

Туберкулёз, дифтерия

Классификация микобактерий

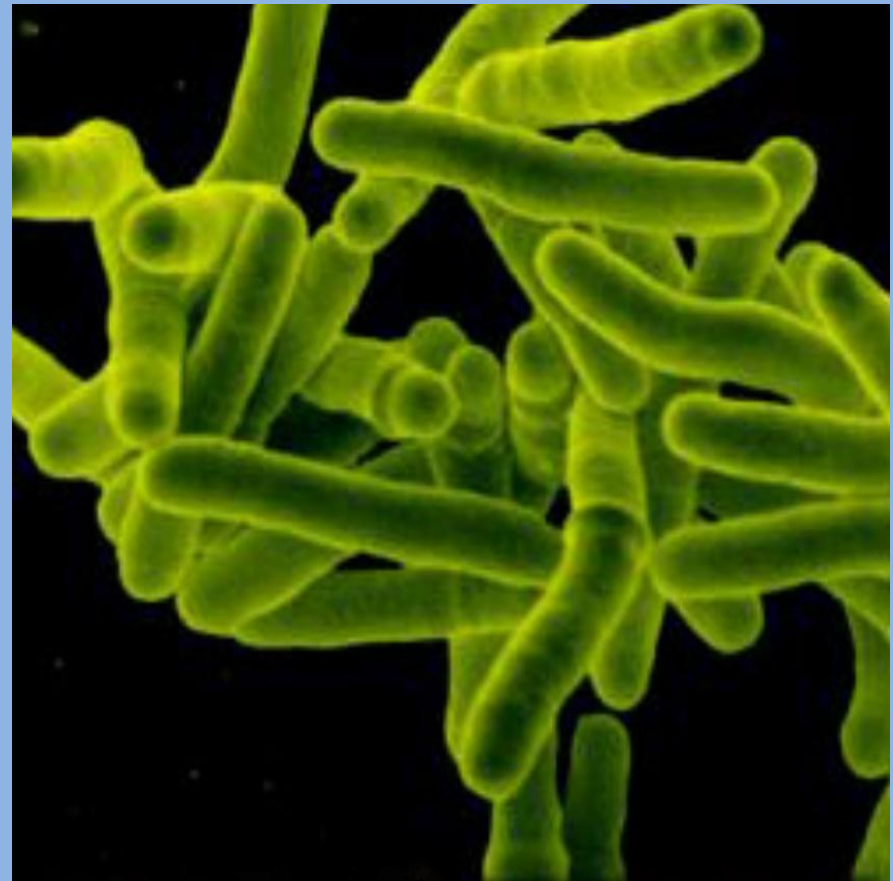
- 21 группа по Берджи -
грамположительные
неспорообразующие
палочки
- род *Mycobacterium*
- 3 подгруппы по
скорости роста на
питательных средах:



- I – не растущие на питательных средах:
M. leprae (возбудитель лепры (проказы))
- II – медленно растущие (более 7 суток), свободноживущие или паразиты:
 - ✓ **безусловно-патогенные для человека:**
M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum (возбудители туберкулеза)
 - ✓ **условно-патогенные для человека:**
***M. scrofulaceum*, *M. kansasii*, *M. xenopi* и др.** (возбудители микобактериозов)
 - ✓ **патогенные для животных:**
M. paratuberculosis и др. (возбудитель энтерита крупного рогатого скота)
- III – быстрорастущие (менее 7 суток), непатогенные или условно-патогенные:
M. smegmatis

Возбудители туберкулеза у человека

- **Mycobacterium tuberculosis**
90 – 95 % всех случаев
- **Mycobacterium bovis**
3 - 5%
- **Mycobacterium africanum**
около 3% среди населения стран тропической Африки



Туберкулёз

(от лат. *tuberculum* – бугорок,
англ. *tuberculosis*)

– инфекционное заболевание человека и животных, вызываемое несколькими разновидностями кислотоустойчивых микобактерий

Морфологические и тинкториальные свойства

- Прямые или слегка изогнутые палочки
- В культурах встречаются зернистые (зерна Муха) и нитевидные ветвящиеся формы
- Возможен переход в L-формы
- Не имеют жгутиков (неподвижны)
- Спор и капсул не образуют
- Грамположительные
- Гидрофобны, устойчивы к кислотам, щелочам, спиртам (за счёт **высокого содержания липидов в клеточной стенке**); окрашиваются по методу Циля-Нильсена в **красный цвет**

Резистентность

Самые устойчивые из неспорообразующих бактерий

В окружающей среде длительно сохраняют жизнеспособность:

- **В высохшей мокроте – нескольких недель**
- **На предметах, окружающих больного, – более 3 месяцев**
- **В почве – до 6 месяцев**
- **В воде – до 5 месяцев**
- **При кипячении в мокроте погибают через 5 – 7 минут**
- **Прямой солнечный свет убивает МБТ в течение полутора часов, а ультрафиолетовые лучи за 2-3 минуты**

Культуральные свойства

Для посева используют 2 основные группы питательных сред:

1) жидкие синтетические и полусинтетические питательные среды (например, Сотона):

на поверхности образуется нежная пленка, которая утолщается и падает на дно, среда при этом остается прозрачной

2) плотные питательные среды на яичной основе

В РФ используется набор из 2 плотных яичных сред - Левенштейна-Йенсена и Финна.

АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА

- **Белки (туберкулопротеиды)**

- **Полисахариды**

- **Липиды**

(воск Д, туберкулостеариновая, миколовая, фтионовая жирные кислоты)

- **Корд-фактор (полимерный гликолипид – трегалоза-димиколат)**

Иммунитет

- Организм человека обладает **высокой естественной резистентностью** к возбудителю туберкулеза. Естественная резистентность во многом определяется социально-бытовыми условиями жизни.
- На фоне первичного инфицирования организма микобактериями формируется **приобретенный нестерильный иммунитет**
- В формировании приобретенного иммунитета важное значение имеет **гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ)**, которая опосредуется системой Т-лимфоцитов: Т-лимфоциты с помощью своих рецепторов и при участии белков МНС класса I распознают клетки, инфицированные туберкулезными палочками, атакуют их и разрушают.

Эпидемиология туберкулеза

Источник инфекции

- **больной туберкулезом человек, выделяющий микобактерии, реже – животные (для M. bovis)**

Пути передачи:

- **воздушно-капельный и воздушно-пылевой**
- **алиментарный (через молочные продукты)**
- **контактный (через поврежденные кожные покровы).**

Формы туберкулеза

- Наиболее часто встречается туберкулез **легких**
- Реже **внелегочные формы** (кожи, кишечника, костей и суставов, почек, ЦНС и др.)



Факторы патогенности

- Нет эндотоксина, не секретируют экзотоксины
- Содержащиеся в липидах **миколовая, туберкулостеариновая, фтионовая** жирные кислоты оказывают прямое повреждающее действие на ткани, способствуют появлению гигантских и эпителиоидных клеток
- Основной фактор патогенности – **корд – фактор**, который не только оказывает токсическое действие на ткани, но и защищает микобактерии от фагоцитоза, блокируя окислительное фосфорилирование в митохондриях макрофагов. Будучи поглощенными фагоцитами, микобактерии размножаются в них и вызывают их гибель.

