



**Микробиология
возбудителей
дифтерии,
туберкулёза и
проказы.**



Оренбург - 2018



План лекции

1. Клинически значимые представители коринебактерий.
 2. Возбудитель дифтерии. Таксономическое положение. Морфологические, тинкториальные и культурально-биохимические свойства.
 3. Факторы патогенности *Corynebacterium diphtheriae*. Эпидемиология, патогенез и клиническая картина дифтерии.
 4. Микробиологическая диагностика. Лечение и профилактика.
 5. Возбудители туберкулёза. Таксономическое положение. Морфологические, тинкториальные и культурально-биохимические свойства.
 6. Факторы патогенности возбудителей туберкулёза.
 7. Эпидемиология, патогенез и клиническая картина туберкулёза.
 8. Микробиологическая диагностика. Туберкулинодиагностика.
 9. Лечение и профилактика туберкулёза.
 10. Проказа. Морфологические, биохимические свойства возбудителя. Клинические проявления, патогенез, лабораторная диагностика, профилактика и лечение.
-

Клинически наиболее значимые коринебактерии, в патологии человека

Виды рода <i>Corynebacterium</i>	Болезнь
<i>C.diphtheriae</i>	Дифтерия
<i>C.ulcerans</i> *	Ангина у иммунодефицитных лиц
<i>C.jejkeium</i> (группа JK)	Септицемия, инфекции мягких тканей
<i>C.urealyticum</i> (группа D2)	Инфекции мочевого тракта (пиелонефрит, цистит и др. оппортунистические инфекции)
<i>C.minutissimum</i>	Эритразма, оппортунистические инфекции
<i>C.xerosis</i>	Оппортунистические инфекции
<i>C.pseudodiphtheriticum</i>	Эндокардит, оппортунистические инфекции
<i>C.stratum</i>	Оппортунистические инфекции
<i>Arcanobacterium</i> (ранее <i>Corynebacterium</i>) <i>haenolyticum</i>	Хронические тонзиллиты, поражение кожи
* <i>C.ulcerans</i> – вид мелких палочковидных грамположительных бактерий рода <i>Corynebacterium</i> .	

РОД CORYNEBACTERIUM

Патогенные

Условно-патогенные

Непатогенные

ВИДЫ

C.diphtheri

C.ulcerans

C.cistitidis

C.hofmani
i

C.haemolyti
cus

C.xerosis

C.vaginale

БИОВАРИ

gravis

mitis

intermediu

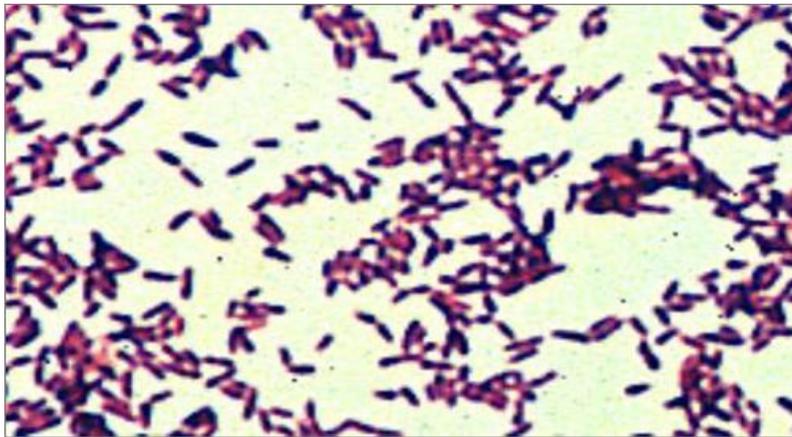
s

Род *Corynebacterium*

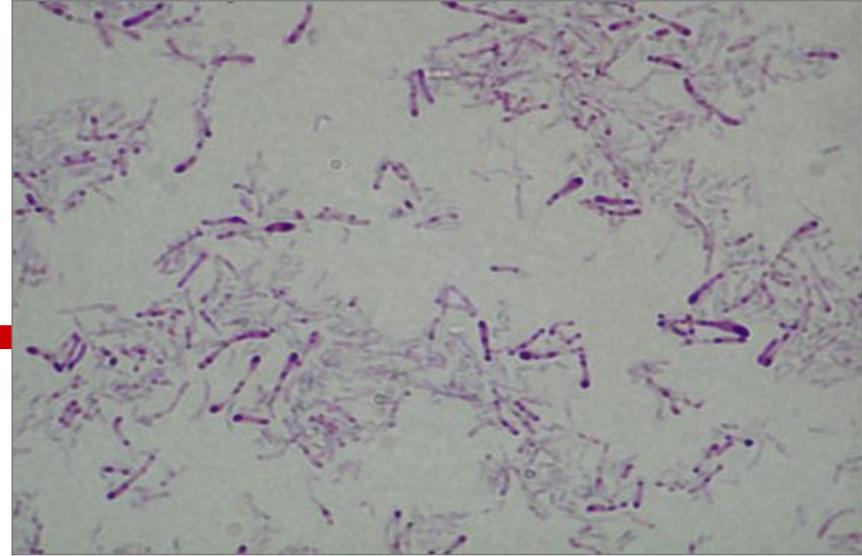
Вид *Corynebacterium diphtheriae*

Морфология

- ❑ располагаются в виде V;
- ❑ неподвижны;
- ❑ клеточная стенка содержит миколовую кислоту, корд-фактор;
- ❑ при окраске по Леффлеру и Нейссеру эксцентрически визуализируются зёрна волютина.



C.diphtheriae окраска по Граму



C.diphtheriae окраска по Леффлеру



C.diphtheriae окраска по Нейссеру



Культуральные свойства

- ❑ факультативные анаэробы;
- ❑ растут на средах с кровью и сывороткой;
- ❑ на кровяном теллуритовом агаре образуют колонии двух типов;
- ❑ по характеру колоний, биохимическим свойствам и способности продуцировать гемолизин выделяют три биовара: *gravis*, *mitis*, *intermedius*

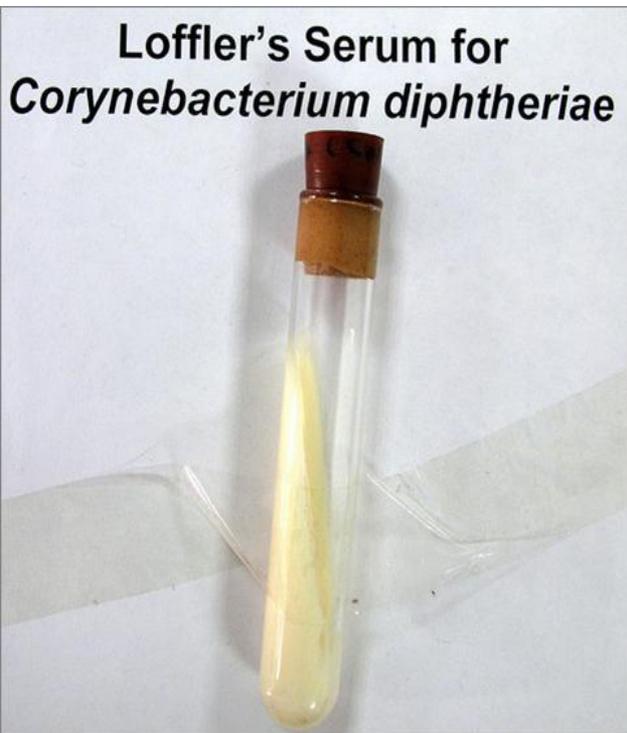
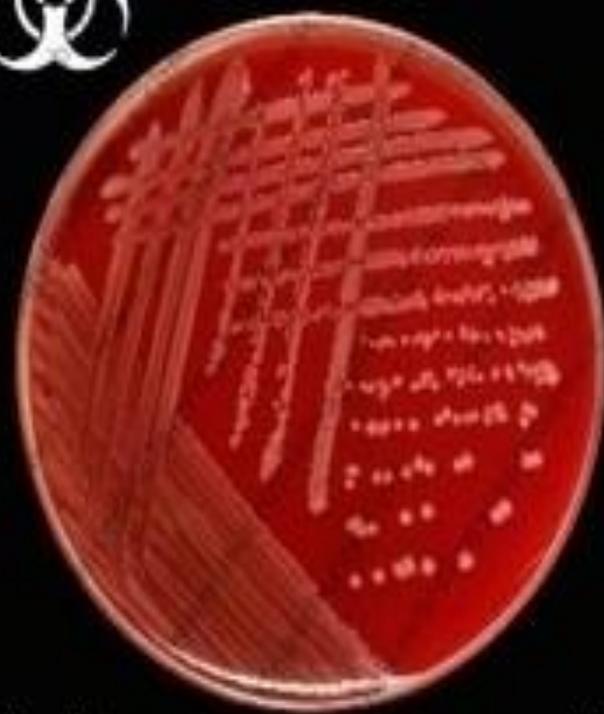


Рис. 3.89. Колонии *C. diphtheriae gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями



Blood Agar



Tinsdale Agar

after 72 hours of cultivation



Gram stain
(x1000)

