



САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ СРЕДНЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ № 3»

Выпускная квалификационная работа

# **Современные методы исследования дифтерии**

Выполнена:  
студентом группы Л-42  
Сакович Павел Вадимович  
Руководитель:  
Саенко Татьяна Петровна

Санкт-Петербург  
2017 г.

## Актуальность темы

Актуальность темы дипломной работы связана с тем, что на данный момент дифтерия является одной из важных проблем современного здравоохранения.

# Цель дипломной работы

Освоить и использовать бактериологический метод для выделения и идентификации возбудителя дифтерии.

# Задачи дипломной работы

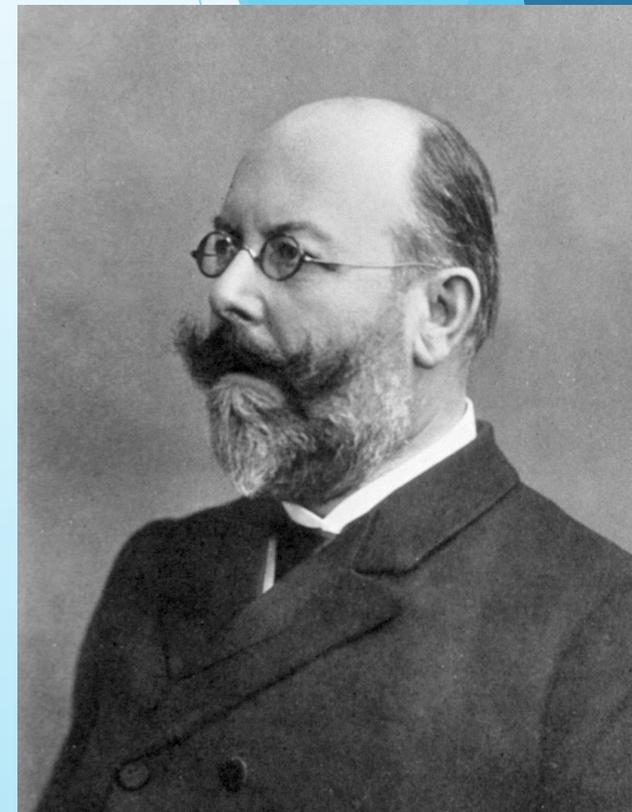
1. Рассмотреть характеристику возбудителя дифтерии.
2. Описать заболевание, его этиологию, эпидемиология, патогенез.
3. Рассмотреть бактериологический метод исследования бактерий рода *CORYNEBACTERIUM*.
4. Проанализировать имеющиеся данные о проведенной работе и сделать выводы о проделанной работе.

Дифтерия (от греч. – кожица, пленка)  
возбудитель дифтерии – семейство Corynebacteriaceae  
род – Corynebacterium  
вид – C.diphtheriae



Эдвин Клебс

Открыт в 1883 г. Т.  
Клебсом,  
выделен в чистом  
виде в 1884 г. Ф.  
Леффлером