Патогенез

Попадание микобактерий в легочную ткань



Незавершённый фагоцитоз микобактерий альвеолярными макрофагами (за счет жирных кислот и корд-фактора)

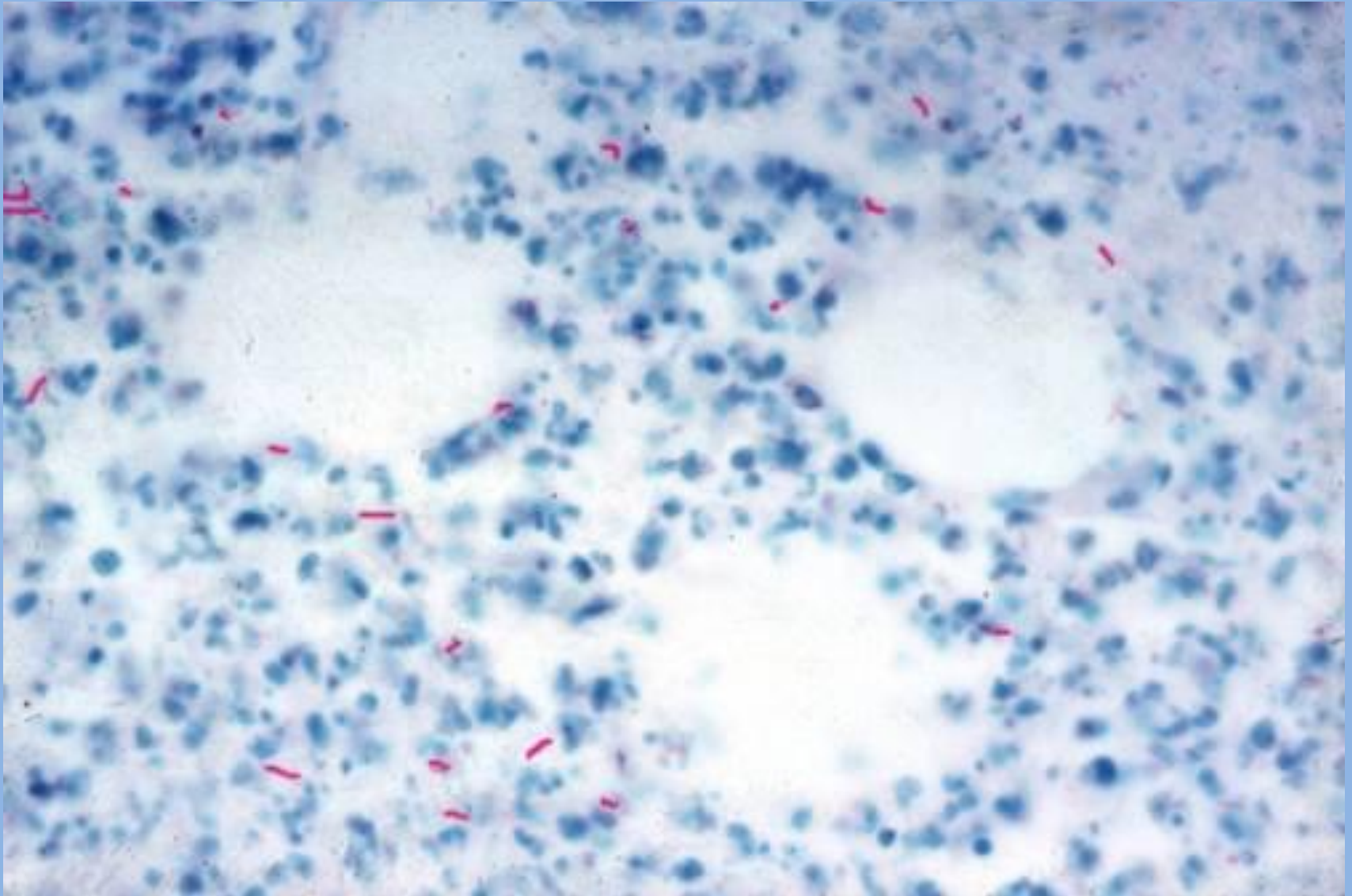


Гибель и трансформация макрофагов в эпителиоидные клетки и гигантские клетки Пирогова-Лангханса



Формирование туберкулезной гранулемы:
в центре – очаг некроза, по периферии – вал из эпителиоидных, лимфоидных клеток и клеток Пирогова-Лангханса, внутри которых обнаруживаются микобактерии

Туберкулезная гранулема



Патогенез

Судьба первичного очага может быть различной:

- При недостаточно активной иммунной реакции очаг может увеличиваться и подвергаться **творожистому (казеозному)** распаду в результате действия токсических продуктов микобактерий и отсутствия в бугорках кровеносных сосудов. Развивается казеозная пневмония и **первичный туберкулезный комплекс**, а при попадании возбудителя в кровь — генерализованный туберкулез.

первичный туберкулезный комплекс =
первичный воспалительный очаг в легких
+
региональный лимфаденит
+
лимфангит

Патогенез

- В большинстве случаев иммунной системе организма удаётся подавить микобактерии (через систему Т-лимфоцитов)
- Первичный очаг через некоторое время окружается соединительнотканной капсулой, сморщивается и пропитывается солями кальция (обызвествляется) (образуются **кальцинаты**)
- Микобактерии могут сохранять жизнеспособность в первичном очаге многие годы
- При неблагоприятных условиях может наступить

Только при наличии сложной комбинации неблагоприятных внешних и внутренних предрасполагающих факторов, снижающих сопротивляемость организма, инфицирование туберкулезными микобактериями может перейти в заболевание туберкулез

Лабораторная диагностика туберкулеза

Исследуемый материал: зависит от формы:

мокрота, бронхоальвеолярные смывы, ликвор, моча, пунктаты из закрытых полостей, экссудаты и др.

Методы диагностики

1. Экспресс-метод

- ПЦР

2. Микроскопический метод

Используются два варианта

микроскопического исследования:

- метод прямой микроскопии, когда мазок

готовится из **нативного (необработанного)**

исследуемого материала или его осадка

(жидкий материал);

- метод микроскопии мазка из материала,

подготовленного путем обработки

гомогенизирующими и обеззараживающими

средствами с последующим

центрифугированием или флотацией

- Большинство проб исследуемого материала в различной степени загрязнены сопутствующей флорой. Поэтому перед посевом на питательные среды и микроскопией исследуемый материал подвергают специальной обработке, обеспечивающей **деконтаминацию (обеззараживание)**, то есть уничтожение гноеродной и гнилостной микрофлоры.
- Микобактерии туберкулеза, выделяющиеся из дыхательных путей больного, как правило, окружены большим количеством слизи, затрудняющей их выделение. В связи с этим

• **Для гомогенизации и деконтаминации** исследуемый материал собирают в стерильные флаконы с битым стеклом, добавляют **щелочь** (4%-ый раствор NaOH) или **кислоту** (3%-ый раствор H_2SO_4), **встряхивают 10 – 15 минут и центрифугируют**. После обработки щелочь нейтрализуют кислотой, а кислоту – щелочью. Мазок делают из осадка.

• **Метод флотации.** Мокроту гомогенизируют и прогревают при $55^{\circ}C$ в течение 30 мин на водяной бане. Затем добавляют 1 - 2 мл **ксилола**, повторно встряхивают 10 мин и отстаивают 20 мин при комнатной температуре. На поверхности образуется