"club" shape



24 hours

Corynebacterium diphtheriae
nontoxinogenic strain

Hom. s.N. agar plate with sheep blood (cultivation 24 hours; 37°C; 5% CO₂)

ДИФТЕРИЯ (ПАТОГЕНЕЗ)

VL

**ФАКТОРЫ
КОЛОНИЗА
ЦИИ**

- Бактериоцины
- Адгезины
- Fc-связывающие белки

**ФАКТОРЫ
ЗАЩИТЫ И
АГРЕССИИ**

- Гиалуронидаза
- Нейраминидаза
- Корд-фактор,
липиды

**ТОКСИ
НЫ**

- Гемолизин
- Экзотоксин –
гистотоксин
(некротоксин)

ВХОДНЫЕ ВОРОТА ИНФЕКЦИИ

Коагуляционный некроз слизистой оболочки

Фибринозное воспаление

ТОКСИНЕМИЯ

Сердце

**Перифе-
рические
нервы**

**Надпо-
чечники**

Факторы вирулентности *Corynebacterium diphtheriae*

Факторы вирулентности	Биологический эффект
Белковый экзотоксин (гистотоксин) состоит из А- и В-субъединиц	Нарушает синтез белка, поражая клетки миокарда, надпочечников, нервных ганглиев
Гликолипид (6-6'' – диэфир-трегалозы)	Нарушает фагоцитоз
Гиалуронидаза	Нарушают проницаемость ткани
Нейраминидаза	

Клинические проявления Дифтерия зева



Дифтерия кожи

Клинические проявления Дифтерия зева



Бычья шея

При дифтерии

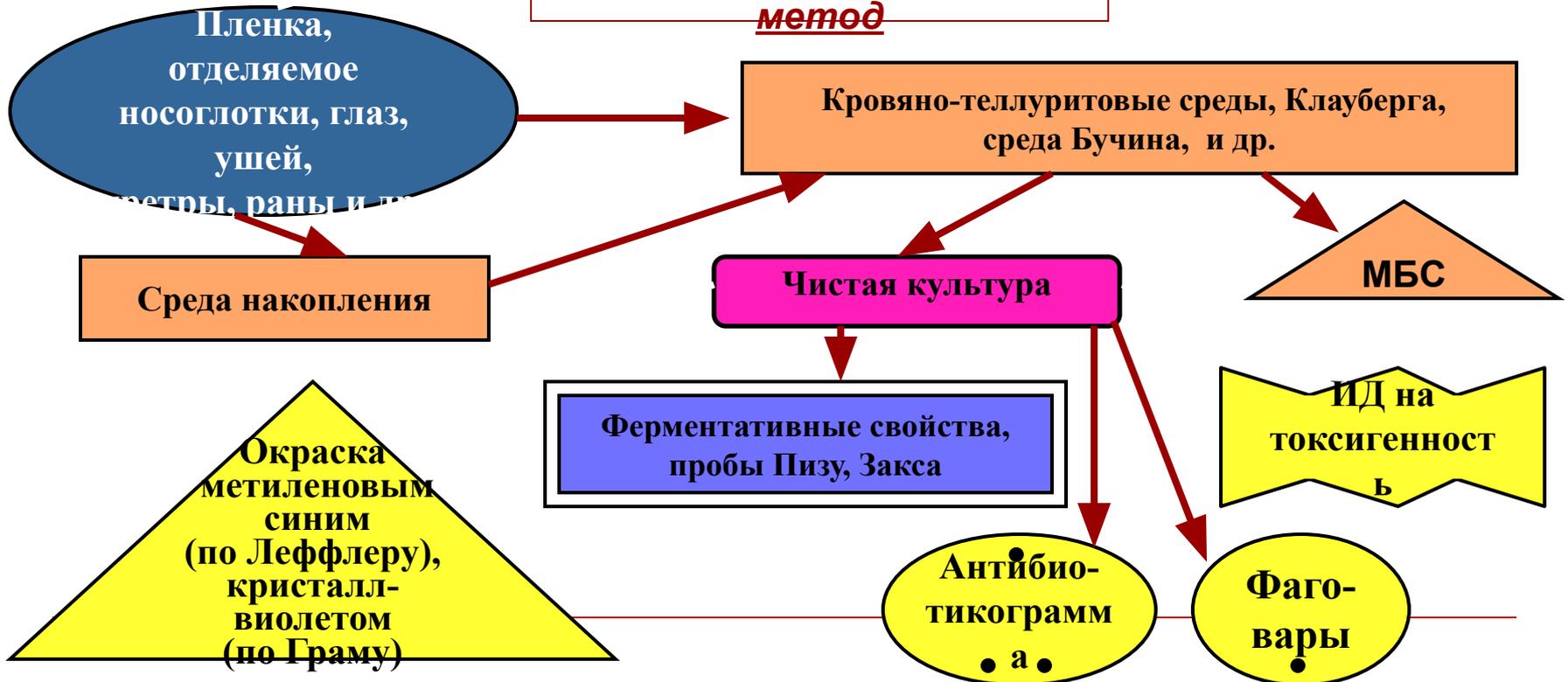
При паротите

Дифтерия. Микробиологическая диагностика.

Экспресс-метод

Окраска метиленовым синим (по Леффлеру), Нейссеру)

Бактериологический метод



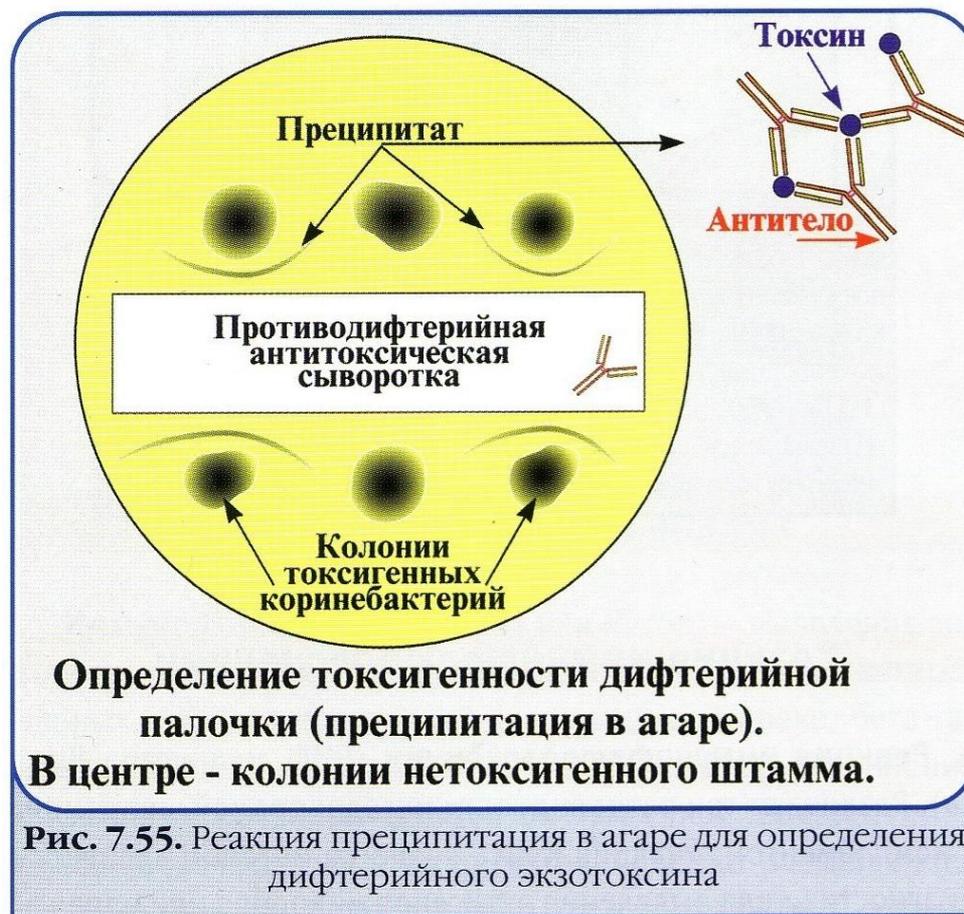
Лабораторная диагностика дифтерии

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*.
-

Двойная диффузия в геле по Оухтерлони



ДИФТЕРИЯ

• ЛЕЧЕНИЕ

• Противодифтерийная антитоксическая сыворотка

• 10.000 – 100.000 АЕ вводить методом А.М. Безредки

• ПРОФИЛАКТИКА

• Противодифтерийный анатоксин (Г. Рамон, 1923)

• Входит в состав вакцин: АКДС, АДС, АД
• Титр ≥ 60 ИЕ/мл (иммуногенных единиц)

ДИФТЕРИЯ (ИММУНИТЕТ)

АНТИТОКСИЧЕСКИЙ

**$AT \geq 0,1$
АЕ/МЛ**

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ

Местный

Иммунитет	Больной	Бактерио-носитель	Здоровый
<i>Антитоксический</i>	-	+	+
<i>Антибактериальный</i>	-	-	+

