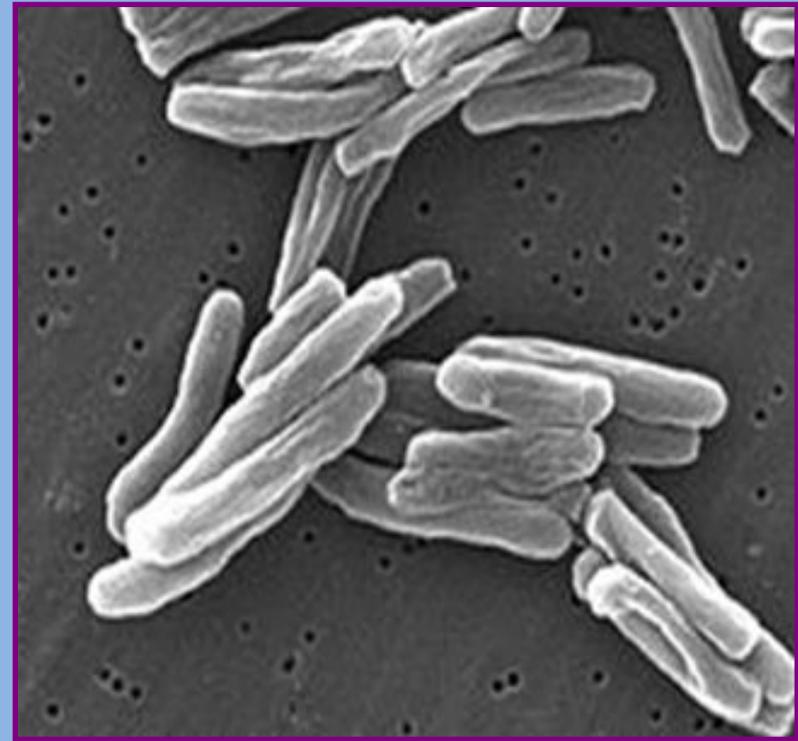


# Туберкулёз, дифтерия

# Классификация микобактерий

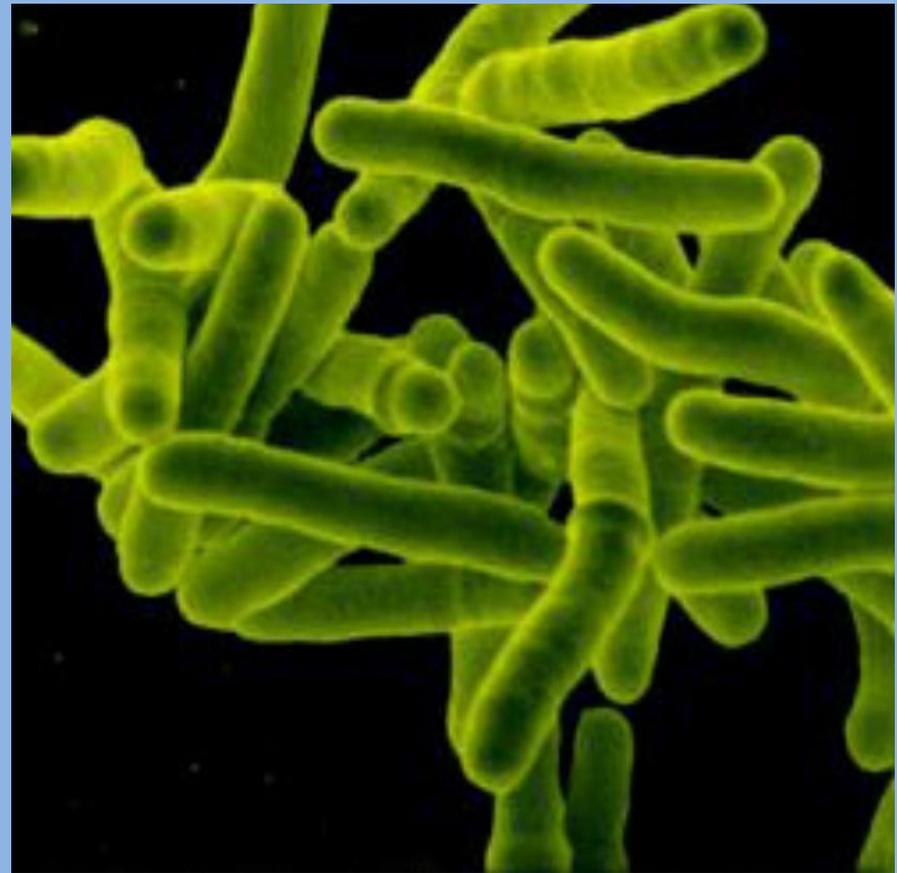
- 21 группа по Берджи -  
грамположительные  
неспорообразующие  
палочки
- род *Mycobacterium*
- 3 подгруппы по  
скорости роста на  
питательных средах:



- 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

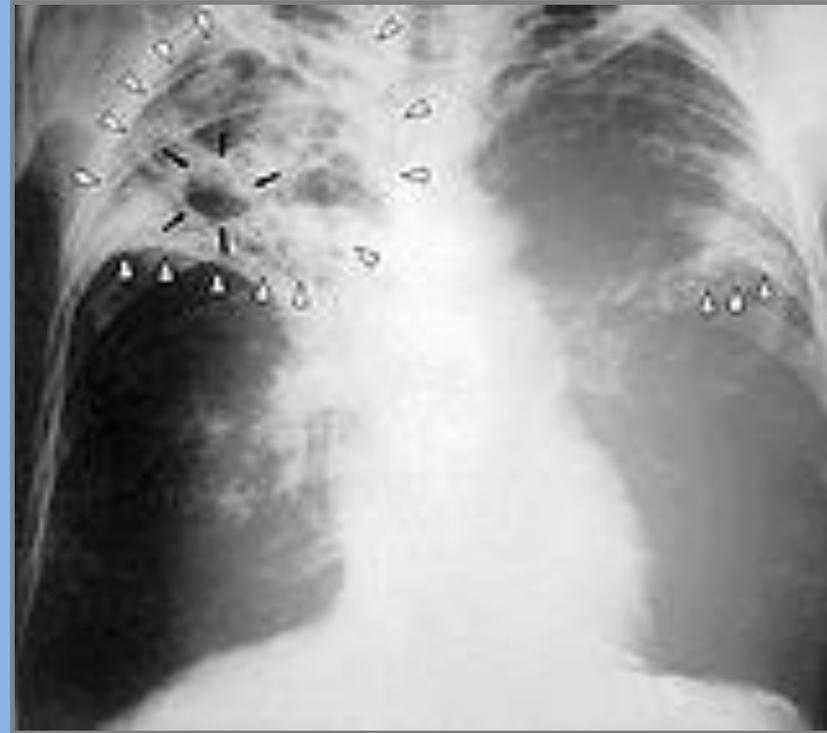
- **больной туберкулезом человек, выделяющий микобактерии, реже – животные (для M. bovis)**

## 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)

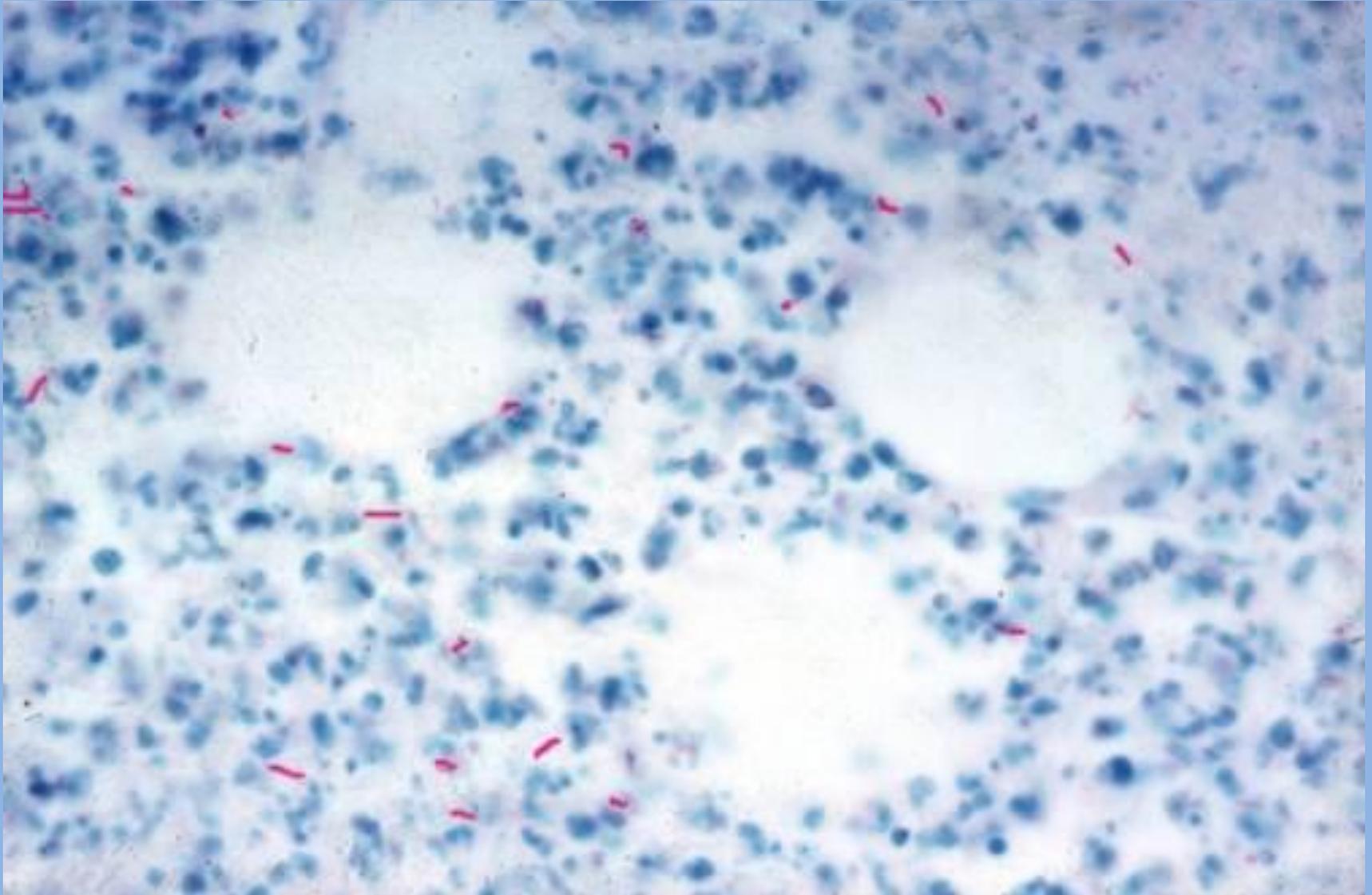


Гибель и трансформация макрофагов в эпителиоидные клетки и гигантские клетки Пирогова-Лангханса