Окраска препаратов для световой микроскопии по методу Циля – Нильсена

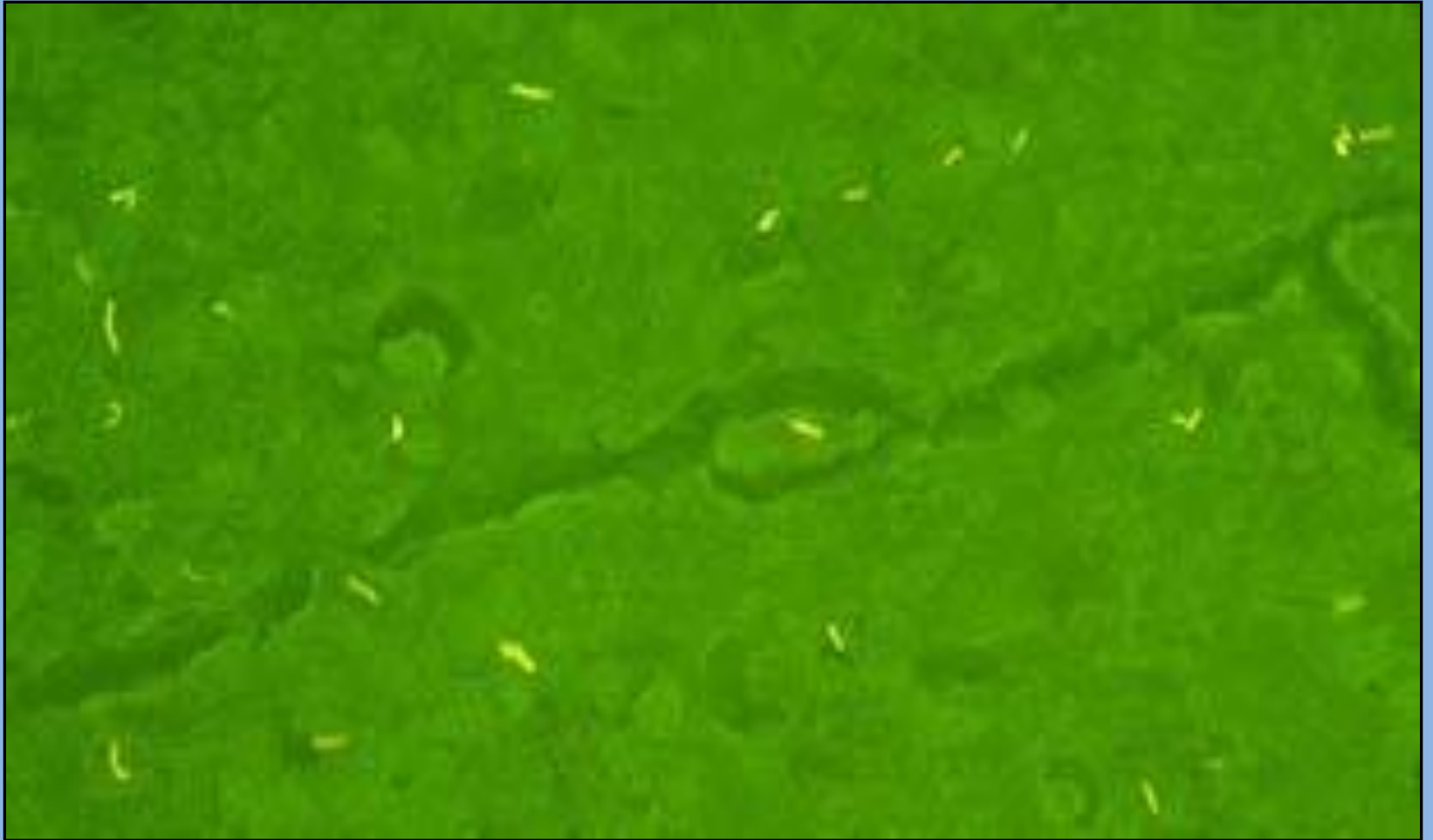
- 1) окраска **карболовым фуксином** с подогреванием - при одновременном воздействии нагревания и карболовой кислоты повышается способность красителя проникать в микробную клетку (обычные анилиновые красители не проникают в клеточную стенку микобактерий)
- 2) **обесцвечивание** мазка **5%** раствором серной кислоты или **3%** раствором солянокислого спирта (приводит к обесцвечиванию структур, не обладающих кислотоустойчивостью);
- 3) **контрастирующая окраска** - обесцвеченные элементы мазка докрашивают **метиленовым синим** для придания контрастности препарату.



- Пределы метода световой микроскопии при окраске мазков по Цилю - Нильсену позволяют выявить кислотоустойчивые микобактерии при их содержании порядка **5 000 – 10 000 и более микробных клеток в 1 мл мокроты**, что характерно для больных с прогрессирующими формами процесса.
- Больные с малыми формами заболевания без деструкции легочной ткани выделяют значительно меньшее количество микобактерий. Чувствительность метода можно повысить, используя исследование не менее **3 утренних проб мокроты в течение 3 дней**.
- **Отрицательный результат микроскопического исследования не исключает диагноз туберкулеза.**

Окраска препаратов для люминесцирующей микроскопии

Люминесцентный краситель **аурамин** связывается с воскоподобными структурами микробной клетки. При облучении окрашенных клеток ультрафиолетовым светом они начинают светиться **оранжевым** или **ярко-желтым светом** на **темно-зеленом фоне**.



• НА ОСНОВАНИИ МИКРОСКОПИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗМОЖНО СДЕЛАТЬ ЗАКЛЮЧЕНИЕ ТОЛЬКО О НАЛИЧИИ ИЛИ ОТСУТСТВИИ В ПРЕПАРАТЕ КИСЛОУСТОЙЧИВЫХ МИКОБАКТЕРИЙ.

• Микроскопическое исследование не позволяет дифференцировать микобактерии комплекса *Mycobacterium tuberculosis* (возбудителей туберкулеза) от нетуберкулезных (атипичных) микобактерий - возбудителей микобактериозов.

3. Бактериологический метод

является обязательным

I этап:

посев обработанного исследуемого материала

на 2 плотные яичные среды:

- 1. Левенштейна-Йенсена**
- 2. Финна**

• **Среда Левенштейна – Йенсена:**

- соли магния и калия
- аспарагин
- глицерин
- яичная масса
- малахитовый зелёный

• **Среда Финна:**

- соли магния и калия
- глутамат натрия
- глицерин
- яичная масса
- малахитовый зелёный

Посевы инкубируют от 3 до 12 недель при

3. Бактериологический метод

II этап:

изучение роста бактерий:

1) культуральные свойства

- Микобактерии туберкулеза образуют R-колонии **желтоватого или слегка кремового оттенка (цвета слоновой кости)** с шероховатой поверхностью, напоминающей манную крупу или цветную капусту. Колонии, как правило, сухие, морщинистые.

Колонии *M. tuberculosis* на среде Левенштейна-Йенсена (6 недель)



3. Бактериологический метод

II этап:

2) морфологические и тинкториальные свойства:

При микроскопическом исследовании мазков из выросших колоний, окрашенных по Цилю-Нильсену, обнаруживаются **яркие малиново-красные** палочковидные бактерии.

3. Бактериологический метод

III этап:

идентификация по биохимическим свойствам:

- 1. Определение термоллабильности каталазы**
- 2. Ниациновая проба Конно**
- 3. Тест восстановления нитратов в нитриты**

•Тест на каталазную активность и определение термолабильности каталазы

•Каталаза - это фермент, расщепляющий перекись водорода на воду и кислород.

•Туберкулёзные микобактерии выделяют каталазу, но после прогрева при + 68° в течение 20 минут теряют каталазную активность, т.к. у них **этот фермент термолабилен.**

•Нетуберкулезные микобактерии синтезируют

• **Ниациновая проба Конно**

M. tuberculosis продуцирует никотиновую кислоту, которая вступает в реакцию с цианистыми соединениями (например, KCN), образуя ниацин.

Это выявляется при добавлении 5% раствора хлорамина в виде **ярко-желтого окрашивания**.

При отрицательном результате реакции на 3 – 4 неделе следует повторить ее после 6 или более недель инкубации, так как возможно, что молодая культура микобактерий не выделила достаточное для реакции количество

- **Реакция восстановления нитратов в нитриты**
- **связана с наличием у *M. tuberculosis* фермента нитратредуктазы.**
- **Активность нитратредуктазы определяется по количеству восстановленного нитрита из нитрата, что сопровождается цветной реакцией (**покраснение**) при добавлении парадиметиламинобензальдегида.**
- **Для определения способности микобактерий редуцировать нитраты используют 4-недельные культуры, выращенные на среде Левенштейна-Йенсена.**

Биохимический признак	M. tuberculosis	M. bovis	Другие микобактерии
Потеря каталазной активности при нагревании до 68°C	Да	Да	Нет
Образование никотиновой кислоты	Да	Нет	Да/Нет
Восстановление нитратов в нитриты	Да	Нет	Да/Нет

Методы диагностики

Ускоренный метод диагностики

Метод микрокультур Прайса

- На несколько предметных стекол толстым слоем наносят обработанный исследуемый материал
- Стекла вертикально погружают в цитратную кровь и ставят в термостат на 10 - 14 дней
- После извлечения из крови стекло сушится, фиксируется, окрашивается по **Цилю-Нильсену**.
- При микроскопии видны **красные** микобактерии в виде кос или нитей войлока (наличие у патогенных