Специфическая профилактика

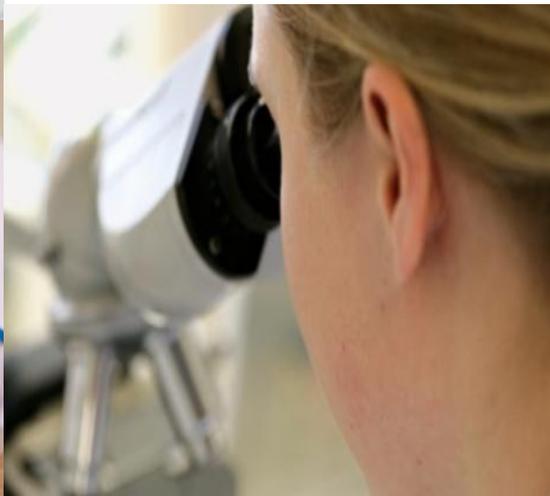
Действующее начало всех вакцин – дифтерийный анатоксин (дифтерийный гистотоксин, утративший токсичность):

- ❑ **АКДС** – адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина
- ❑ **АД** – адсорбированный дифтерийный анатоксин
- ❑ **АДС** – адсорбированный дифтерийно-столбнячный анатоксин
- ❑ **АДС-М анатоксин** -вакцина для профилактики дифтерии и столбняка с уменьшенным содержанием антигенов
- ❑ **Имовакс Д.Т. Адюльт** вакцина для профилактики дифтерии и столбняка, аналог АДС-М (Aventis Pasteur, Франция)
- ❑ **ДТ Вакс** вакцина для профилактики дифтерии и столбняка, аналог АДС (Aventis Pasteur, Франция)





Микробиология туберкулёза





А.П. Чехов и А.М. Горький. Ялта, 1900 г.

Туберкулёз-социальная болезнь



Особенности некоторых нетуберкулезных бактерий

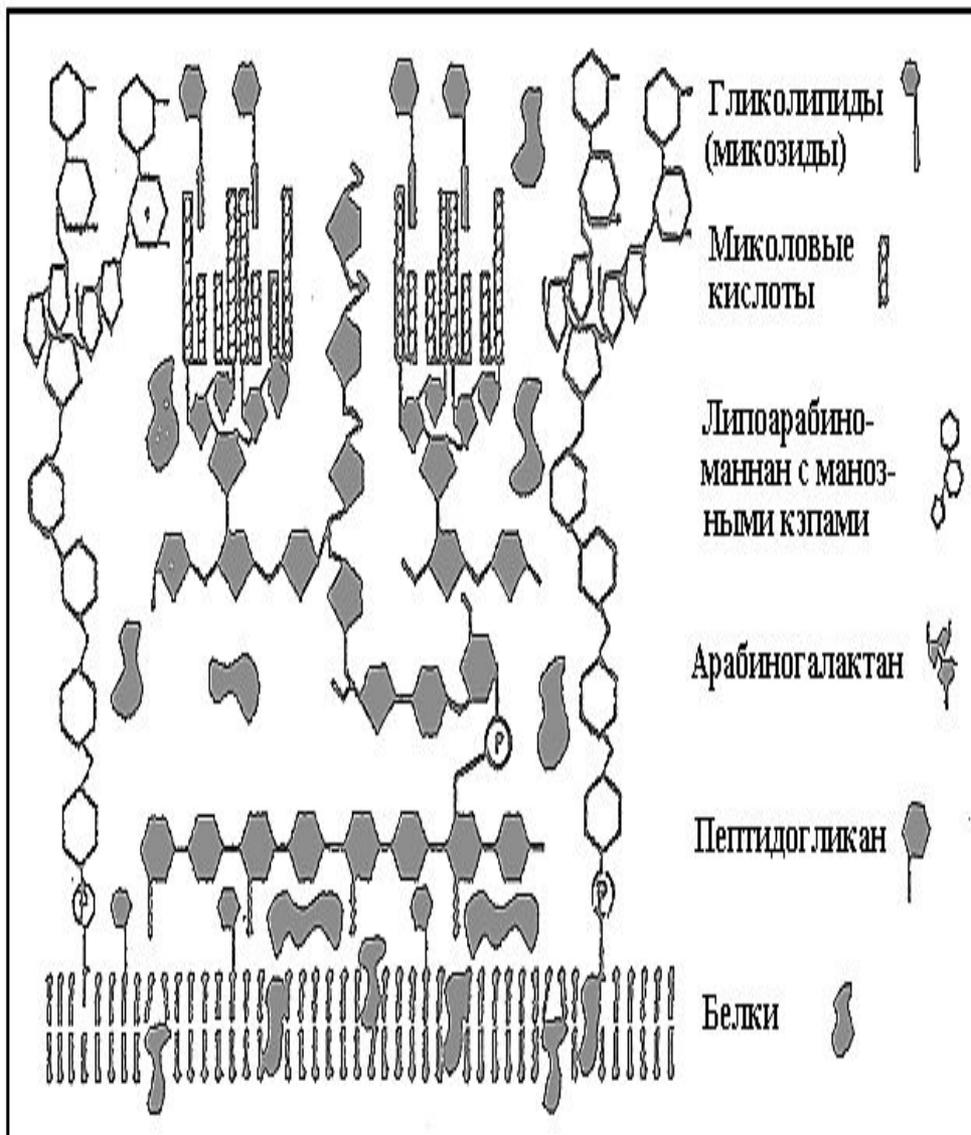
В и д	Резервуар	Основные поражения
M.kansasii	Окружающая среда	Туберкулезоподобные (легочные и внелегочные) поражения
M.avium-intracellulare	Окружающая среда, птицы	
M.schofulaceum	Окружающая среда	Лимфадениты
M.fortuitum	Окружающая среда	Кожные абсцессы
M.marinum	Окружающая среда, вода	Кожные гранулемы
M.ulcerans*	Окружающая среда	Кожные язвы (язва Бурули)
M.cheloniae	Окружающая среда	Абсцессы кожи и тканей
* Относится к M.tuberculosis complex		

МИКОБАКТЕРИИ, ПАТОГЕННЫЕ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА

Вид	Резервуар	Патогенность для человека	Основные поражения
<i>M.tuberculosis</i>	человек	+++	туберкулез
<i>M.bovis</i> (<i>africanum</i>)	животные	+++	туберкулез
<i>M.kansasii</i>	внешняя среда	+	туберкулезоподобные поражения
<i>M.avium</i> - <i>intracellulare</i>	птицы	+	туберкулезоподобные поражения
<i>M.ulcerans</i>	внешняя среда	+	кожные язвы
<i>M.leprae</i>	человек	+++	проказа

Микобактерии – сапрофиты: *M.phlei*, *M.smegmatis*

Принцип строения клеточной стенки микобактерий



Микроколонию (корд-фактор) *M. tuberculosis*: палочки, расположены в виде «косы», жгутов

ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ БК

ВИД	ШТАММЫ	% ЛИПОПОЛИСА ХАРИДОВ	% МИКОЛОВОЙ КИСЛОТЫ
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS	ВИРУЛЕНТНЫЙ	7,6	80
	АВИРУЛЕНТНЫЙ	0,56	0

КОРД-ФАКТОР: ГЛИКОЛИПИД, ФАКТОР ВИРУЛЕНТНОСТИ

Свойства *M.tuberculosis*, связанные с липидами

Гликолипиды (микозиды),
миколовые кислоты (корд-
фактор)

Устойчи-
вость
во внешней
среде

- Кислоты
- Щелочи
- Дезинфек-
танты
- Высыхание

Высокая
гидро-
фобность

- R-форма
- Защита от
макрофага

Низкий
метабо-
лизм

Медленное
размножение

Вирулент-
ность

- Блокада
фаголизосом
- Нейтрализац
ия
- антибактериаль
ных
факторов
- «Ускользание
»
в цитоплазму

