15 дней
  - **Катаральный период** - 3-14 дней
  - **Спазматический период** - от 1,5 до 8 недель.
  - **Период разрешения** - 2-4 недели.
  - **Период реконвалесценции** - 2-6 месяцев.



# Как распознать коклюш

(основные симптомы)



Сухой навязчивый кашель, усиливающийся по ночам

Постепенно приступы кашля становятся чаще (до 30 в день), продолжительнее и сильнее

Отечность лица, в частности век

Затрудненный вдох, остановка дыхания



→ Нарушение сна

→ Раздражительность, слабость, вялость

Может развиваться конъюнктивит



Язвочка на уздечке



Температура тела остается нормальной



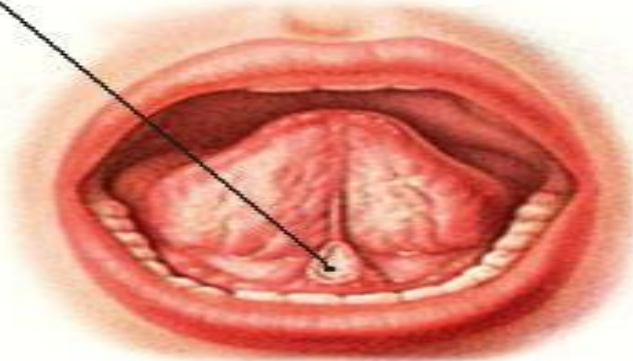
Осложнения



пневмония



бронхит



плеврит



гнойный отит



Спазматический кашель -  
главный признак коклюша



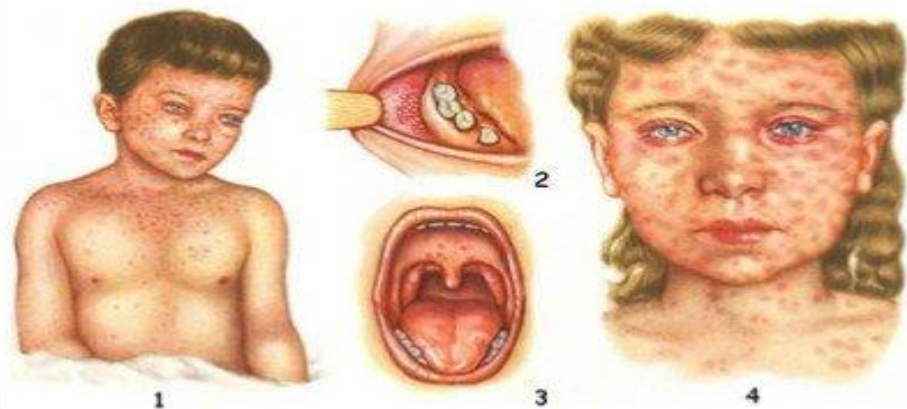
3 ден -  
левкоцитоза  
с лимфоцитоза

2 ден - плака с накаляно. Пертусисните  
бактерии са грам негативни изглеждат като на  
групи по 2

5 ден -  
конюнктивални  
хеморагии от  
съдова увреда от  
кашлищата

4 ден - лицето на  
страдалеца  
сълзене от очите

6 ден - рана на френулума - от  
триене на долните резци при  
кашлищата



1

3

4

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

- **Бактериологический метод**
- выделение *Bordetella pertussis* из слизи задней стенки глотки (до начала а/б терапии, через два часа после еды).
- Применяют 2 способа – «метод кашлевых пластинок» и «заднеглоточного тампона».
- **Среды** – картофельно-казеиновый агар, угольный агар (30-50%).
  
- Информативность не высокая (15-20%), преимущественно в **ранние сроки заболевания** (до 2-й недели периода спазматического кашля).
- 
- **Серологический метод (РПГА, РА).**
- Диагностический титр 1:80, нарастание в парных сыворотках в 4 раза
  
- **Экспресс-методы:**
- **ИФА** в крови – IgM в ранние сроки и IgG – в поздние, ИФА на тестовых полосках. Вестерн-блот
- иммунофлюоресцентный метод (**РИФ**),
- реакция латексной микроагглютинации (**ЛМА**)
- Молекулярно-биологический – **ПЦР**.
  
- **Неспецифические методы:** гематологический: лейкоцитоз с лимфоцитозом при нормальной или замедленной СОЭ.

Свойство	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. bronchiseptica</i>	<i>B. avium</i>
Скорость роста колоний (в днях)	3—4	2—3	1—2	1—2
Рост на простом агаре	—	+	+	±
Коричневый пигмент	—	+	—	?
Уреазная активность	—	+	+ (медл.)	—
Использование цитрата	—	+	+	?
Оксидазная активность	+	—	+	+
Восстановление нитратов	—	—	+	—
Подвижность	—	—	+	+
Аденилатциклаза	+	+	+	?
Специфический антиген	1, 2, 3	14	12	?
Капсула	+	—	—	?
Проба Дольда	Некроз	Некроз	—	?
Продолжительность иммунитета:				
после заболевания	Много лет	?	около 1 года	
после вакцинации	2—3 года	?	?	
Кашель после заболевания	Длительный	—	—	
Лимфоцитоз	+	—	—	
Гипогликемия	+	?	—	

# Профилактика коклюша

## Неспецифическая

- Выявление и изоляция больных для лечения

## Специфическая

- **убитая коклюшная вакцина** в составе АКДС
- нормальный человеческий **иммуноглобулин** (при контакте с больным детям до года и неиммунизированным)

# Профилактика коклюша

## Неспецифическая

- Выявление и изоляция больных для лечения

## Специфическая

- **убитая коклюшная вакцина** в составе АКДС
- нормальный человеческий **иммуноглобулин** (при контакте с больным детям до года и неиммунизированным)

**Спасибо  
за  
внимание!!!**