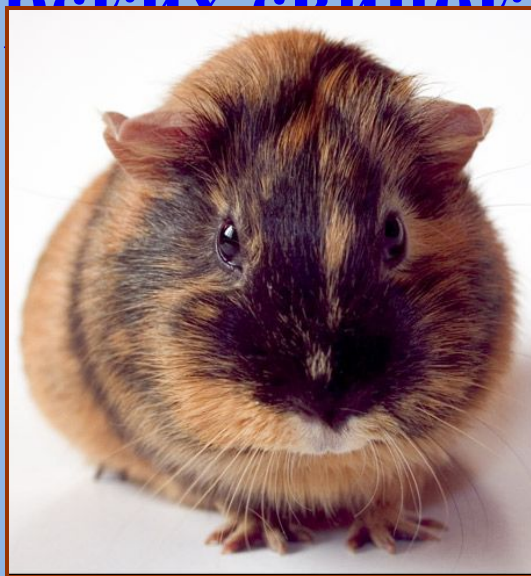
Рис. 3.92. Микроколонии (корд-фактор) *M. tuberculosis*: палочки, расположены в виде «косы», жгутов

4. Биологический метод

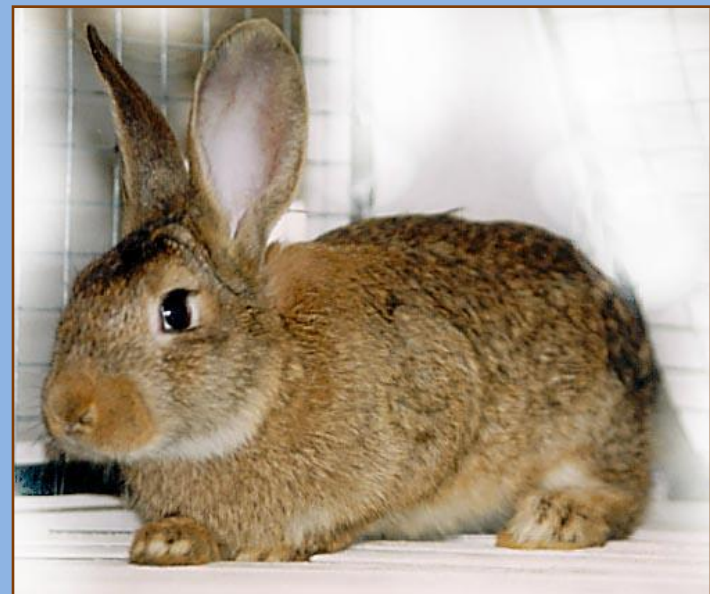
- Производят заражение лабораторных животных исследуемым материалом от больного, учет через 3 - 4 месяца

- **M. tuberculosis** патогенна для

морских свинок



- **M. bovis** патогенна для **кроликов**



5. Метод кожно-аллергических проб

- **Туберкулинодиагностика** – тест для определения специфической сенсibilизации организма к микобактериям туберкулеза (МБТ), в основе которой лежит развитие реакции **ГЗТ**.
- Применяют единую **внутрикожную пробу Манту** с **2 туберкулиновыми единицами (ТЕ)** **очищенного туберкулина** в стандартном разведении (готовая форма), учет результата пробы – через **72 часа**.

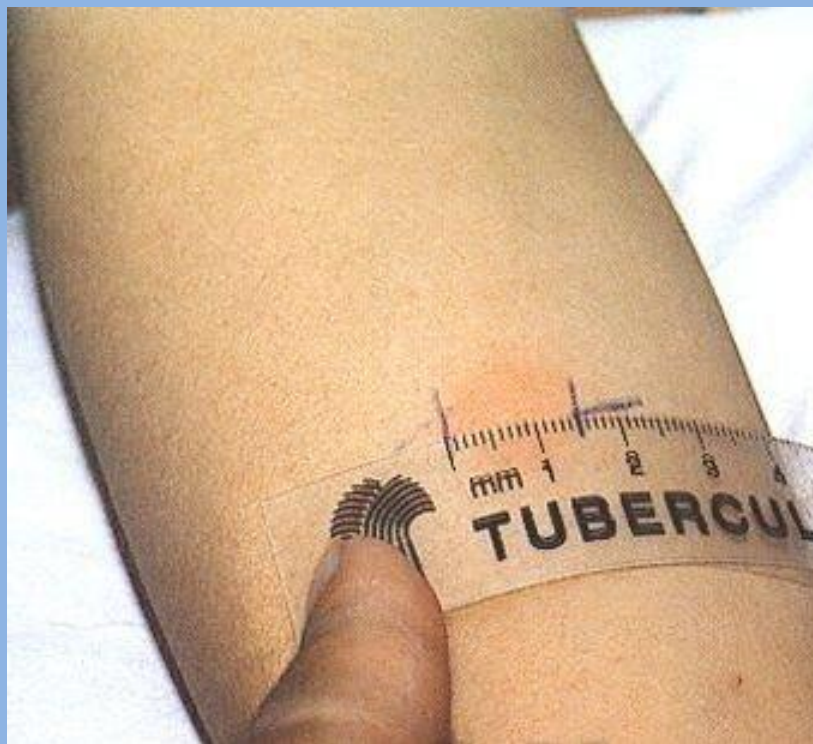
• Очищенный туберкулин (ППД) - purified protein derivative (PPD) – смесь фильтратов культур МБТ человеческого и бычьего видов, убитых нагреванием, очищенная ультрафильтрацией, осажденная трихлоруксусной кислотой, обработанная этиловым спиртом и эфиром.

• Очищенный туберкулин в стандартном разведении выпускают в ампулах в виде раствора, содержащего 2 ТЕ ППД-Л в 0,1 мл (модификация Линниковой).

Пробу Манту производят на внутренней поверхности средней трети предплечья. Иглу вводят срезом вверх **внутрикожно**, вводят **0,1 мл раствора туберкулина**, т.е. одну дозу. При правильной технике в коже образуется папула в виде "лимонной корочки" размером не мене 7 - 9 мм в диаметре беловатого цвета.



Результат пробы Манту **оценивают через 24 - 72 часа** путем измерения размера инфильтрата (папулы) в миллиметрах (мм). Линейкой с миллиметровыми делениями измеряют поперечный (по отношению к оси предплечья) размер инфильтрата.



При учете пробы Манту реакцию считают:

- отрицательной

при полном отсутствии инфильтрата (папулы) или гиперемии или при наличии уколочной реакции (0 - 1 мм)

- сомнительной

при инфильтрате размером 2 - 4 мм или только гиперемии любого размера без инфильтрата

- положительной

при наличии инфильтрата диаметром **5 мм и более:**

- слабоположительная - 5 - 9 мм
- средней интенсивности - 10 - 14 мм
- выраженная - 15 - 16 мм
- гиперергическая у детей и подростков - 17 мм и более

• **«Виразж» пробы Манту** – изменение (увеличение) результата пробы (диаметра папулы) по сравнению с прошлогодним результатом.

• Критериями виража являются:

1. появление впервые положительной реакции (папула 5 мм и более) после ранее отрицательной или сомнительной;
2. усиление предыдущей реакции на 6 мм и более;
3. гиперергическая реакция (более 17 мм) независимо от давности вакцинации;
4. реакция более 12 мм спустя 3-4 года после вакцинации БЦЖ.