Иммуно-
адью-
вантная
активность

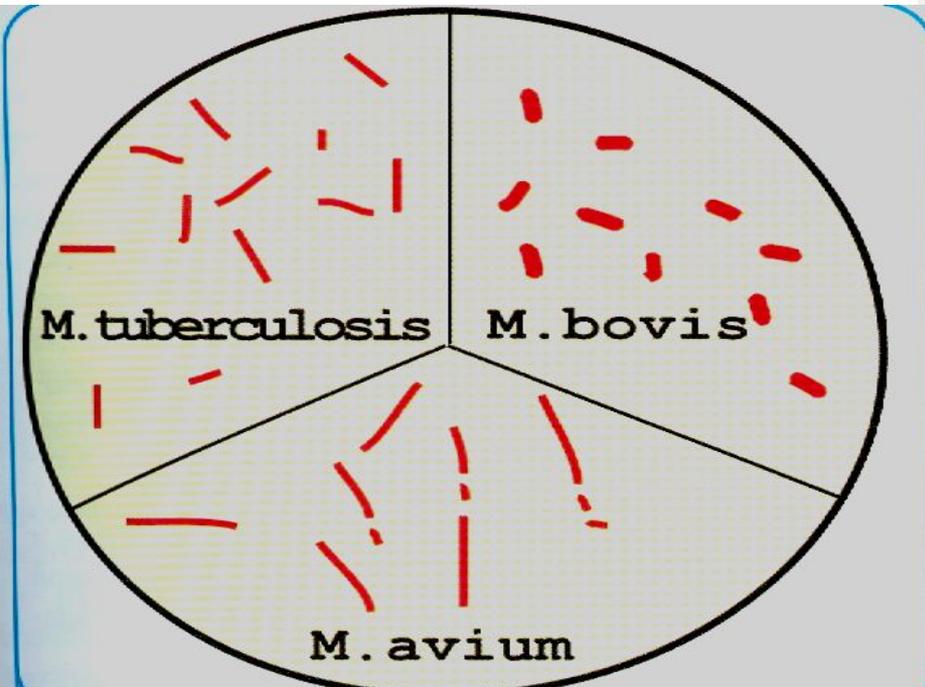
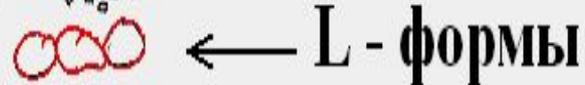
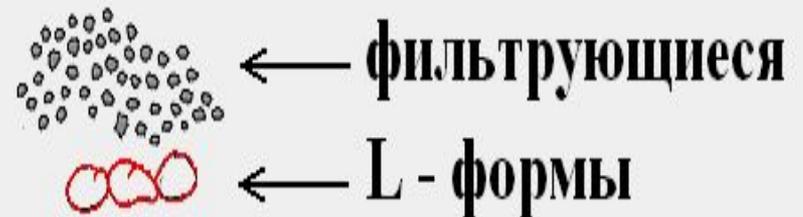
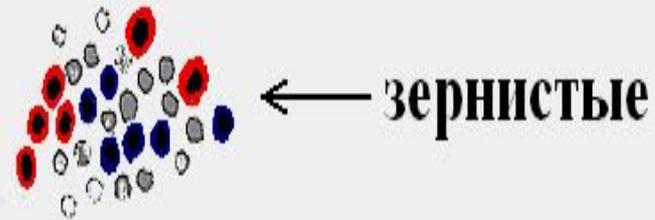
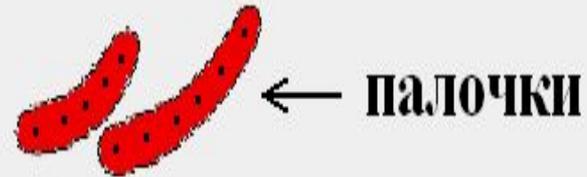
Отдел Firmicutes
Порядок Actinomycetales
Семейство Mycobacteriaceae
Род Mycobacterium

Морфология

Вид Mycobacterium tuberculosis

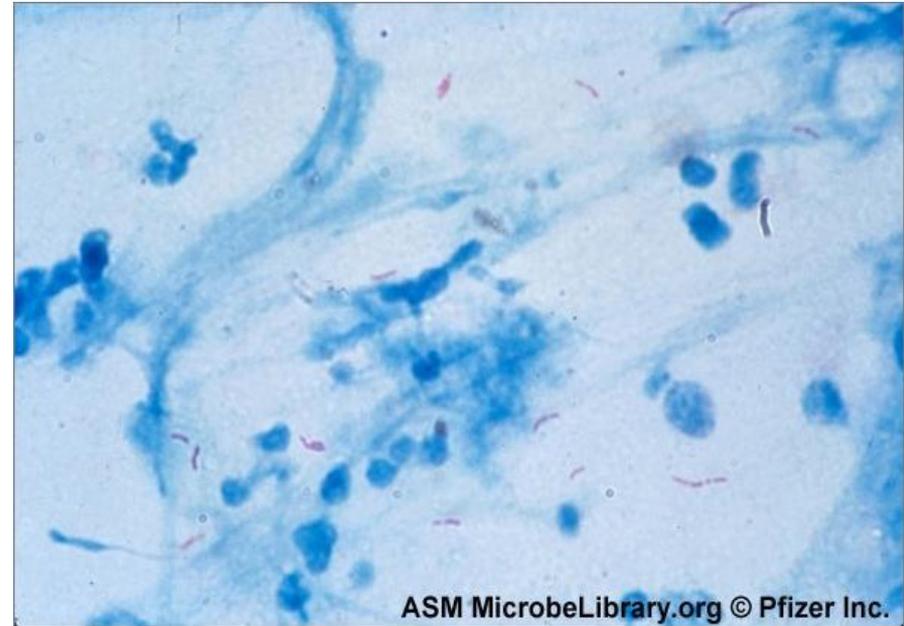
- Mycobacterium tuberculosis
- Mycobacterium bovis
- Mycobacterium africanum

Формы туберкулезной палочки



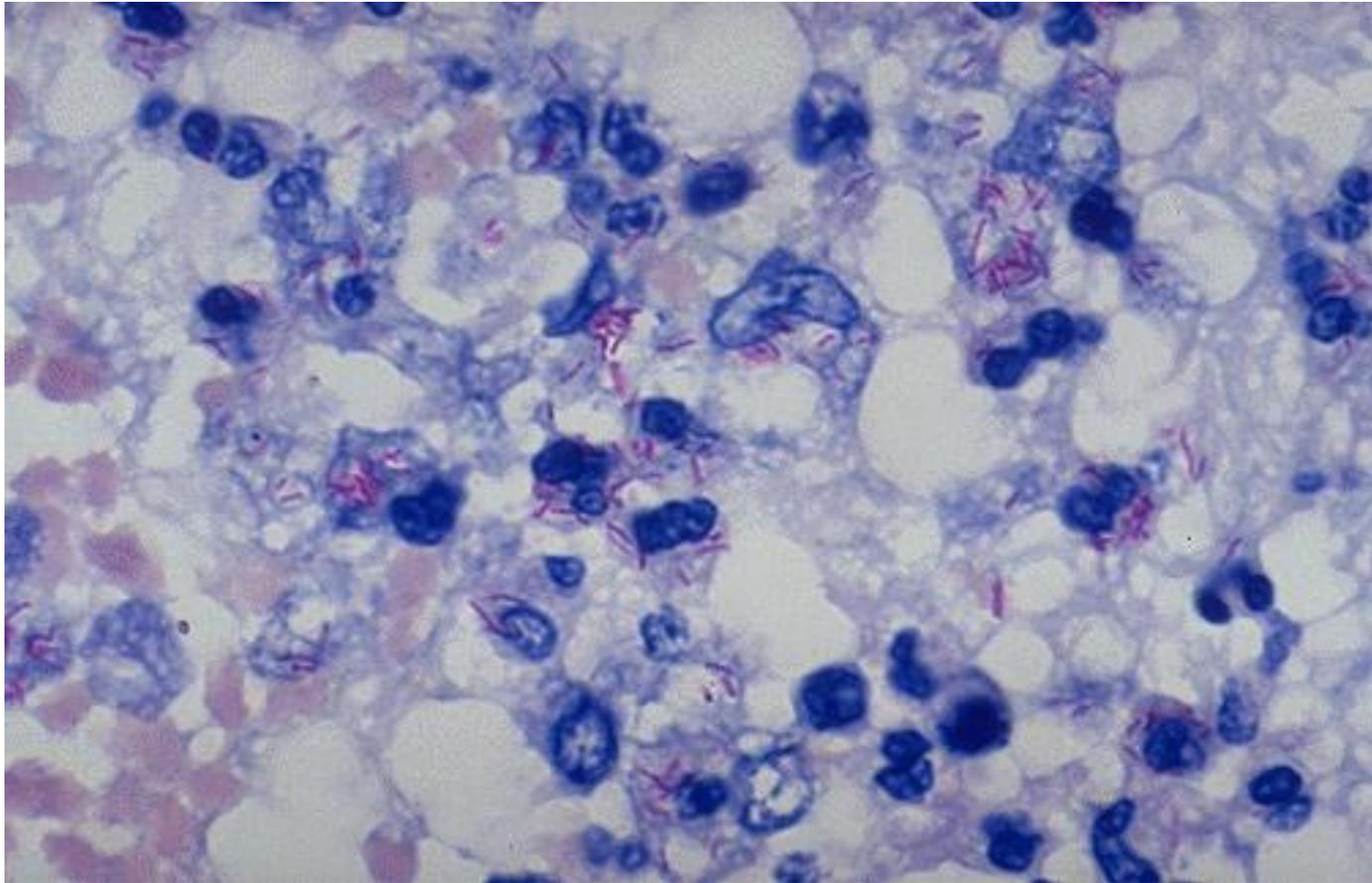
Морфология

- ❑ грамположительные тонкие прямые или слегка изогнутые палочки;
- ❑ клеточная стенка содержит большое количество восков и липидов (миколовую кислоту), что обуславливает гидрофобность, устойчивость к кислотам, щелочам, спиртам;
- ❑ окрашиваются по Цилю-Нильсену;
- ❑ неподвижны, спор и капсул не образует;
- ❑ возможен переход в L-формы