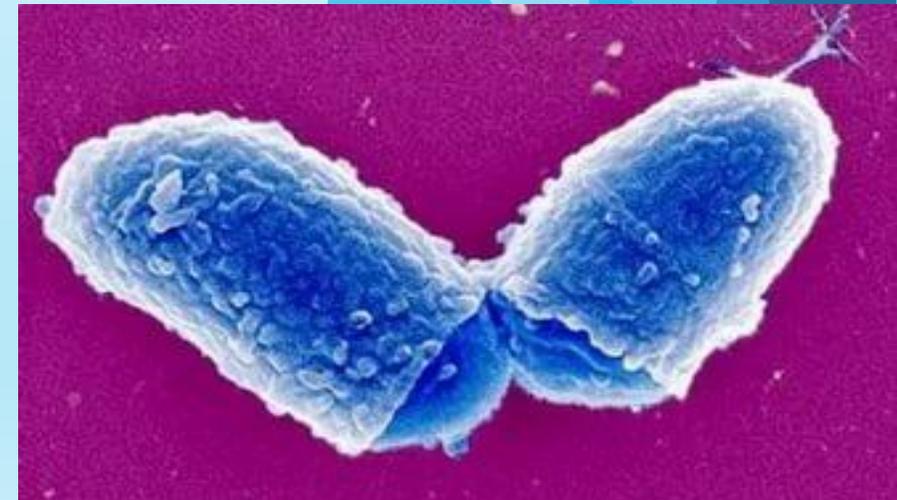
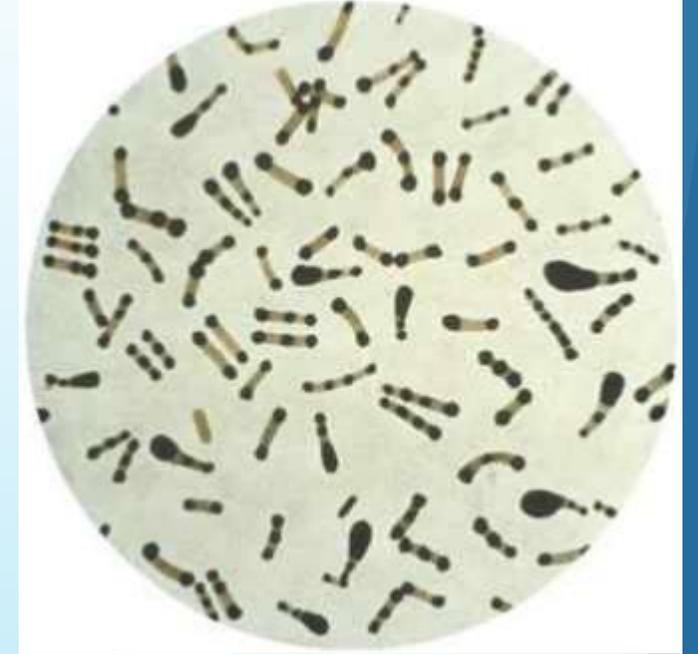
Фридрих Лёффлер

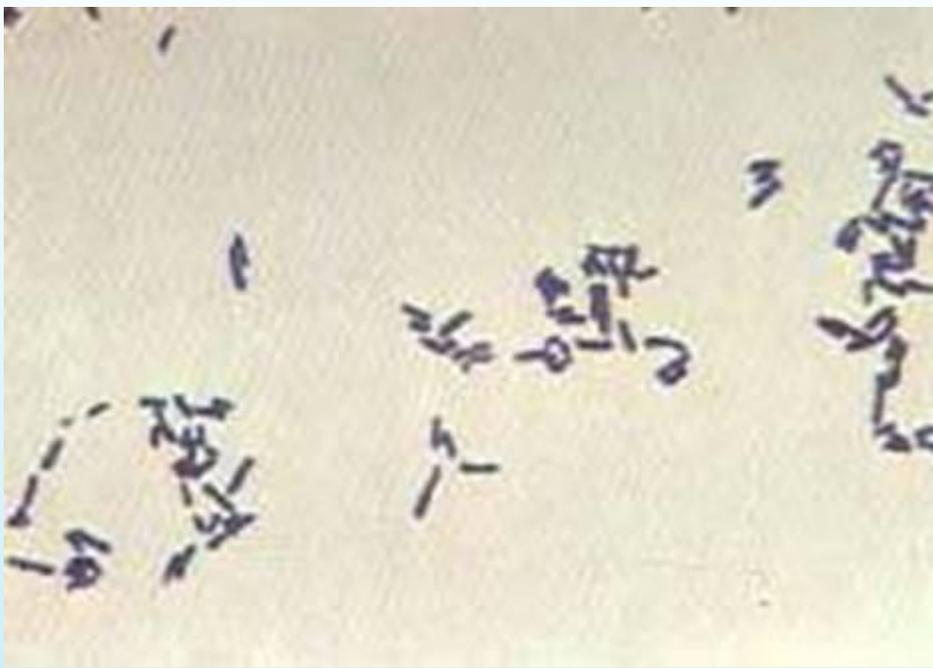
Дифтерия – острое инфекционное заболевание бактериальной природы, характеризующееся развитием фибринозного воспаления в области внедрения возбудителя (поражается преимущественно верхние дыхательные пути, слизистая оболочка ротоглотки), явление общей интоксикации и поражения сердечно-сосудистой и нервной системы.