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

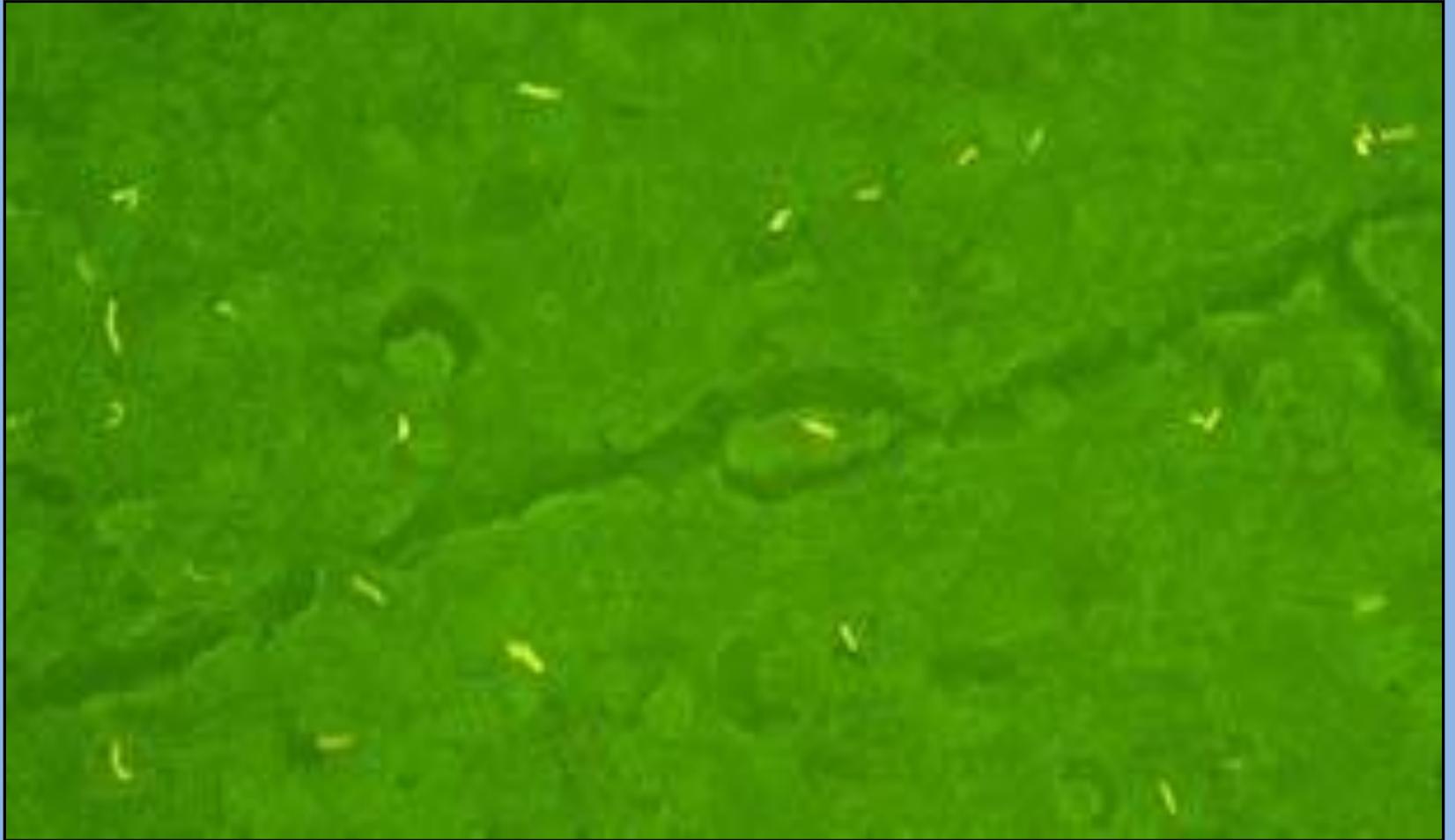
- 1) окраска **карболовым фуксином** с подогреванием - при одновременном воздействии нагревания и карболовой кислоты повышается способность красителя проникать в микробную клетку (обычные анилиновые красители не проникают в клеточную стенку микобактерий)
- 2) **обесцвечивание** мазка **5%** раствором 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.**

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

# 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**.

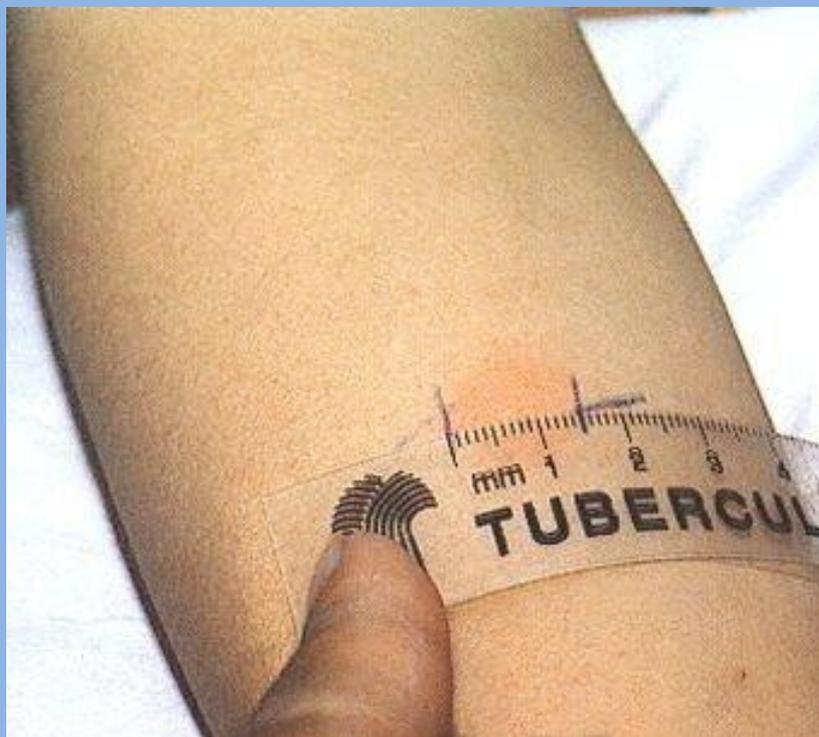
**• Очищенный туберкулин (ППД) - purified protein derivative (PPD) – смесь фильтратов культур МБТ человеческого и бычьего видов, убитых нагреванием, очищенная ультрафильтрацией, осажденная трихлоруксусной кислотой, обработанная этиловым спиртом и эфиром.**