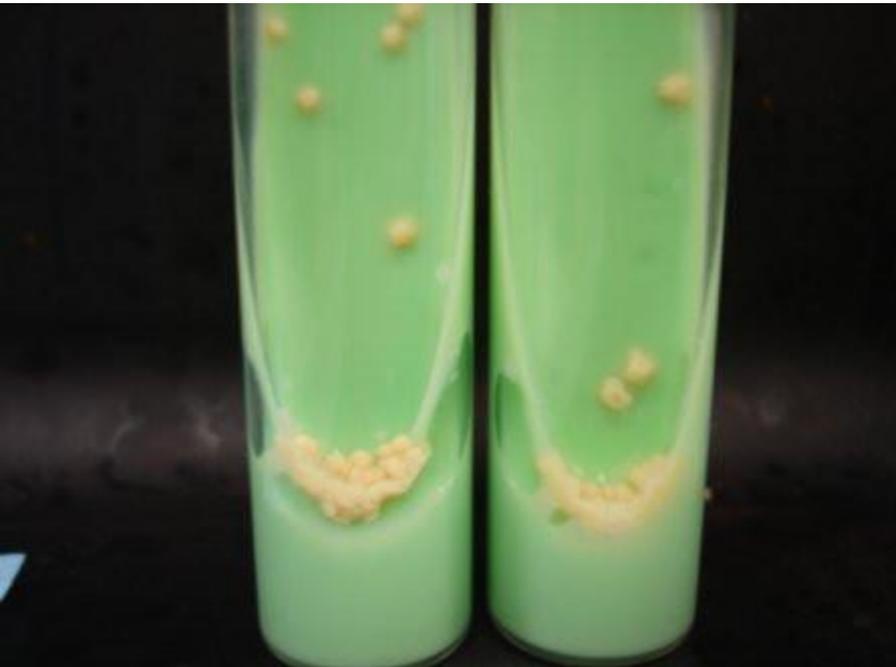
Mycobacterium tuberculosis (красные палочки) в мокроте. Окраска по Цилю-Нильсену.

Mycobacterium tuberculosis внутри клеток
легкого. Окраска по Цилю-Нильсену



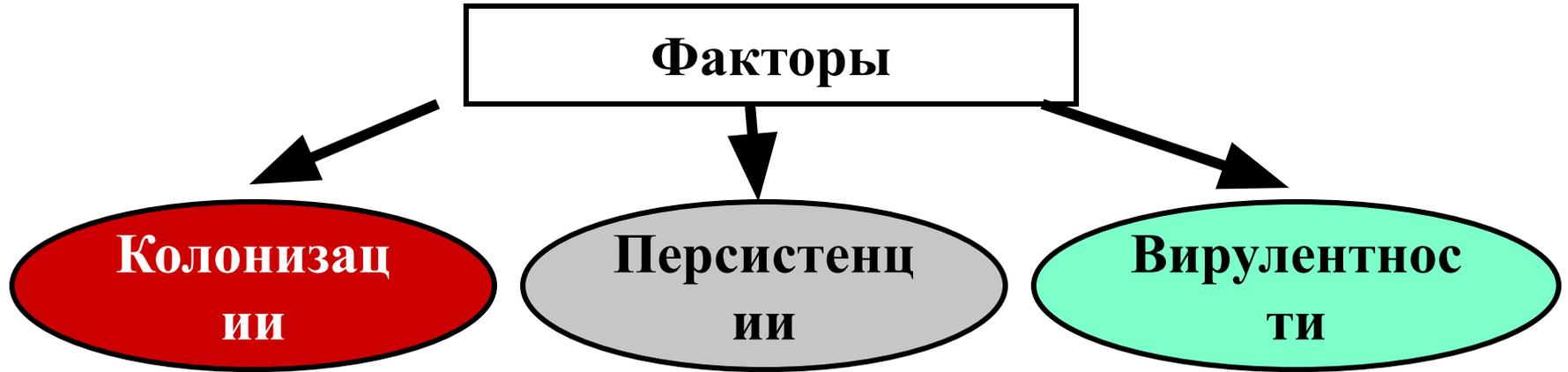
Культуральные и биохимические свойства

Среда Левенштейна-Йенсена и рост микобактерий



- аэробы;
- селективной является яичная среда Левенштейна-Йенсена и синтетическая среда Сотона;
- растут медленно (через 2-3 недели и позднее);
- колонии сухие, морщинистые, сероватые;
- биохимически активны - ниациновая проба Конно (накопление в жидкой среде никотиновой кислоты);
- дифференциация *M. tuberculosis* от *M. bovis* по способности редуцировать нитраты (положительный нитратредуктазный тест).