# Морфологические свойства

- Гр «+» палочки
- тонкие, неподвижные, длиной от 1 до 8 мкм и шириной 0,3-0,8 мкм
- Слегка изогнутые
- Имеют микрокапсулу
- в мазках бактерии расположены под углом друг к другу, напоминая латинские буквы “V” и “W”.
- При росте на питательных средах выражен полиморфизм
- При окраске по Нейссеру и Леффлеру выявляются включения волютина на полюсах клетки





Окраска по Граму



Окраска по Леффлеру



Окраска по Нейссеру

# *Corynebacterium diphtheriae* выделяют три биовара – *gravis*, *mitis* и *intermedium*

1. *Gravis* - короткие неправильной формы, с небольшим количеством метакроматических гранул.
2. *Mitis* - образуют длинные изогнутые полиморфные палочки, содержащие много волютиновых зёрен (тельца Бабеша-Эрнста).
3. *Intermedius* - наиболее крупные, с бочковидными очертаниями; для них характерны поперечные перегородки, разделяющие клетку на несколько сегментов. В настоящее время биовар дифтерии *intermedius* относят в группу *gravis*

# Культуральные особенности биоваров *C. diphtheriae*

Рост на средах с теллуридом (среда Клауберга II)

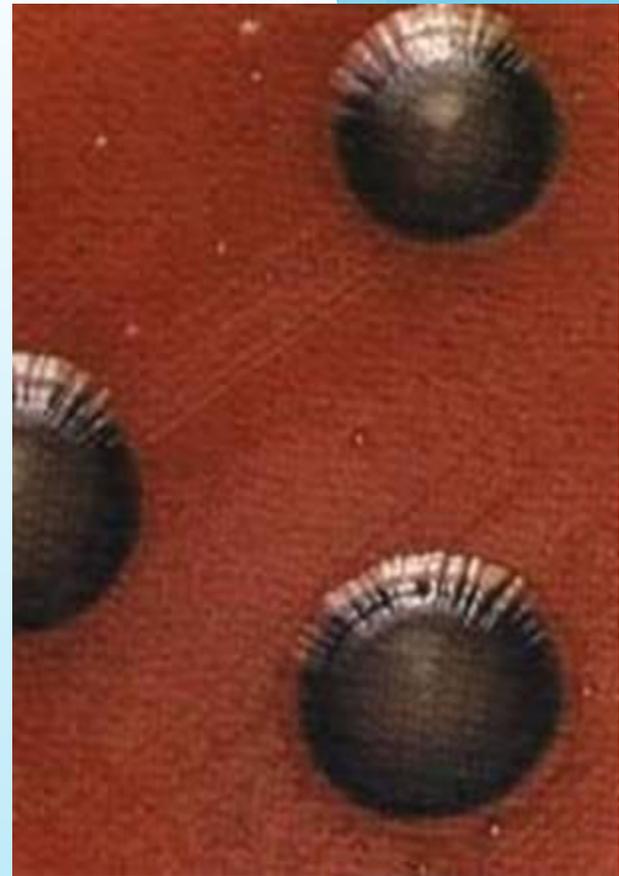
*Gravis* – Крупные, сухие, матовые, плоские, серо-черные колонии, приподняты в центре с радиальной исчерченностью («маргаритки») и неровными краями.

*Mitis* – Мелкие, гладкие, блестящие, полупрозрачные черные колонии с ровными краями.

*Intermedius* – Мелкие, сухие, матовые, серо-черные колонии с более прозрачной периферией, поднятым центром и неровными краями.



Колонии *C. intermedius*



Колонии *C. gravis*



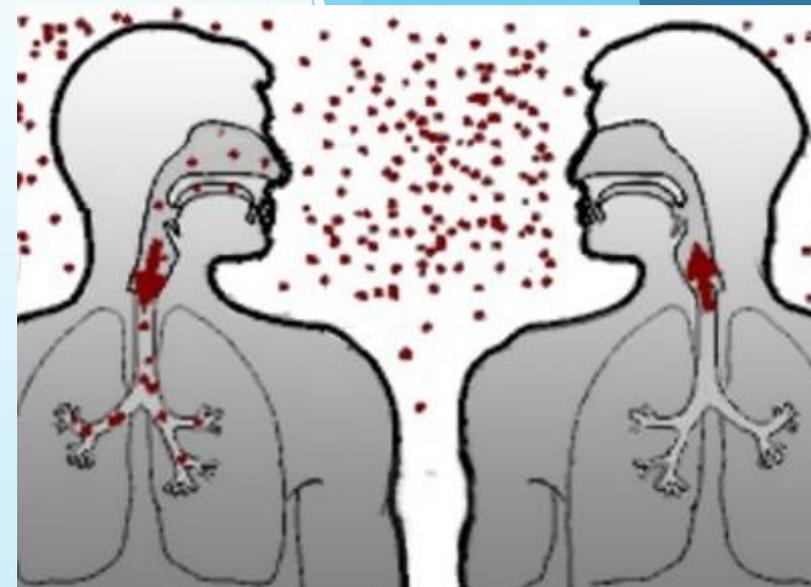
Колонии *C. mitis*

# Эпидемиология

Источником инфекции является – больной, носитель токсигенных штаммов. Особую эпидемическую опасность представляют больные атипичными формами дифтерии.

