

**МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО
СПЕЦИАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**АНДИЖАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ**

ИБРАГИМОВА ЛОЛА МАХАММАДЖАНОВНА

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

**ПО ПРЕДМЕТУ “МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И
ИММУНОЛОГИЯ”**

ПО РАЗДЕЛУ “ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ”

Направление образования: 60910400 – Медико-профилактическое дело

АНДИЖАН-2023

Автор:

Ибрагимова Л.М.

старший преподаватель кафедры фтизиатрии и
пульмонологии, микробиологии, вирусологии и

иммунологии

Андижанского государственного медицинского института

Рецензенты:

Мирзакаримова Д.Б.

к.м.н., доцент, заведующий кафедрой инфекционных

болезней

Андижанского государственного медицинского института

Расулов Ф.Х.

к.м.н., доцент, заведующий кафедрой микробиологии,
вирусологии и иммунологии Ферганского медицинского
института общественного здоровья

Аннотация

Учебное пособие по разделу: «Частная микробиология» составлена для студентов медицинских вузов медико-профилактического направления, в свою очередь является учебным пособием, который включает в себя новые современные информации по данному разделу.

Данное учебное пособие содержит краткое изложение учебного материала для практических занятий, кроме этого учебное пособие проиллюстрирована уникальными микропрепаратами с краткими описаниями, которые являются в свою очередь необходимыми знаниями для изучения микроорганизмов в развитии инфекционных заболеваний.

В данном пособии отражены морфологические, культуральные, биохимические, патогенетические, антигенные свойства, а также лабораторная микробиологическая диагностика и профилактика инфекционных заболеваний.

Annotatsiya

“Xususiy mikrobiologiya” bo‘limi uchun o‘quv qo‘llanma tibbiyot oliy o‘quv yurtlarining tibbiy-profilaktika yo‘nalishi talabalari uchun tuzilgan bo‘lib, o‘z navbatida ushbu bo‘lim bo‘yicha yangi zamonaviy ma‘lumotlarni o‘z ichiga olgan darslikdir.

Ushbu qo‘llanmada amaliy mashg‘ulotlar uchun o‘quv materialining qisqacha mazmuni mavjud bo‘lib, qo‘shimcha ravishda qo‘llanmada qisqacha tavsiflangan noyob mikropreparatlar tasvirlangan bo‘lib, ular o‘z navbatida yuqumli kasalliklar rivojlanishida mikroorganizmlarni o‘rganish uchun zarur bilimdir.

Ushbu qo‘llanmada yuqumli kasalliklarning morfologik, kultural, biokimyoviy, patogenetik, antigenik xususiyatlari hamda laboratoriya mikrobiologik diagnostikasi va profilaktikasi o‘z aksini topgan.

Annotation

The textbook for the section: "Private Microbiology" was compiled for students of medical universities of the medical and preventive direction, in turn, it is a textbook that includes new modern information on this section.

This manual contains a summary of the educational material for practical exercises, in addition, the manual is illustrated with unique micropreparations with brief descriptions, which in turn are the necessary knowledge for studying microorganisms in the development of infectious diseases.

This manual reflects morphological, cultural, biochemical, pathogenetic, antigenic properties, as well as laboratory microbiological diagnostics and prevention of infectious diseases.

ОГЛАВЛЕНИЕ

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ: СТАФИЛОКОККИ, СТРЕПТОКОККИ, СИНЕГНОЙНАЯ ПАЛОЧКА.	6
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТАФИЛОКОККОВ.	6
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТРЕПТОКОККОВ.	14
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПНЕВМОКОККОВ.	19
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ.	24
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ: МЕНИНГОКОККОВ, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА. ЛЕПРЫ.	28
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МЕНИНГОКОККОВ	28
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ДИФТЕРИИ.	33
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА	38
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕПРЫ	45
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ. ГАЗОВАЯ ГАНГРЕНА, СТОЛБНЯК.	48
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГАЗОВОЙ ГАНГРЕНЫ	48
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ СТОЛБНЯКА.	52
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ: ЭШЕРИХИЙ, ШИГЕЛЛ, САЛЬМОНЕЛЛ.	57
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭШЕРИХИИ	57
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ШИГЕЛЛЫ	61
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА SALMONELLA	65
ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ: БОТУЛИЗМ, САЛМОНЕЛЛЁЗ.	69
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОТУЛИЗМА.	69
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА САЛМОНЕЛЛЁЗОВ.	73
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОСОБО-ОПАСНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ: СИБИРСКАЯ ЯЗВА, ЧУМА, БРУЦЕЛЁЗ, ТУЛЯРЕМИИ.	76
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЧУМЫ	76
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ	81
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЁЗА.	87
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУЛЯРЕМИИ.	90