**• 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 вирулентностью.

# Специфическая профилактика туберкулеза

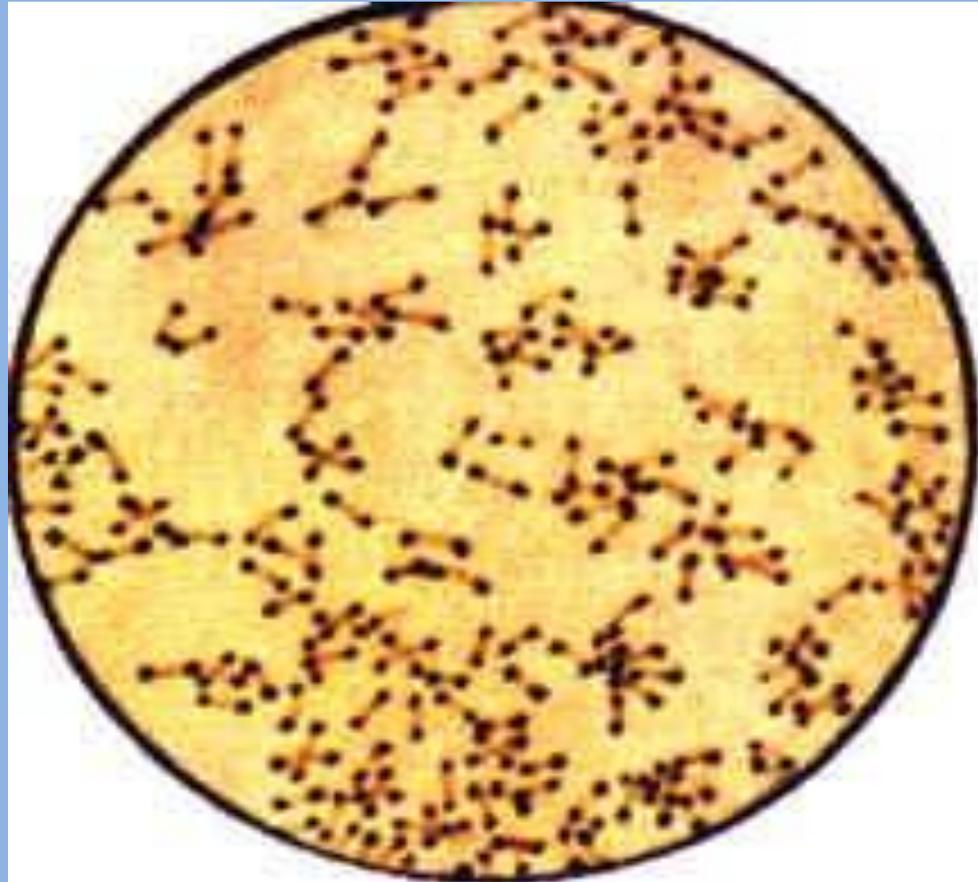
- В РФ вакцинация против туберкулёза проводится **в плановом порядке** – по календарю прививок.
- Первая вакцинация проводится новорожденным на **5 - 7** день жизни.
- Ревакцинация проводится только детям с отрицательной пробой Манту в **6 - 7** лет и в **14 - 15** лет.