Механизм передачи – капельный. Основной путь передачи – воздушно-капельный (заражение происходит при кашле, чихании, разговоре). Возможен также контактно-бытовой путь передачи; в редких случаях – пищевой путь (через инфицированные продукты, особенно через молоко, сметану и крем).

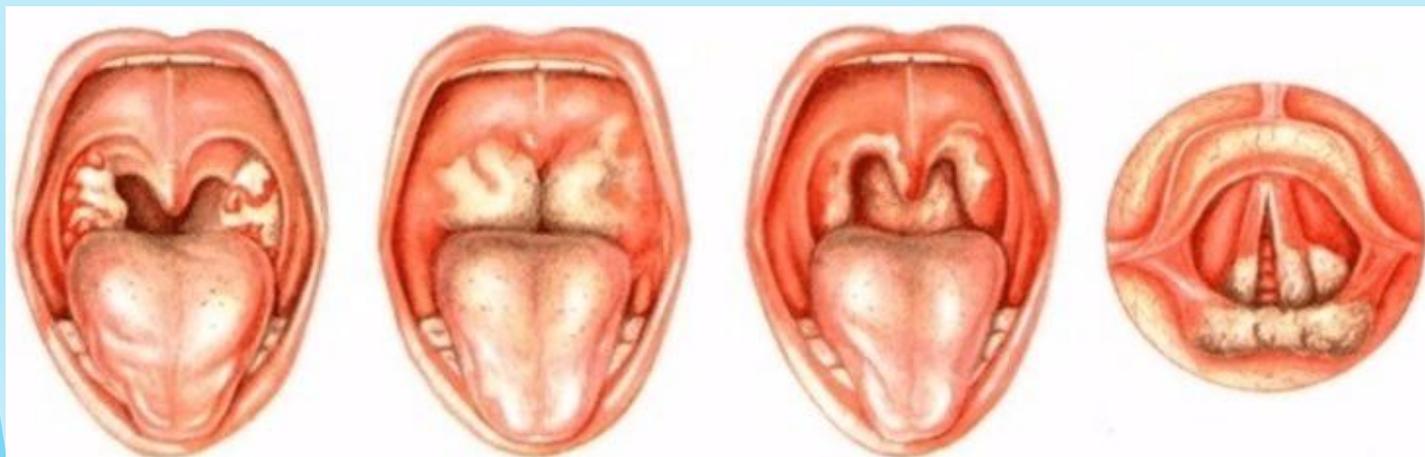
Данное заболевание больше всего обостряется в осенне-зимний период



# Патогенез

Дифтерийная палочка прикрепляется на месте входных ворот – обычно на слизистых оболочках зева и носа, реже – на слизистых оболочках гортани, трахеи. По окончании инкубационного периода (в среднем 5 дней) где происходит размножение *C.diphtheriae*, на месте их внедрения и выделения токсина развиваются воспалительные изменения.

*C.diphtheriae* вырабатывают очень сильных токсин, вызывающий катаральное воспаление с местным оттенком ткани. В дальнейшем – образование фибринозного дифтеритического воспаления.



1. Локализованная форма.
2. Токсическая форма.
3. Распространенная форма.
4. Дифтерия гортани.