Именно вираж заставляет думать о произошедшем в течение последнего года инфицировании

Вакцины БЦЖ и БЦЖ-М (BCG и BCG-M) (Bacillus Calmette-Guérin)



Вакцина БЦЖ

- Содержит живые микобактерии *M. bovis* **аттенуированного** штамма.
- Штамм получен французским микробиологом Кальметтом и ветеринаром Гереном длительным пассированием *M. bovis* на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи. Через 13 лет после 230 пересевов была получена культура со **сниженной вирулентностию**

Специфическая профилактика туберкулеза

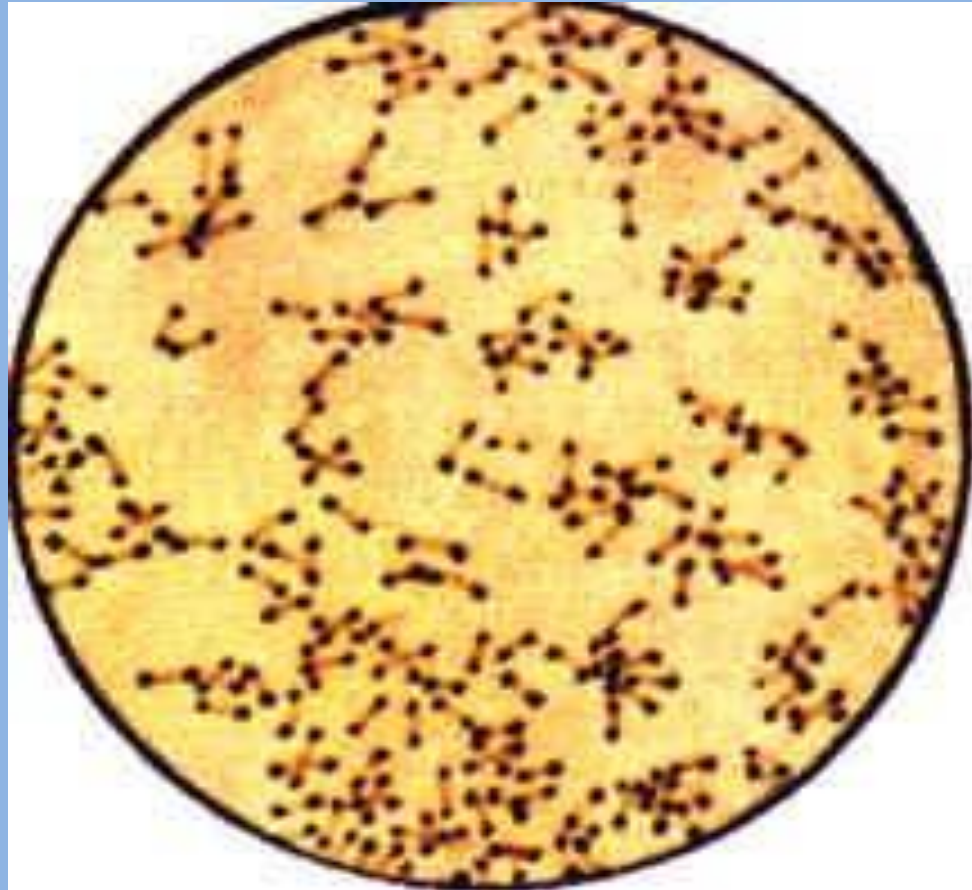
- В РФ вакцинация против туберкулёза проводится **в плановом порядке** – по календарю прививок.
- Первая вакцинация проводится новорожденным на **5 - 7** день жизни.
- Ревакцинация проводится только детям с отрицательной пробой Манту в **6 - 7** лет и в **14 - 15** лет.

КЛАССИФИКАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ДИФТЕРИИ

- 20 группа по Берджи - грамположительные неспорообразующие палочки
- Род: **Corynebacterium** (20 видов)
- Вид: **C. diphtheriae**
 - 4 биовара:
 - **gravis**
 - **mitis**
 - **intermedius**
 - **belfanti**

Морфологические и тинкториальные свойства

- Небольшие палочки с булавовидными утолщениями на концах (греч. *corune* — булава), где располагаются включения (зерна волютина), превышающие поперечный размер клеток
- Располагаются под углом друг к другу в виде римских пятерок (V)
- Имеют микрокапсулу
- Не имеют жгутиков
- Не образуют спор
- Грамположительные



Культуральные свойства

- на простых средах не растёт
- хорошо растёт на средах с сывороткой или кровью:
 - **кровяной агар с теллуридом калия (среда Клауберга)**
 - **свёрнутая лошадиная сыворотка (среда Ру)**
 - **цистин-теллурид-сывороточная среда Тинсдаля:**
 - МПА
 - 1% раствор цистина
 - 2% раствор теллурида калия
 - 2,5% раствор гипосульфита натрия
 - нормальная лошадиная или бычья сыворотка
 - **хинозольная среда Бучина:**
 - МПА
 - хинозол
 - глюкоза
 - водный голубой

• на среде **Клауберга** образуют 3 типа колоний:

gravis – крупные, темно-серые, с радиальной исчерченностью (в виде цветков маргаритки)

mitis – черные, мелкие, гладкие, блестящие, с зоной гемолиза

intermedius

• на среде **Бучина** *S. diphtheriae* образуют **темно-синие колонии**, ложнодифтерийные палочки образуют **сероватые колонии**, колонии дифтероидов имеют **серо-голубой** цвет, рост кокковой флоры на среде полностью подавляется.

Биохимические свойства

- **уреаза-отрицательные**
- **цистиназа-положительные**
- **каталаза-положительные**
- **ферментируют глюкозу и мальтозу с образованием кислоты без газа**
- **не образуют индол**

Эпидемиология дифтерии

Источник инфекции

больной человек или носитель токсигенного штамма (антропоноз)

Пути передачи:

- воздушно-капельный и воздушно-пылевой**
- контактный (через поврежденные кожные покровы)**

Восприимчивый коллектив

любой человек без специфического иммунитета

Факторы патогенности *C. diphtheriae*

- **адгезины:**
 - микрокапсула
 - пили
 - компоненты клеточной стенки
- **ферменты патогенности:**
 - **гиалуронидаза** (компонент дифтерийного токсина)
 - нейраминидаза
 - протеаза
- **ТОКСИНЫ:**

Дифтерийный экзотоксин

- Состоит из 4 фракций:

1-ая - это первично-некротизирующий фактор (некротоксин).

Он вызывает на месте входных ворот инфекции некроз эпителия

2-ая - это гиалуронидаза.

Обладает способностью разрушать гиалуроновую кислоту, являющуюся основой соединительной ткани. Под ее воздействием резко повышается проницаемость сосудов.

В результате происходит экссудация плазмы крови в окружающие ткани.

Содержащийся в плазме фибриноген при контакте с тромбокиназой некротизированного эпителия превращается в фибрин, образуя фибриновую пленку.

3-я - это гемолизирующий фактор.

Играет определенную роль в патогенезе дифтерии только при геморрагической форме заболевания.

4-ая - собственно дифтерийный токсин (основной его компонент).

Является полипептидом, состоит из А и В субъединиц.

В-субъединица прикрепляется к ганглиозидным рецепторам на клетке-мишени

А-субъединица проникает внутрь клетки-мишени и, являясь ферментом АДФ-рибозил-трансферазой, вызывает АДФ-рибозилирование белкового фактора элонгации EF-2, необходимого для построения полипептидных цепей на рибосомах, что приводит к подавлению синтеза белка на стадии элонгации в рибосомах и гибели клеток

Патогенез дифтерии

Проникновение через слизистые зева, носа, гортани,
реже – глаз, половых путей, редко – через кожу



Адгезия и колонизация эпителия слизистых



Выделение ферментов и **ЭКЗОТОКСИНА**



МЕСТНО


Повышение проницаемости
сосудистой стенки
и некроз эпителия



В КРОВЬ

Токсическое действие на:


1. миокард
2. почки и надпочечники
3. нервную систему
4. развитие ДВС - синдрома




Выход фибриногена плазмы крови,
превращение его в **фибрин** на поверхности слизистой
под действием тканевого тромбoplastина



Фибринозное воспаление (греч. **diphthera** — плёнка),
отёк окружающих тканей



на слизистой оболочке
ротоглотки, покрытой
многослойным плоским
эпителием, **фибриновая пленка**
плотно спаяна с подлежащими
тканями и снимается с трудом
(дифтеритическое воспаление)