# 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**)

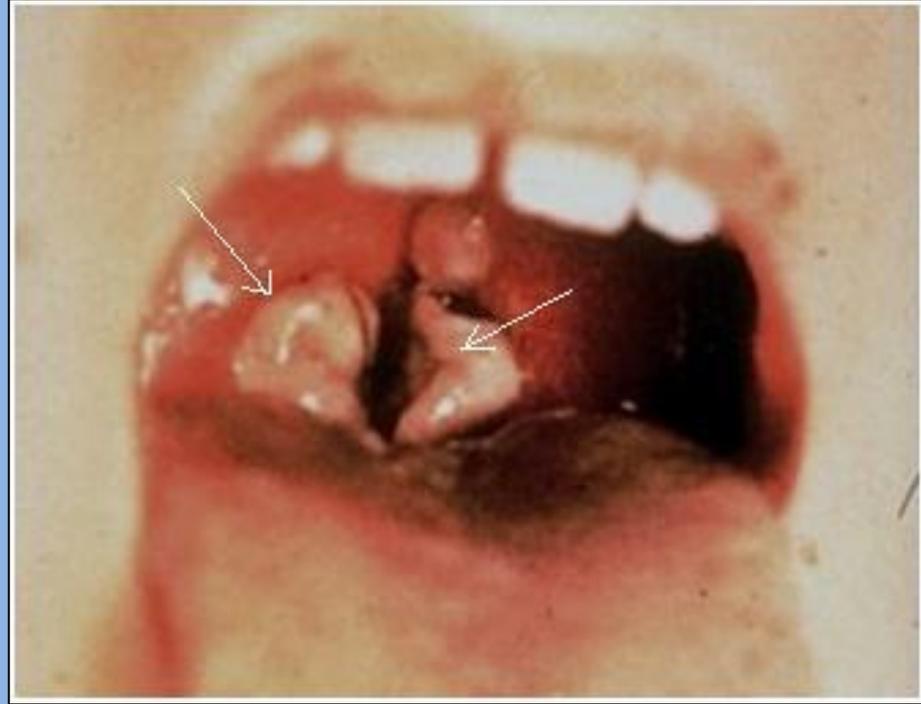
↓

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

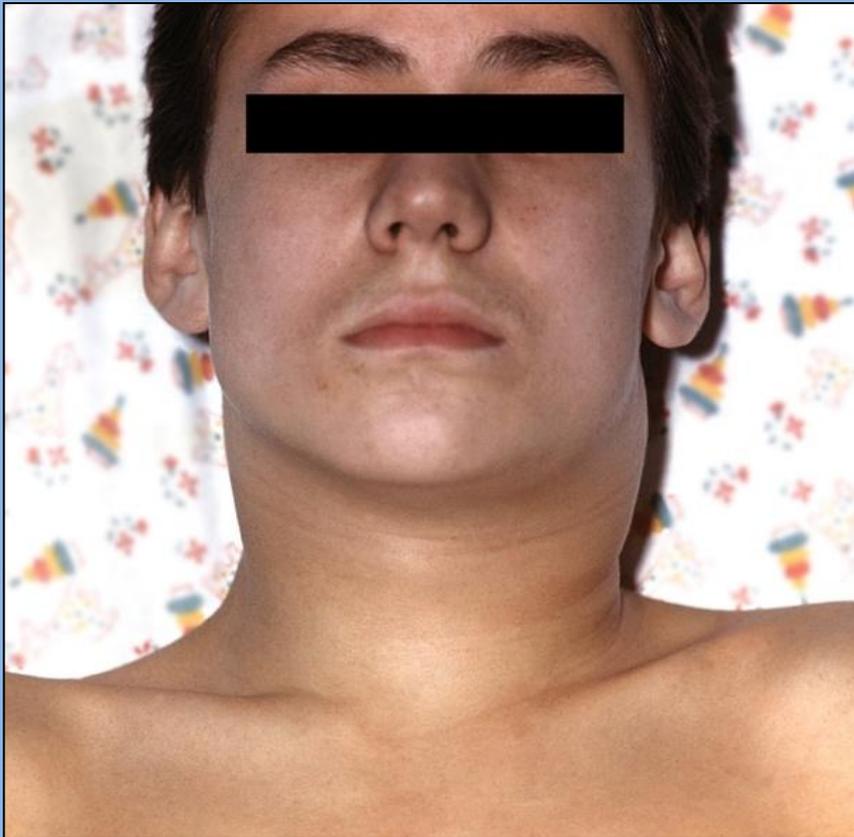
# Клинические формы дифтерии

- 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.

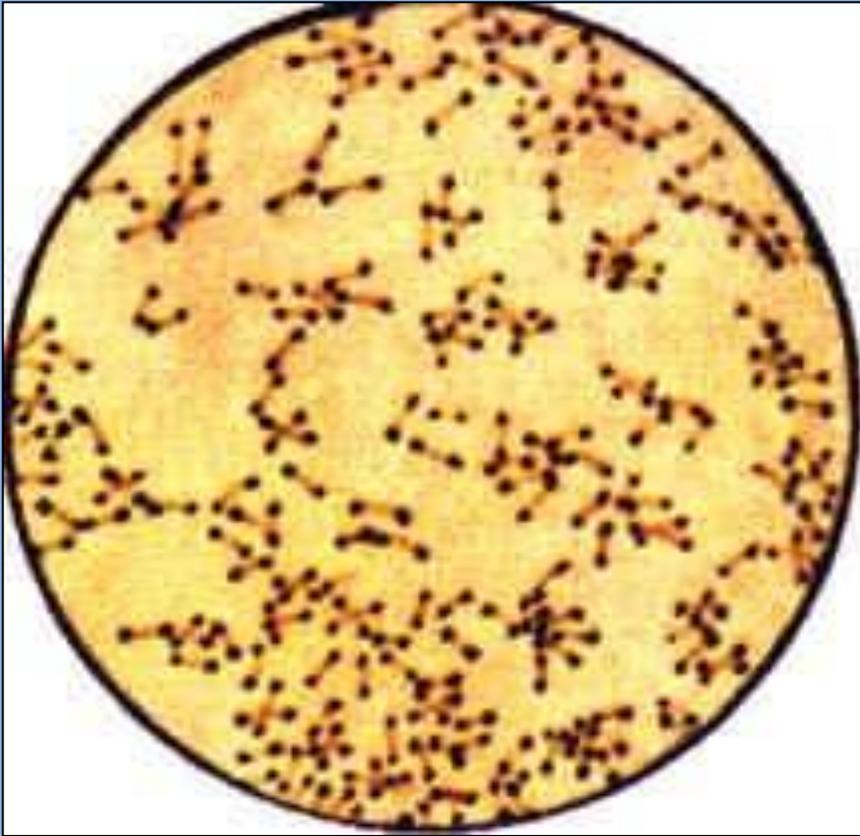
Методы окраски:

- по Нейссеру
- по Лёффлеру

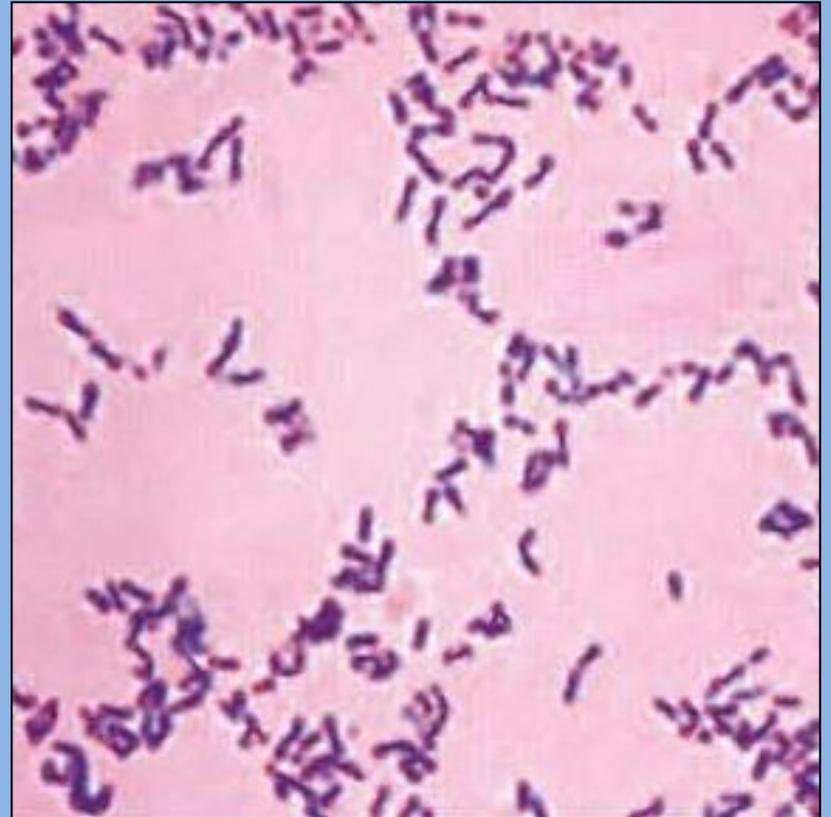
- Характерное расположение возбудителей в исследуемом материале:

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



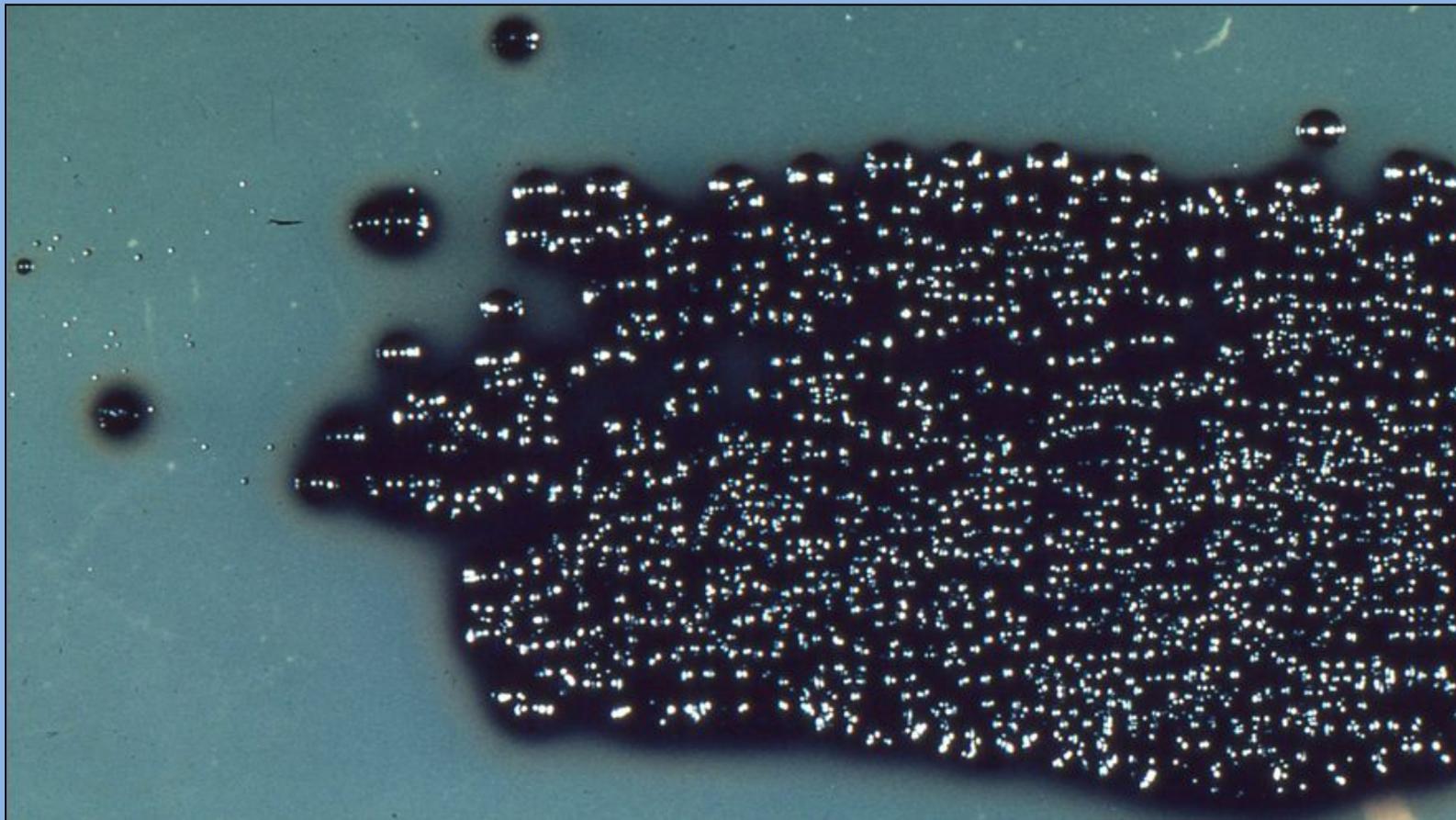
**Рис. 3.89.** Колонии *C. diphtheriae* *gravis* (слева) — крупные матовые, выпуклые в центре с радиальной исчерченностью и неровными краями («маргаритки») и *mitis* (справа) — мелкие, черные, гладкие, блестящие с ровными краями