# Виды дифтерийного заболевания



Дифтерия зева



Дифтерия гортани

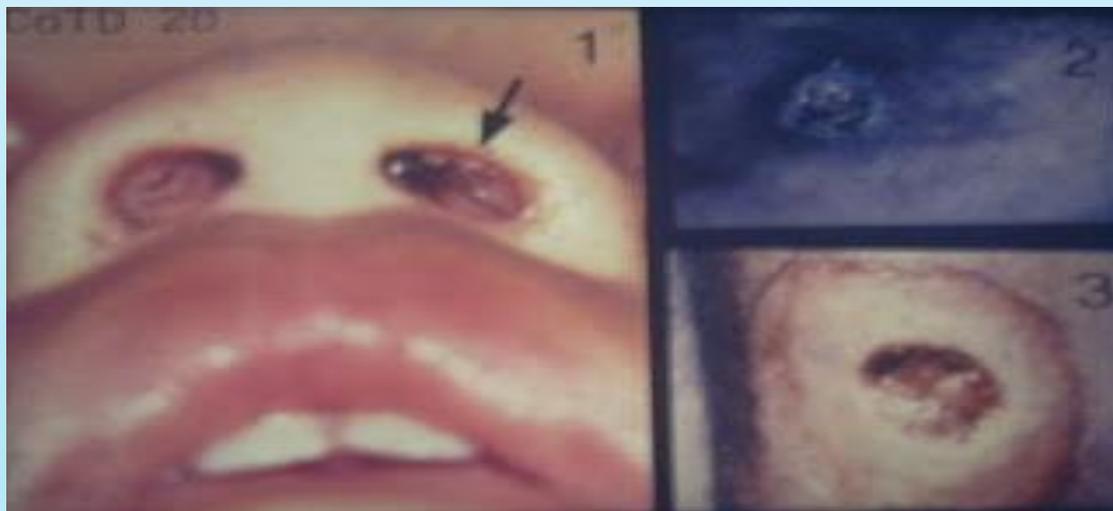
1. Локализованная форма.
2. Токсическая форма.
3. Распространенная форма.
4. Дифтерия гортани.



Дифтерия кожи



Дифтерийный конъюнктивит глаза



Дифтерия носа

# Собственные исследования



# Бактериологический метод исследования бактерий рода *Corynebacterium*



Классические лабораторные методы выделения и идентификации *C. diphtheriae* позволяют выдать точный ответ через 48-72 часа от начала исследования.

Состоит бактериологический метод из 4 дней.

# 1 день исследования (посев материала)

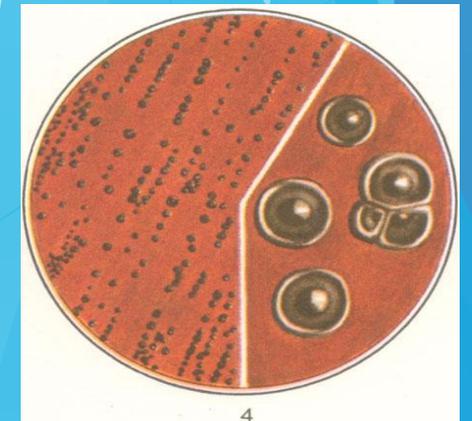


Посев исследуемого материала на селективную дифференциально-диагностическую среду (кровяной теллуритовый агар – среда Клауберга-II).  
Инкубирование в термостате при 37°C.



# 2 день исследования (24 часа)

1. Изучение выросших колоний, при возможности – постановка пробы на токсигенность, цистиназу и посев культуры на скошенный сывороточный агар.
2. Посев на селективную дифференциально-диагностическую среду (среда Клауберг-II).
3. При множественном росте, в случае необходимости, можно провести исследование для выдачи предварительного ответа – дополнительные пробы Пизу и Закса.