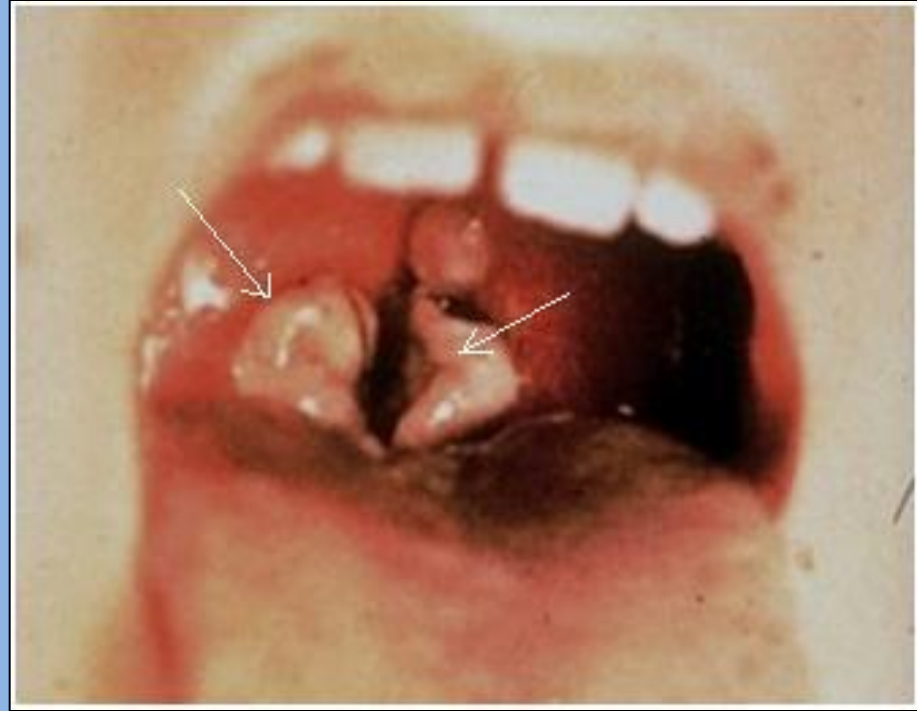


на слизистой оболочке,
покрытой однослойным
цилиндрическим эпителием
(гортань, трахея, бронхи),
фибриновая пленка легко
отделяется от подлежащих
тканей (крупозное воспаление)

Клинические формы дифтерии

- Дифтерия ротоглотки (зева) (90 – 95%)
- Дифтерийный круп:
 - дифтерия гортани (дифтерийный круп локализованный)
 - дифтерия гортани и трахеи (круп распространённый)
 - дифтерия гортани, трахеи и бронхов (нисходящий круп)
- Дифтерия носа
- Дифтерия половых органов
- Дифтерия глаз
- Дифтерия кожи
- Комбинированные формы с одновременным поражением нескольких органов

Дифтерия ротоглотки



Дифтерия ротоглотки, токсическая форма (“бычья” шея)



Дифтерия

глаз



КОЖИ



Лабораторная диагностика дифтерии

Исследуемый материал:

слизь из зева, носоглотки, соскоб с конъюнктивы, фрагменты фибринозной пленки.

Методы диагностики

1) Экспресс – метод:

– ПЦР

–ИФА

2) Микроскопический метод

Диагностически значим

- Характерная морфология возбудителя:

палочки с булавовидными утолщениями на концах (греч. **κορυπε** — **булава**), где располагаются **включения (зерна волютина)**, превышающие поперечный размер клеток.

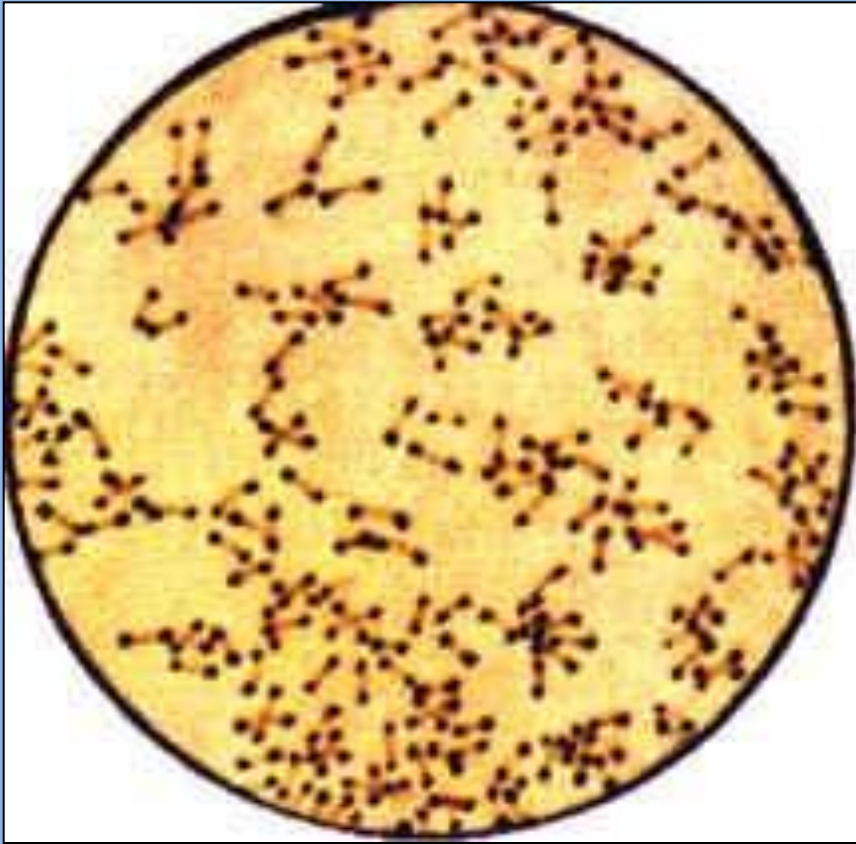
Методы окраски:

- по Нейссеру
- по Лёффлеру

- Характерное расположение возбудителей в исследуемом материале:

располагаются под углом друг к другу в виде **римских пятерок (V)**

Окраска:
по Нейссеру



по Лёффлеру



2) Микроскопический метод

- Гранулы волютина можно выявить с помощью люминесцентной микроскопии.
- Для этого препарат окрашивают **корифосфином**. Цитоплазма коринебактерий даёт **желто-зеленое** свечение, а зёрна волютина - **красное**

3) Бактериологический метод – основной

- на простых средах не растёт
- **кровяной агар с теллуридом калия (среда Клауберга):**
 - МПА
 - баранья кровь
 - 1% раствор теллурида калия
- **цистин-теллурид-сывороточная среда Тинсдаля:**
 - МПА
 - нормальная лошадиная или бычья сыворотка
 - 1% раствор цистина
 - 2% раствор теллурида калия
 - 2,5% раствор гипосульфита натрия
- **хинозольная среда Бучина:**
 - МПА
 - кровь
 - хинозол
 - глюкоза