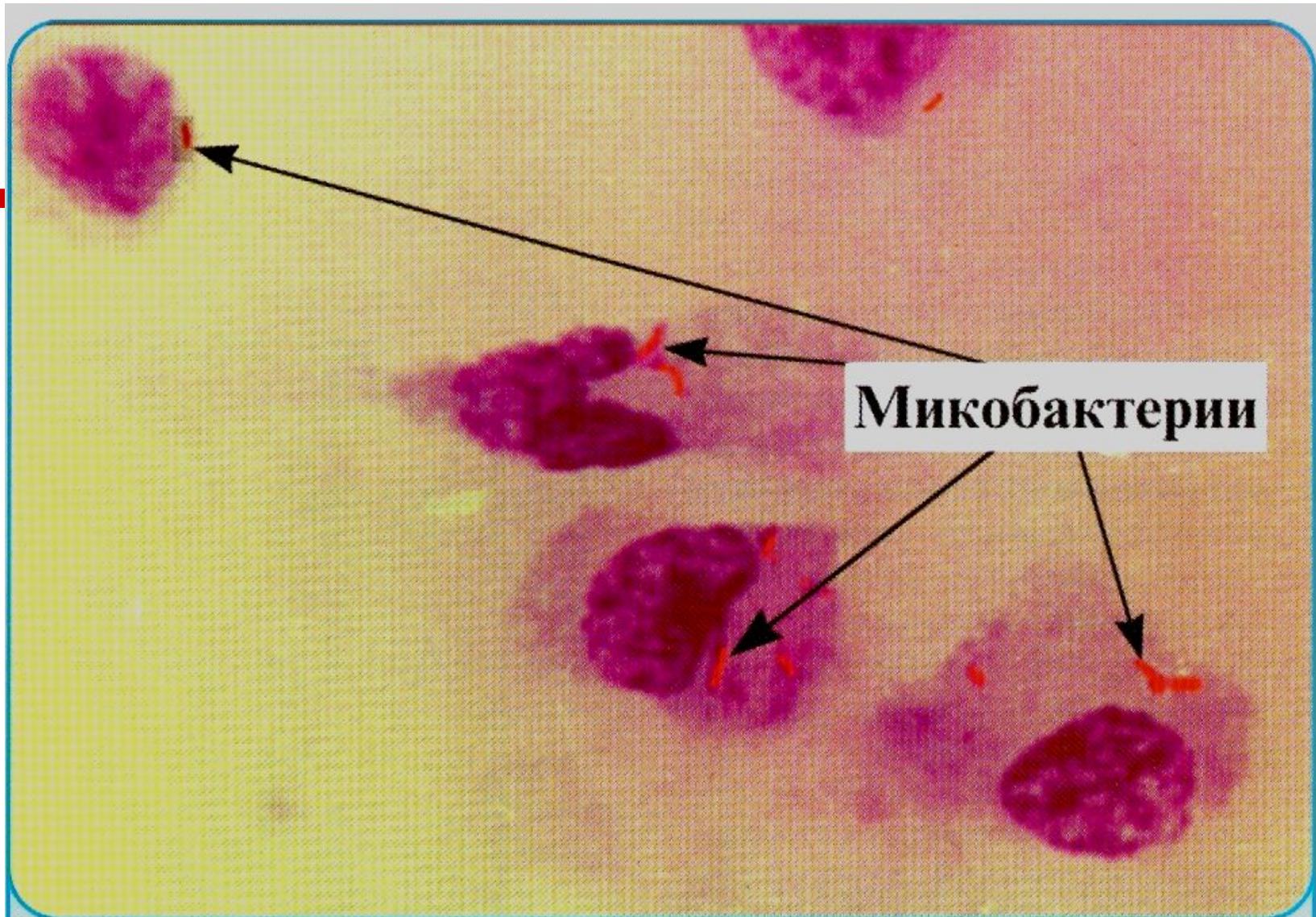
Патогенность *M.tuberculosis*



- Адгезины (гликолипиды, липоарабиноманнан)
- Бактериоцины

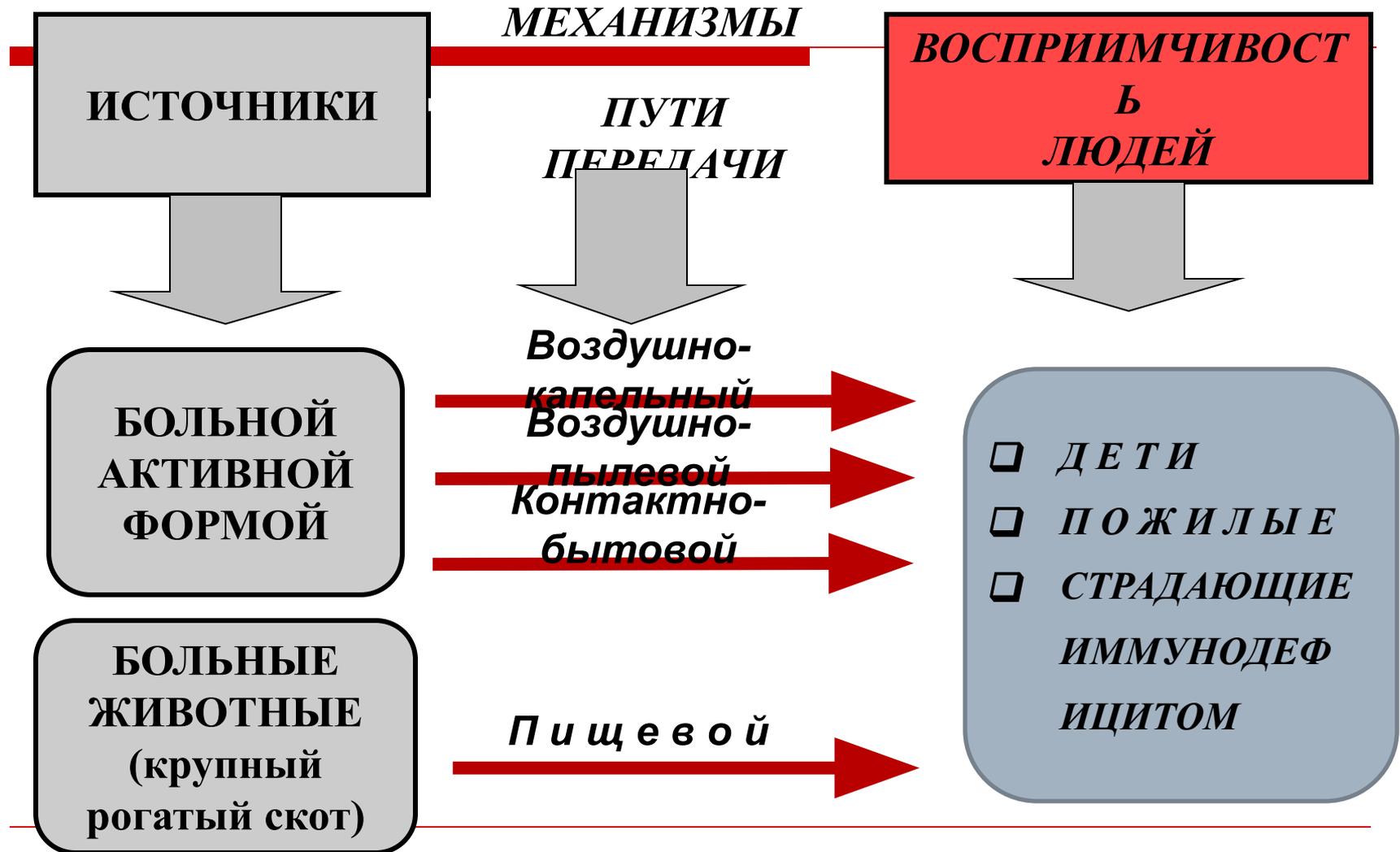
- АЛА (L-формы)
- Продукция аммония
- Каталаза, пероксидаза
- Сульфатиды
- Сидорофоры

- Корд-фактор (гликолипиды, миколовые кислоты)
 - Туберкулопротеин (эндотоксин, аллерген)
-