# На среде Тинсдала



# На среде Бучина

*S. 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<sub>у</sub>)** 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)

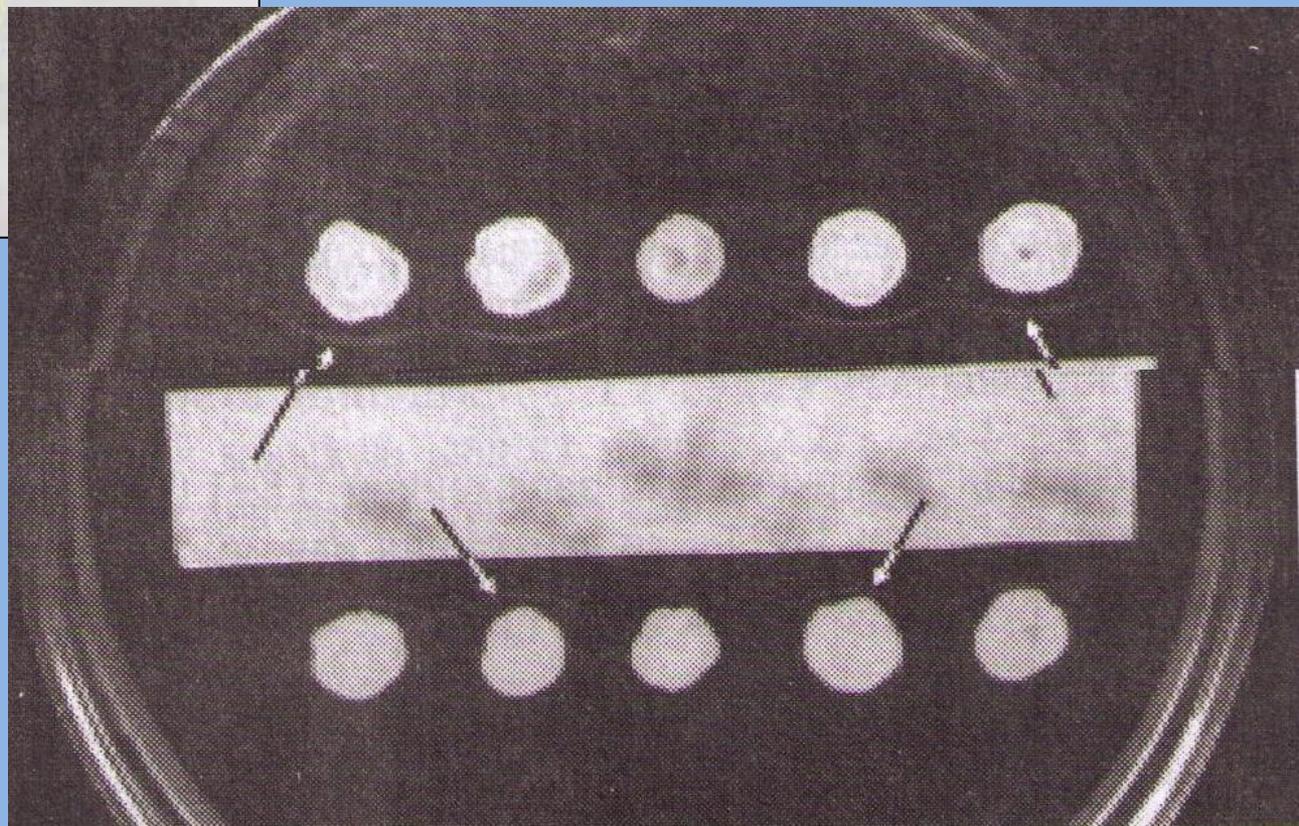
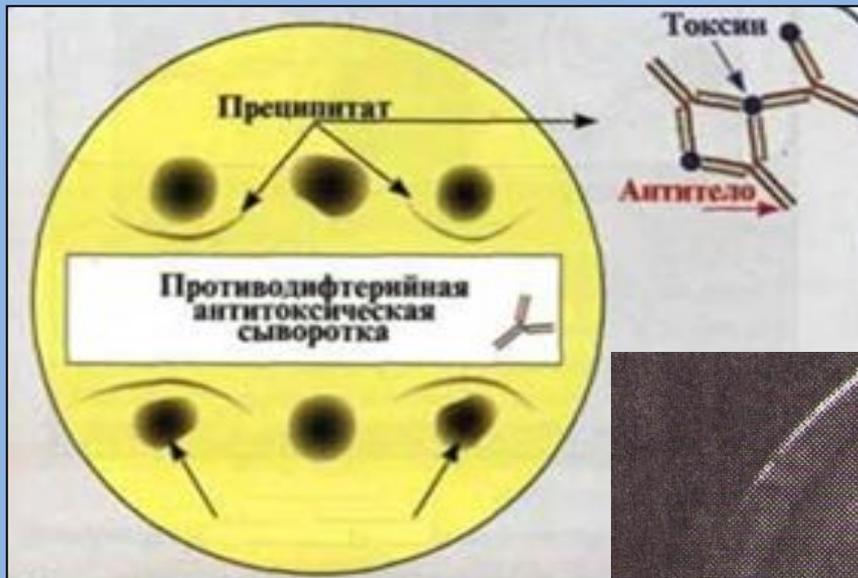
- Среда для определения **цистиназы** (для пробы Пизу) (посев производят уколом):
  - МПА
  - лошадиная сыворотка
  - 1% раствор цистина
  - 10% раствор ацетата свинца
- При выделении **цистиназы** **цистин** расщепляется с выделением  $H_2S$  и происходит почернение среды по ходу посева
- Для возбудителя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