На среде Клауберга



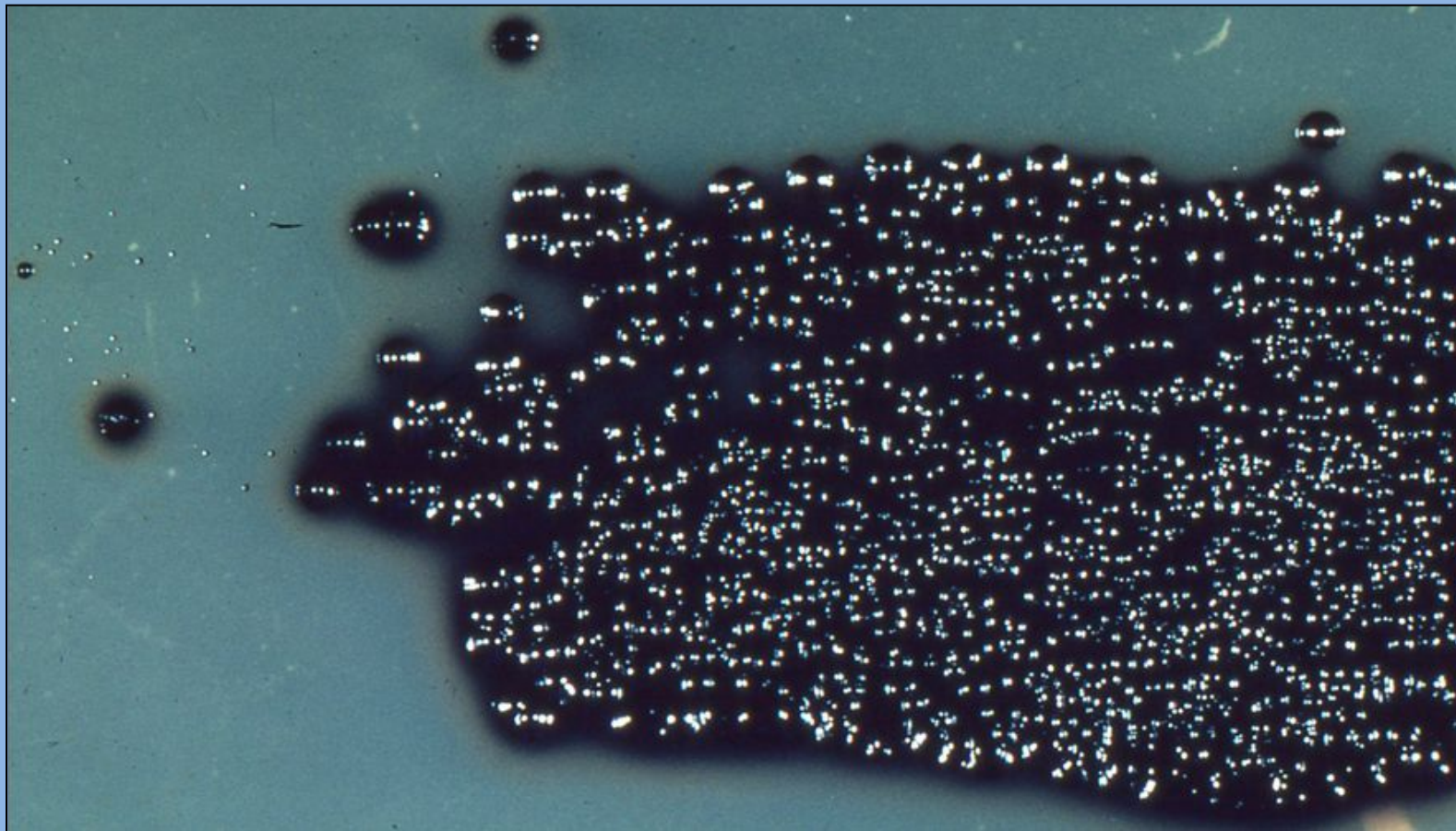
Рис. 3.89. Колонии *C. diphtheriae* *gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

На среде Тинсдала



На среде Бучина

C. diphtheriae образуют темно-синие колонии, ложнодифтерийные палочки образуют сероватые колонии, колонии дифтероидов имеют серо-голубой цвет.



- Из колоний материал пересевает на **свёрнутую лошадиную сыворотку (среда Р_у)** для выделения чистой культуры
- Идентификация чистой культуры:
 - по биохимическим свойствам:
 1. ферментируют глюкозу и мальтозу до кислоты, **не** ферментируют сахарозу
 2. **не выделяют уреазу (проба Закса отрицательная)**
 3. **выделяют цистиназу (проба Пизу положительная)**
 - по антигенным свойствам (**РА**)
 - определение токсигенности – **РП в геле**

Проба Пизу (на цистиназу)

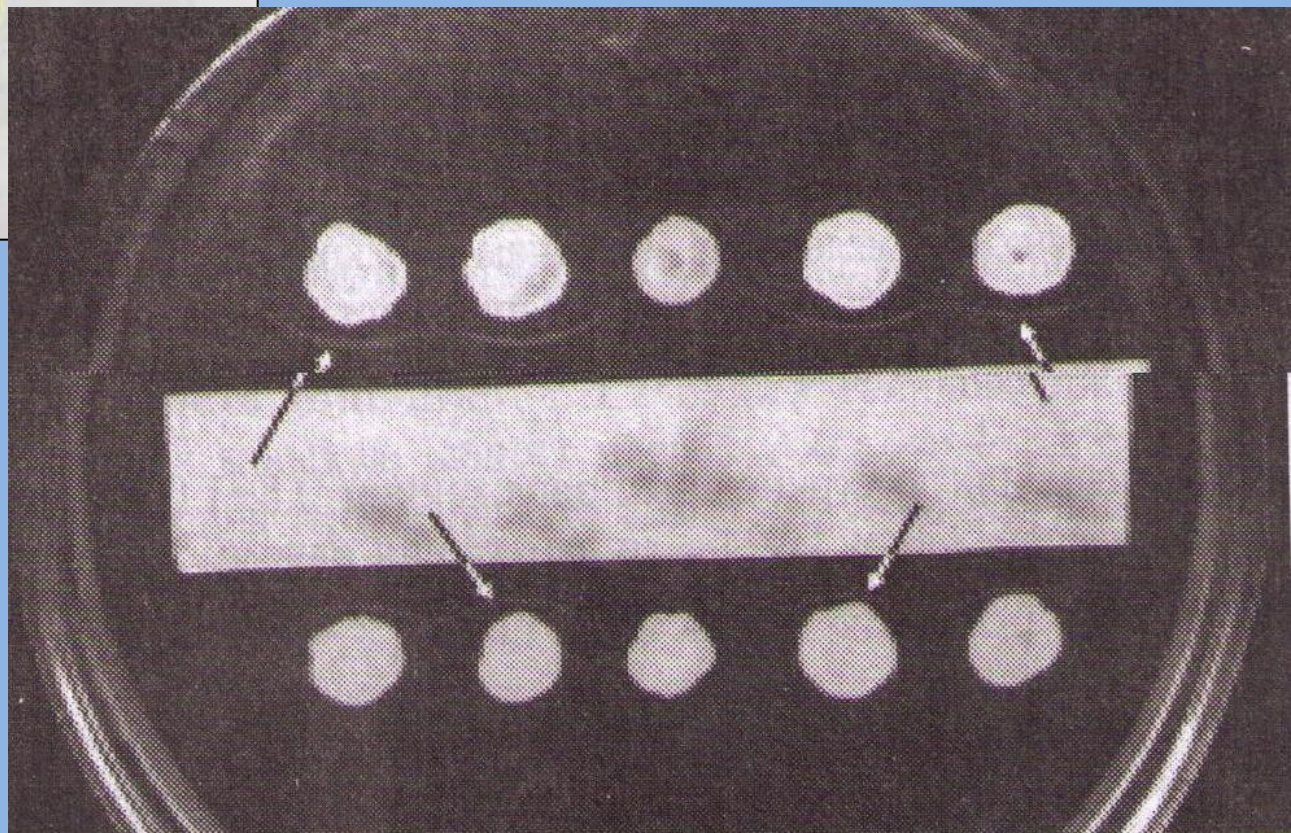
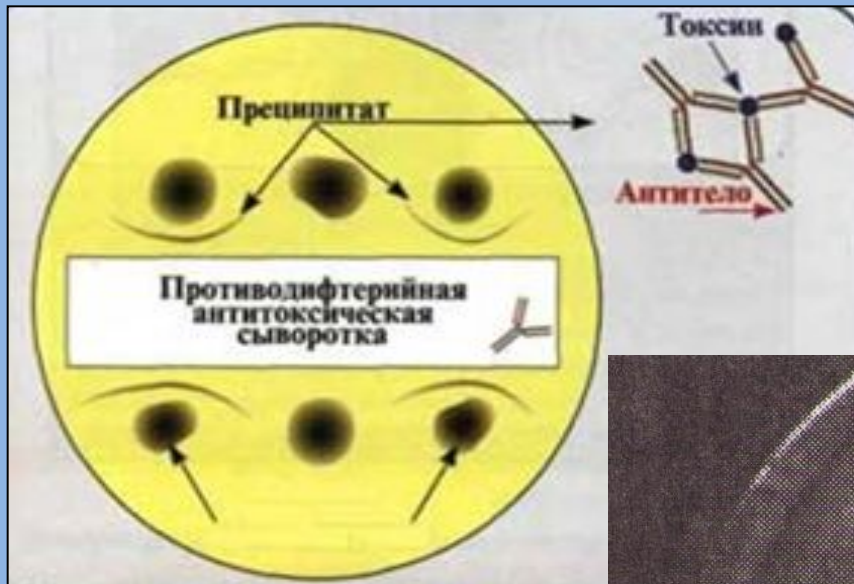
- Среда для определения **цистиназы** (для пробы Пизу) (посев производят уколом):
 - МПА
 - лошадиная сыворотка
 - 1% раствор цистина
 - 10% раствор ацетата свинца
- При выделении **цистиназы** **цистин** расщепляется с выделением H_2S и происходит почернение среды по ходу посева
- Для возбудителя дифтерии эта проба **положительная!!!**

Проба Закса (на уреазу)

- Среда для определения **уреазы** (для пробы Закса):
 - вода
 - мочевины
 - раствор фенолового красного
 - фосфат калия
- При наличии уреазы мочевины расщепляется с образованием аммиака и **среда краснеет.**
- Для возбудителя дифтерии эта проба отрицательная!!!