Незавершенный фагоцитоз микобактерий. Окраска по Цилю—Нильсену

ЭПИДЕМИОЛОГИЯ ТУБЕРКУЛЕЗА



ФОРМЫ ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ



Патогенез туберкулёза

M.tuberculosis

Гликолипиды

Повреждение, активация макрофагов

Неспецифическая (доиммунная) гранулема

Иммунный ответ

туберкулопротеины

Специфическая (постиммунная) гранулема

Репарация

**Массивный некроз,
диссеминация**

Фиброз, кальцификация
персистенция
M.tuberculosis

Первичный
туберкулез

Очаговый
гематогенный
ассимптомны
й
Хронический

Очаг Гона

*Гиперер
гия*

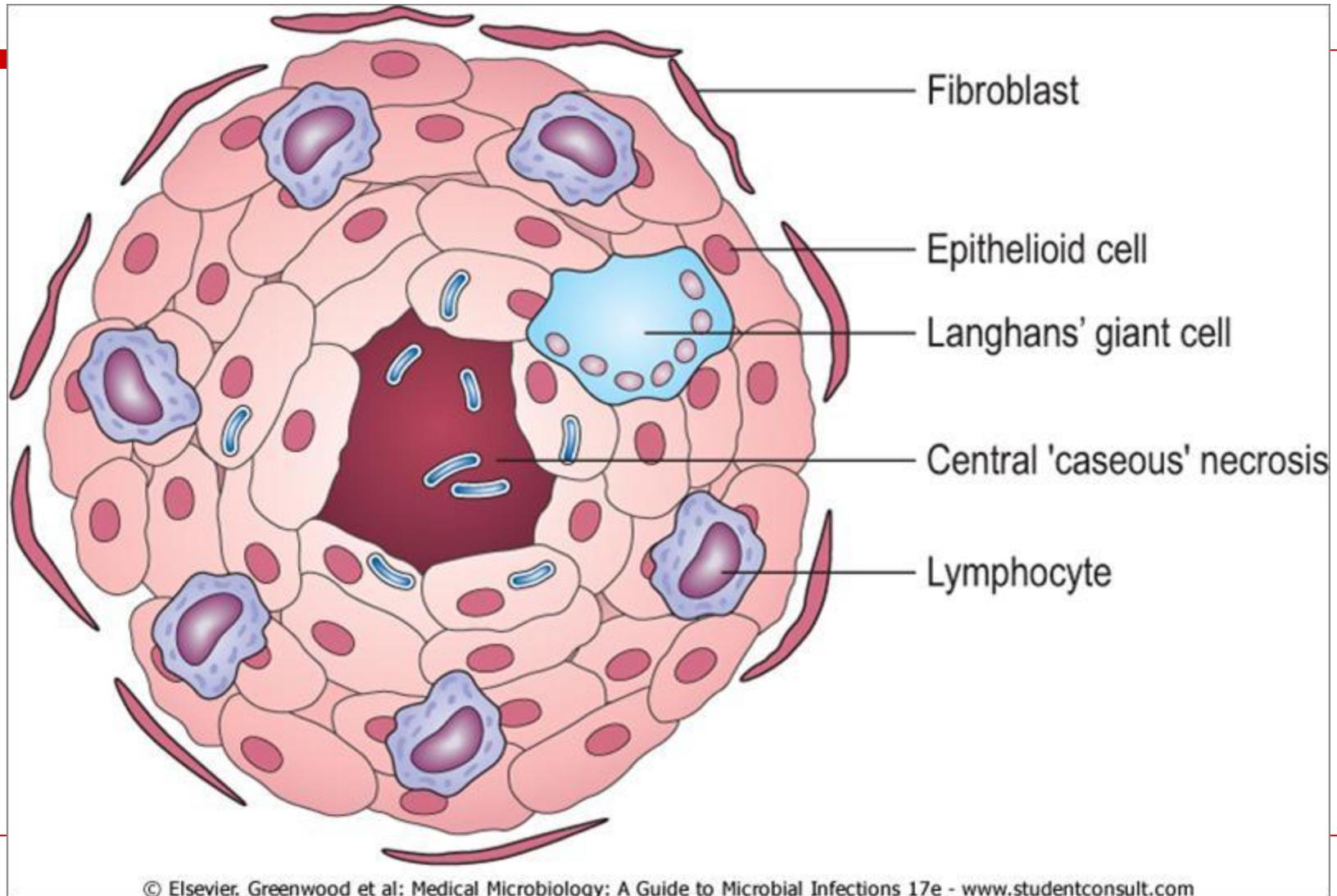
Вторичный
туберкулез

Реинфекция

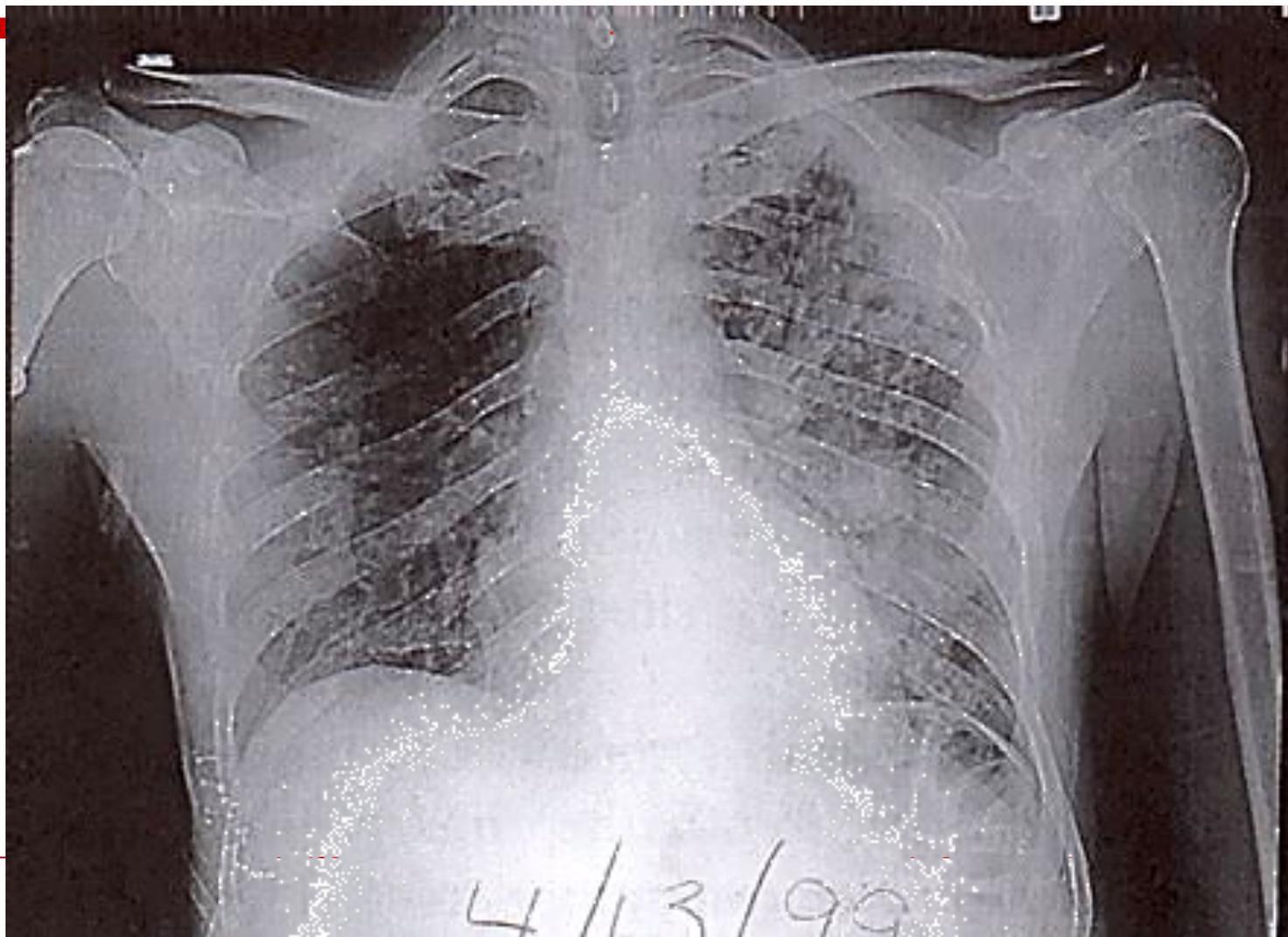
Скрытая
инфекция



Структура туберкулезной гранулемы



Больной с активной формой туберкулёза



Экспресс-метод



Лабораторная диагностика

1. Экспресс-методы: молекулярно-генетический метод (ПЦР), РИФ.
 2. Бактериологический метод.
 3. Серологический метод (РСК, ИФА, радиоимунный и др.).
 4. Биологический метод (заражение морских свинок или кролика с последующим выделением чистой культуры возбудителя).
 5. Туберкулинодиагностика (проба Манту).
-

Лабораторная диагностика

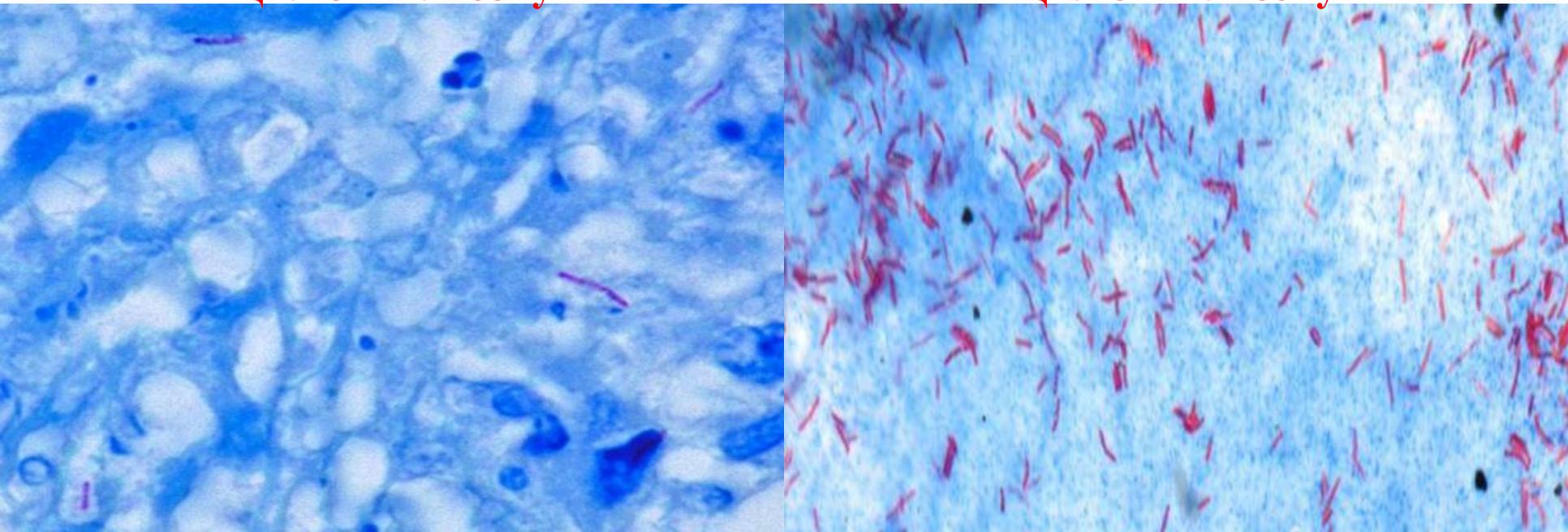
Клинический материал: гной, мокрота, кровь, бронхиальный экссудат, спинномозговая жидкость и пр.

Методы:

1. **Бактериоскопический** : прямая окраска мазка мокроты по методу Циля-Нильсена или мазка после обогащения (концентрирования методами флотации или гомогенизации)

Прямая окраска мазка мокроты по Цилю-Нильсену

Мазок из флотационного слоя по Цилю-Нильсену



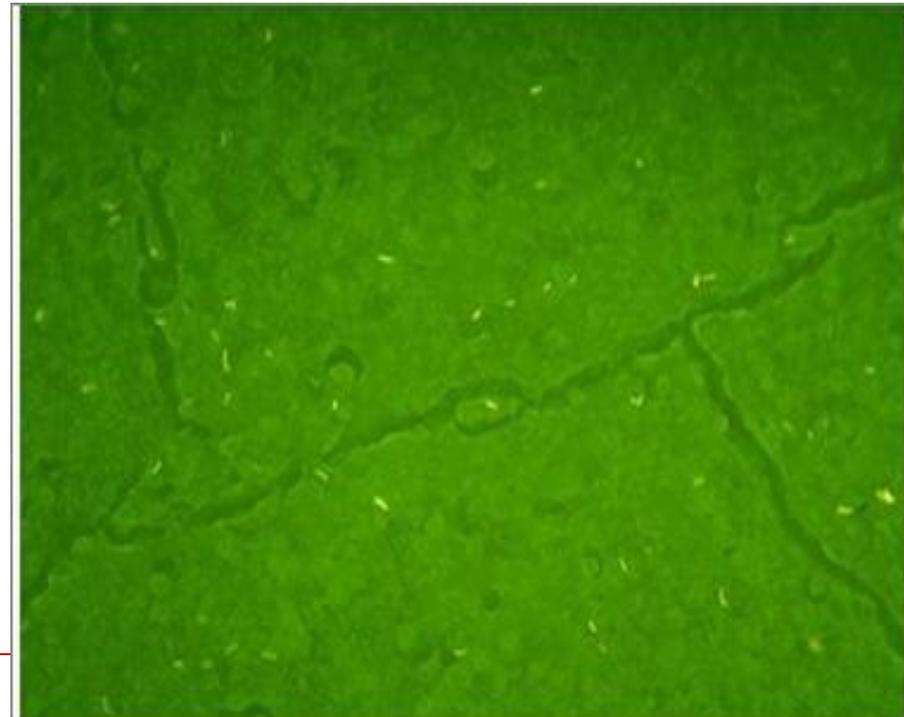
Лабораторная диагностика

Метод микрокультур Прайса

Люминесцентный метод

(густой мазок мокроты на стекле обрабатывают кислотой, не фиксируют и помещают в сыворотку; через 5-7 дней окрашивают по Цилю-Нильсену; при наличии корд-фактора видны слипшиеся в жгуты микобактерии)