# 3 день исследования (48 часов)

Таблица 1

ИДЕНТИФИКАЦИЯ КОРИНЕБАКТЕРИЙ НА ОСНОВАНИИ КОМПЛЕКСА  
БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

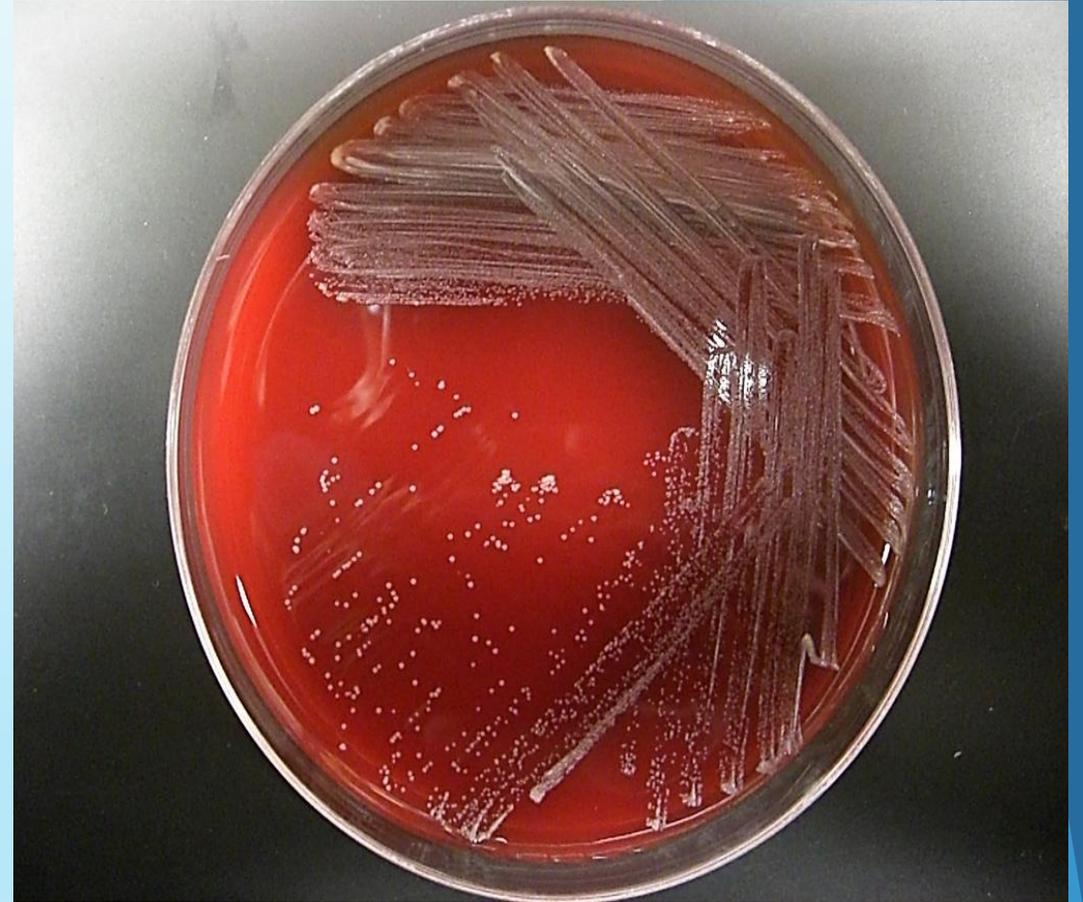
Вид коринебактерий	Расщепление (+ положительная, - отрицательная реакция)						Восстановление металлического теллура из теллуристокислого калия ( $K_2TeO_3$ )
	углевода с образованием кислоты без газа				цистина с образованием сероводорода ( $H_2S$ )	мочевины	
	глюкозы	мальтозы	сахарозы	крахмала			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	+	+	-, изредка +	гравис +, митис -	+	-	+



1. Учет результатов проб на токсигенность и на цистиназу, поставленных во второй день исследования.
2. Посев чистой культуры, выделенной во второй день исследования, на среды Гисса для изучения биохимических свойств (сахароза, глюкоза, крахмал, мочевина).
3. Повторный просмотр (через 48 часов) чашек первичного посева визуально. Постановка проб на токсигенность, цистиназу и отсев колоний на скошенный сывороточный агар.

# 4 день исследования ( 72 часа)

1. Учет токсигенных свойств культуры, выделенной в 3 день исследования.
2. Учет биохимических свойств культуры (токсигенной или нетоксигенной), выделенной во второй день исследования (через 24 ч инкубации первичного посева).
3. Выдача бактериологического ответа о выделении нетоксигенных коринебактерий дифтерии с указанием биохимического варианта и дополнительного ответа о биохимических свойствах токсигенных коринебактерий дифтерии, выделенных ранее.



# Выводы

1. Изучил историю заболевания, его морфологические, эпидемиологические и патогенные свойства.
2. Нормативно–правовые и методические документы, регламентирующие медицинскую деятельность в сфере диагностики, лечения больных, профилактических прививок, санитарно-эпидемиологические и санитарно-ветеринарные мероприятия и санитарно-гигиенический надзор, позволяют стабилизировать и контролировать эпидемиологическую обстановку по дифтерии.
3. В результате исследований была выделена нетоксигенная форма *C.diphtheriae*.
4. В лаборатории применяются следующие дифференцирующие тесты:
  - Высев на питательные среды
  - Определение токсигенности реакцией преципитации в агаре, ПЦР для опр. Тох-гена выросших колониях.
5. В своей работе использовал для выявления возбудителя и пробы Пизу, Закса, посев на среду Клауберга II.
6. Если сравнить статистические данные по заболеваемости дифтерией с момента ее возникновения по настоящее время, можно сказать об улучшении эпидемиологической ситуации на территории России.

# Источники иллюстративных материалов

1. <http://docs.cntd.ru/document/120010690>
2. <http://intranet.tdmu.edu.ua>
3. <http://www.zakonprost.ru>
4. <http://www.studfiles.ru>

**Спасибо за внимание**