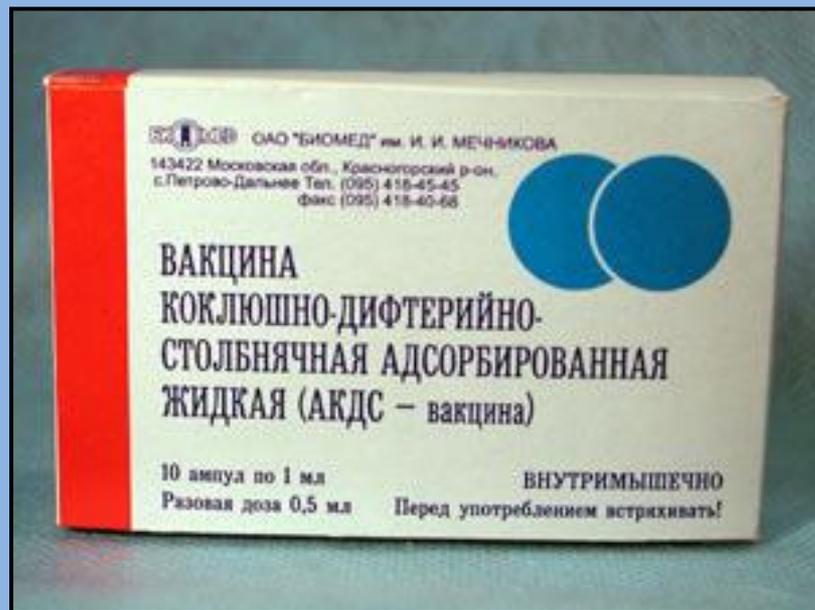
# Проба Шика

- 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**.

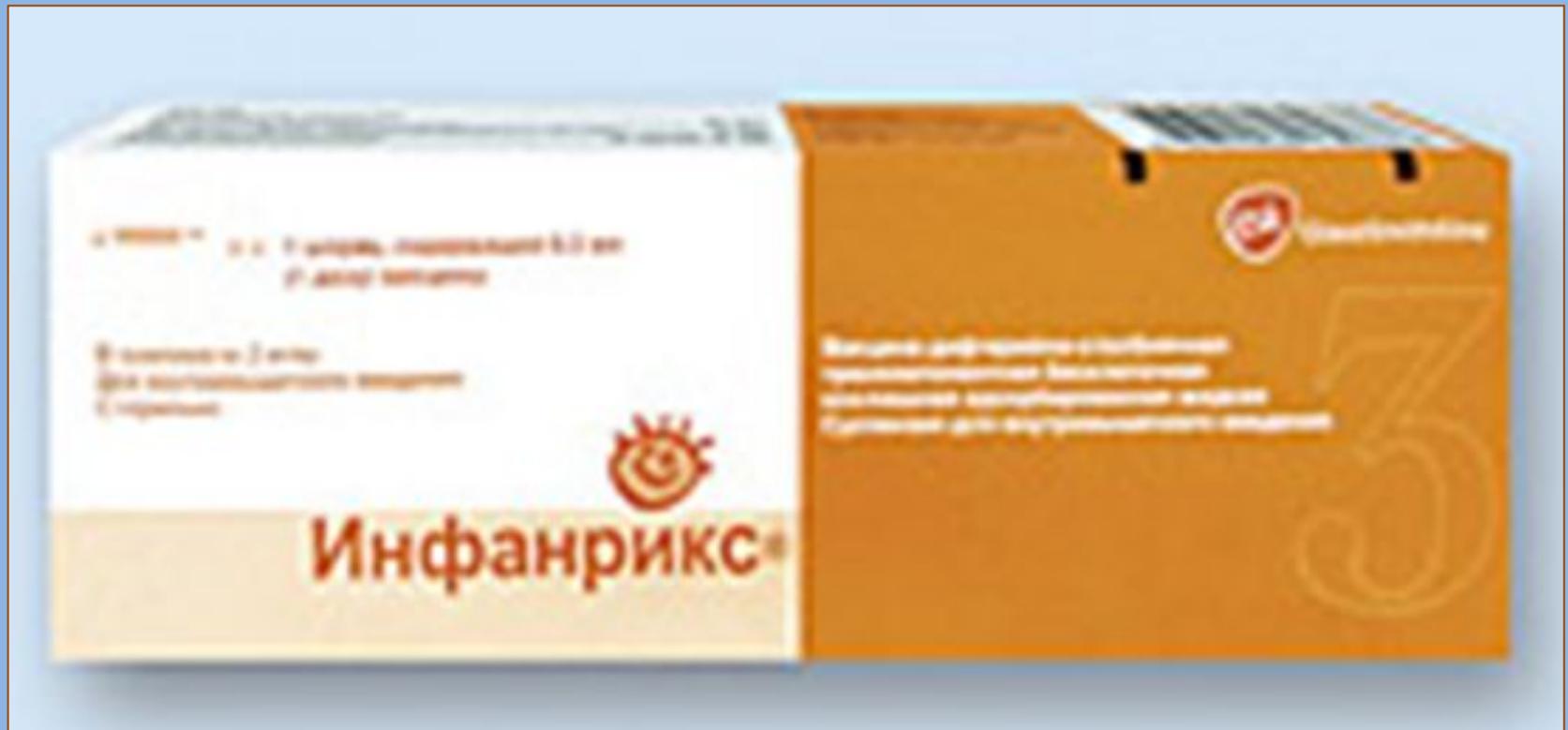
# Вакцина **Тетракок** содержит:

- **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.**