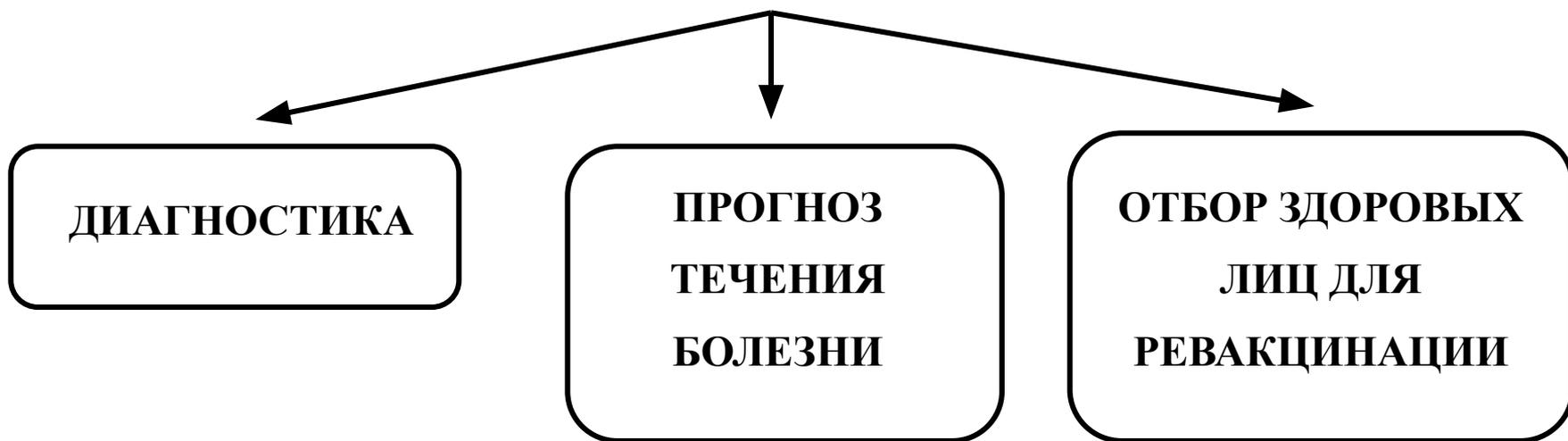
(окраска родамин-ауромином)



АЛЛЕРГИЧЕСКАЯ ПРОБА (ПРОБА МАНТУ)



ПРАКТИЧЕСКОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ



«+» - ИНФИЛЬТРАТ ≥ 5 мм
(болезнь, скрытая инфекция
вакцинация)

° НОРМЕРГИЯ (5 – 16 мм)
° ГИПЕРЕРГИЯ (≥ 17 мм)
° ОТРИЦАТЕЛЬНАЯ
АНЕРГИЯ (< 5 мм)

«-» - ПОКАЗАНИЯ
ДЛЯ
РЕВАКЦИНАЦИИ

Диаскинтест

Аллерген туберкулезный рекомбинантный.

Представлен рекомбинантным белком, продуцируемый генетически модифицированной культурой *Escherichia coli* BL21.



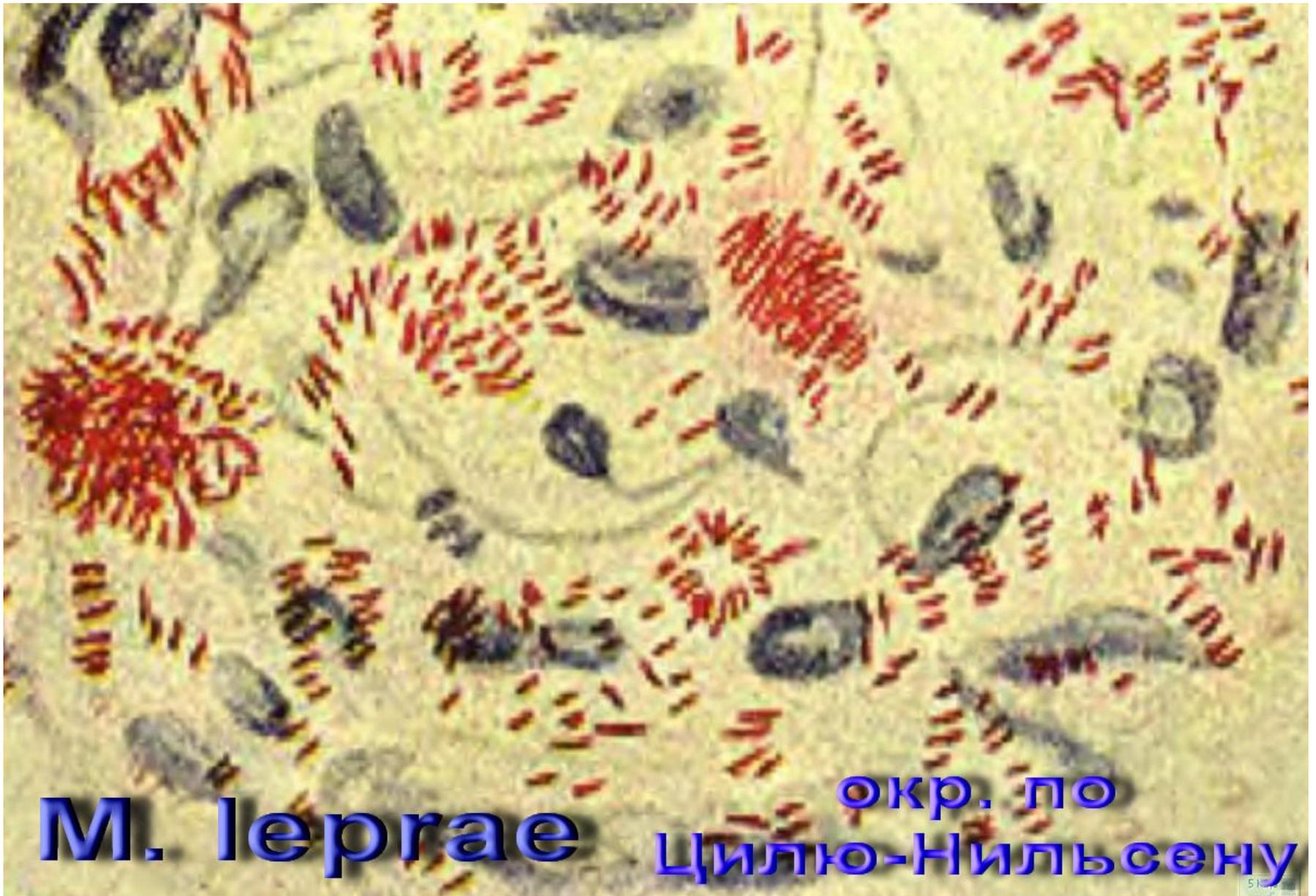
СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПЛАНОВАЯ ПРОФИЛАКТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА И ДИФТЕРИИ

- 1. 4-7 ДЕНЬ ЖИЗНИ – ВАКЦИНА БЦЖ (Бациллы Кальметта и Жерена) – живая. Ревакцинация через 5-7 лет при «-» пробе Манту**

 - 2. 3 МЕСЯЦА ЖИЗНИ – ВАКЦИНА АКДС (адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина). Содержит убитые палочки коклюша, дифтерийный и столбнячный анатоксины.**
-

Лепра (проказа)





M. leprae

окр. по
Цилю-Нильсену

Лепра (ранняя/поздняя стадии)



Mycobacterium leprae проявляет
выраженный тропизм:

- к клеткам кожи;
- периферических нервов.

Характерной особенностью пораженных
клеток (*лепрозных клеток или клеток*
Вирхова):

- наличие *бледного ядра*;
- «*пенистой*» *цитоплазмы* за счет
содержания *липидов*;
- явление *незавершенного фагоцитоза*.



Основная литература

Основная литература

1. «Медицинская микробиология, вирусология и иммунология». В 2-х т.: учебник по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» / под ред. акад. РАМН В.В. Зверева, проф. М.Н. Бойченко. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. – Т. 1. - 448с.; – Т.2. - 480с.

Дополнительная литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (санитарные правила СП.1.2.731 - 99) М., 1999.
2. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология, вирусология. СПб., 1998.
3. Методы общей бактериологии: пер. с англ. /под ред. Ф.Герхардта и др. - М. Мир, 1984.
4. Современная микробиология. Прокариоты (в 2-х томах). Под редакцией Й. Ленгелера, Г. Древса, Г. Шлегеля. М.: Мир, 2005.

Электронные ресурсы

1. Электронный каталог библиотеки ОрГМА «Консультант студента» WEB-Ирбис.
2. БД " Гарант".
3. Электронно-библиотечная система (договор с ООО «АЙ Пи ЭР М



A close-up photograph of several pink cherry blossoms in full bloom. The flowers are the central focus, with their delicate petals and prominent stamens clearly visible. The background is a soft, out-of-focus light blue and white, suggesting a bright, sunny day. The overall mood is peaceful and beautiful.

Спасибо за внимание!