ВВЕДЕНИЕ

Предметом изучения раздела частной медицинской микробиологии являются микроорганизмы или патогены, которые вызывают инфекционные заболевания человека. И мы говорим не только о карантинных инфекциях это такие как, острые кишечные инфекции, скарлатина, дифтерия и др., но и о микробных заболеваниях, которые встречаются в клиниках хирургического и терапевтического отделения. Помимо патогенных микроорганизмов особую роль в инфекционной патологии играют также условно-патогенные микроорганизмы, особенно бактерии и дрожжеподобные грибы. Они принадлежат к нормальной микрофлоре организма человека, они заселяют определенные биотопы, и в норме не проявляют свои патогенные свойства, но при иммунодефицитах эти микроорганизмы проявляют себя как настоящие патогены, вызывают инфекционные заболевания, их называют оппортунистическими инфекциями.

Медицинскую микробиологию подразделяют на медицинскую бактериологию, вирусологию, микологию, протозоологию. Видовое название бактерий используется для наименования определенных заболеваний. Например, заболевания, вызванные эшерихиями, называть эшерихиозами, шигеллами — шигеллезами и т.д. По патогенезу и входным воротам все инфекционные заболевания делят на респираторные, кишечные, урологические, раневые и др. Классификации инфекционных болезней подразделяются на пути передачи, например фекально-оральные, передача через грязные руки, трансмиссивные - передача через укусы кровососущих насекомых, венерические — при половом контакте; по источнику инфекции: зоонозные — источником является животное, антропонозные-источником является человек.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ: СТАФИЛОКОККИ, СТРЕПТОКОККИ, СИНЕГНОЙНАЯ ПАЛОЧКА.

Патогенные грамположительные кокки - это большая группа микроорганизмов, включающая патогенных, условно-патогенных и непатогенные кокки.

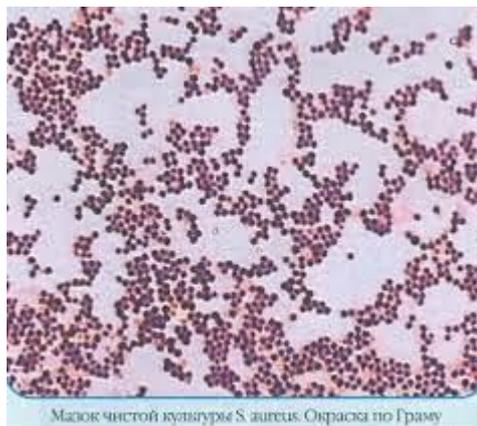
1. Micrococcaceae - род *Staphylococcus*
2. Streptococcaceae - род *Streptococcus*
3. Neisseriaceae - род *Neisseria*

Основным признаком для всех грамположительных патогенных кокков является их способность вызывать гнойные-воспалительные процессы, поэтому они называются гноеродными или пиогенными кокками. Все патогенные грамположительные кокки неподвижны, не образуют спор, пневмококки образуют капсулу, а также некоторые стрептококки образуют микрокапсулу. По тинкториальным (восприимчивость красителей клеточной стенки) свойствам они делятся на грамположительные (стафилококки, стрептококки, пневмококки, пептострептококки и др.) и грамотрицательные (менингококки, гонококки, вейлонеллы, энтерококки и др.). Патогенные грамположительные и грамотрицательные гноеродные кокки отличаются друг от друга по морфологическим, культуральным, тинкториальным, биохимическим, антигенным свойствам.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СТАФИЛОКОККОВ.

Семейство Micrococcaceae, род *Staphylococcus*.

Морфологические свойства. Стафилококки (от греч. *staphyle* - виноградная гроздь или виноград) имеют вид круглых шаров диаметром 0,7-1,6 мкм. При размножении, образуют скопления в виде грозди винограда. Эта форма зависит от деления микробов в различных плоскостях. Но в гное встречаются единичные и парные кокки. Стафилококки не имеют спор, неподвижны, на питательных средах образуют иногда микрокапсулу, грамположительны.