РП в геле

(для определения токсигенности культуры)



4) Серологический метод

- Для изучения напряженности противодифтерийного иммунитета проводят определение уровня **антитоксических противодифтерийных антител** в сыворотке крови человека **в РПГА**.
- В РПГА используется эритроцитарный **диагностикум**, который представляет собой **эритроциты с адсорбированным на них дифтерийным анатоксином**
- Условно-защитный титр – **1:40** (антитоксический иммунитет напряженный); если титр меньше –

Проба Шика

- Проводится для определения напряженности антитоксического иммунитета (для решения вопроса о ревакцинации)
- 0,1 мл дифтерийного токсина (1/40 DLM для морской свинки) вводят внутрикожно в сгибательную поверхность предплечья
- Если в крови человека присутствуют антитоксические противодифтерийные АТ в защитных титрах, введенный токсин будет нейтрализован и реакция в месте инъекции не разовьется (**отрицательная**).
- **Положительная** реакция Шика означает отсутствие антитоксических АТ и характеризуется воспалительной

Специфическая профилактика дифтерии

В соответствии с календарем прививок:
детей вакцинируют с 3 месяцев жизни 3-кратно с
интервалом 1,5 месяца вакциной **АКДС**.

Первая ревакцинация проводится в 18 месяцев
вакциной **АКДС**.



Вторая ревакцинация проводится в 6 – 7 лет, третья ревакцинация – в 14 лет вакциной **АДС – М.**

Последующие ревакцинации проводят каждые 10 лет ассоциированными препаратами (АДС** или **АДС-М**) или монопрепаратами (**АД-М**).**

После законченного курса иммунизации организм человека в течение длительного срока (около 10 лет) сохраняет способность к быстрой (в течение 2-3 дней) выработке антитоксинов в ответ на повторное введение препаратов, содержащих АД-анатоксин. Введение дифтерийного анатоксина вызывает образование специфических **антитоксических антител.**

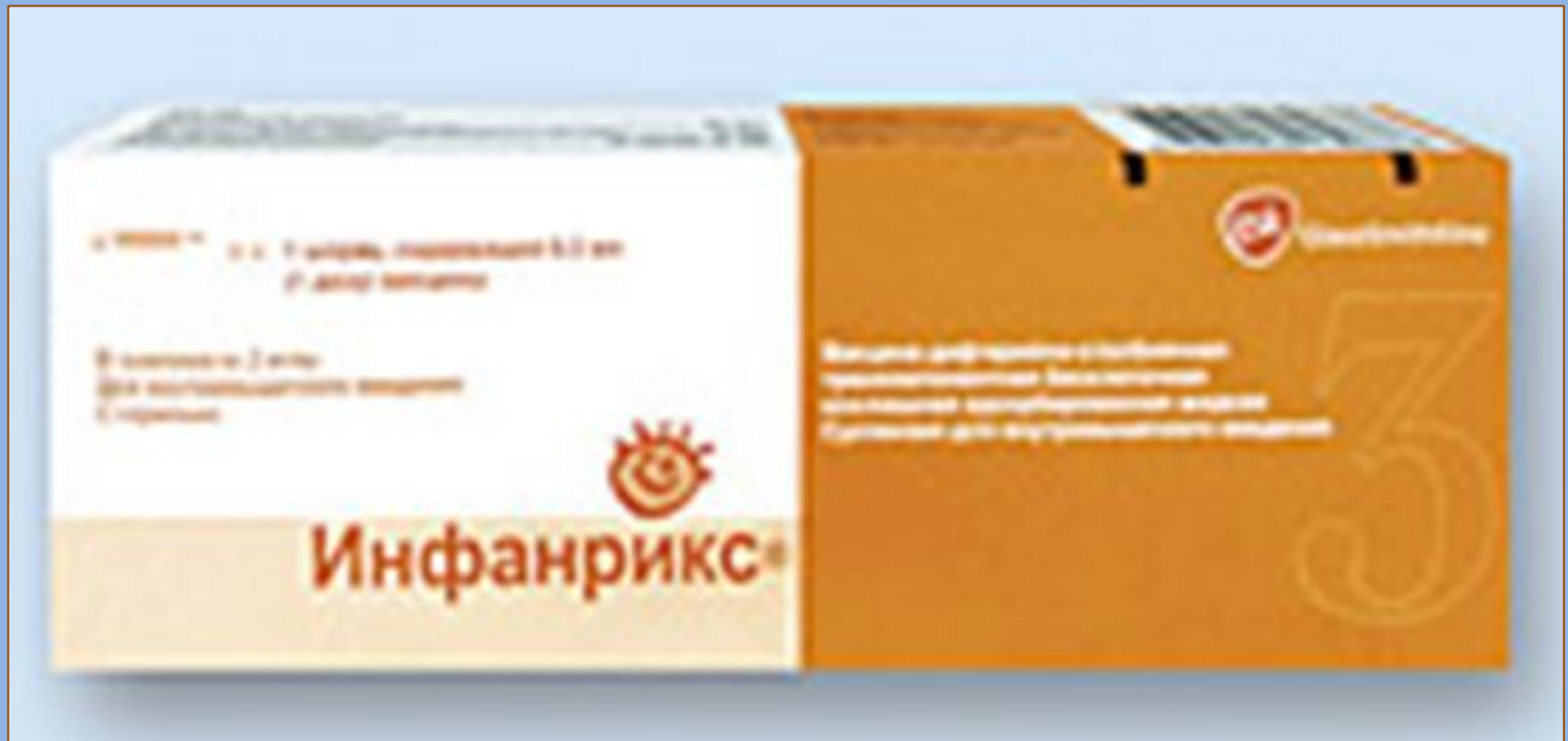
Вакцина **Тетракок** содержит:

- **дифтерийный** и **столбнячный анатоксины**, адсорбированные на гидроокиси алюминия,
- клетки коклюшной палочки, подвергнутые тепловой инактивации,
- вирус полиомиелита 3-х типов, инактивированный формальдегидом.



Вакцина **Инфанрикс** содержит:

- **дифтерийный анатоксин**
- **столбнячный анатоксин**
- **3 антигена коклюшной палочки**



• Д.Т.ВАКС

дифтерийный анатоксин + столбнячный анатоксин, адсорбированные на гидроокиси алюминия

• Д.Т.КОК

дифтерийный анатоксин + столбнячный анатоксин, адсорбированные на гидроокиси алюминия + инактивированный возбудитель коклюша

• Д.Т.ПОЛИО

дифтерийный анатоксин + столбнячный анатоксин, адсорбированные на гидроокиси

Специфическое лечение дифтерии

1. Противодифтерийная лошадиная сыворотка

содержит специфические АТ сыворотки крови лошадей, гипериммунизированных дифтерийным анатоксином; очищенная и концентрированная методом “Диаферм-3”. Вводится по Безредке.

2. Иммуноглобулин противодифтерийный человека для внутривенного введения

содержит иммуноглобулины сыворотки крови доноров, иммунизированных дифтерийным анатоксином; фракция выделена по методу Кона.