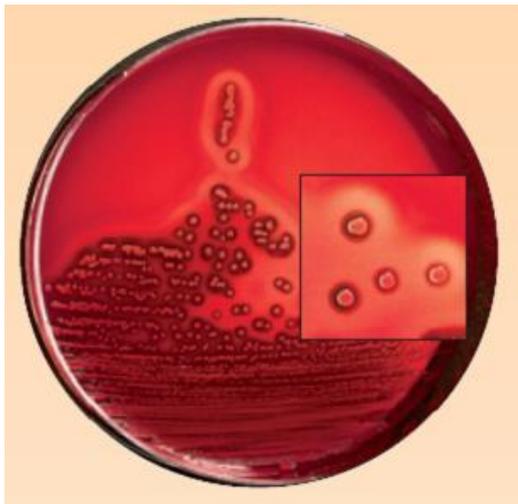


Мазок чистой культуры *S. aureus*. Окраска по Граму

Культуральные свойства. Стафилококки – являются факультативными анаэробами, растут в присутствии кислорода. Размножаются и растут на обычных питательных средах, но хорошо растут на средах с кровью, при температуре 35°-40° С, рН 7,5-7,7. Элективными средами являются желточно-солевой агар (ЖСА) и солевой агар. На МПА образуют S – колонии, выпуклые, круглые, непрозрачные, блестящие, размером 2-4 мм с ровными краями, образуют золотистый, лимонножелтый или белый пигмент. При росте стафилококки. Этот пигмент не растворяется в воде, растворяется в ацетоне, эфире, спирте и т.д. При росте некоторых штаммов стафилококка на кровяном агаре вокруг колонии образуется зона гемолиза. Рост на МПБ характеризуется равномерным помутнением и осадком на дне.

Биохимические свойства. Стафилококки вырабатывают сахаролитические и протеолитические ферменты. Сахаролитические ферменты расщепляют несколько сахаров: мальтозу, лактозу, глюкозу, сахарозу, глицерин с образованием кислоты. Протеолитические свойства растворяют казеин, разжижают желатин (медленно), расщепляют другие белковые субстраты. Стафилококки образуют ферменты патогенности: 1) лецитиназу (растворяет лецитин оболочки клеток); 2) гиалуронидазу (фактор распространения); 3) коагулазу (сворачивает плазму крови); 4) фибринолизин (лизует фибрин); 5) фосфатазу и др 6) ДНКазу (деполимеризует ДНК); Плазмокоагулаза позволяет дифференцировать золотистый стафилококк от стафилококков других видов. Некоторые стафилококки также вырабатывают пенициллиназу, разрушающую пенициллин.

Рост *S. aureus* на кровяном агаре



Колонии *S. aureus*
на желточно-солевом агаре



Токсические свойства. Стафилококки вырабатывают экзотоксины. К ним относятся гемолизины четырех типов, основное значение имеет α -токсин. Он обладает свойствами: гемолитическим - вызывает гемолиз эритроцитов, дермонекротическим - вызывает некроз, летальным - приводит к гибели чувствительных к нему животных. Стафилококки образуют лейкоцидин, убивающий лейкоциты, энтеротоксины вызывающие пищевые отравления, эксфолиатины двух типов, приводящие к отслаиванию эпидермиса у новорожденных детей. (симптом ошпаренной кожи)

Антигенные свойства. Стафилококки имеют сложные антигенные свойства.

Как и у всех грамположительных кокков антигенами являются пептидогликан и тейховая кислота клеточной стенки, капсула, типоспецифические АГ. У стафилококков различают около 40 фаговаров.

Классификация. В настоящее время стафилококки, выделенные от человека, делят на 3 вида: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*.

Staphylococcus epidermidis встречается на коже и слизистых оболочках человека, вызывает сепсис, эндокардит, конъюнктивиты, гнойную инфекцию ран и гнойные инфекции мочевыводящих путей, стоматологические инфекции.

Staphylococcus saprophyticus вызывают острый цистит и уретриты.

Staphylococcus aureus вызывает различные гнойно-воспалительные процессы разных органах; сепсис и поражение кожного покрова, эндокардиты, миокардиты, поражения уретры и циститы, гнойно-воспалительные процессы ЖКТ.

Резистентность. Стафилококки устойчивы, поэтому они обнаруживаются в воде, воздухе, почве, на предметах обихода. При температуре 100°C они погибают быстро, при температуре 70°C - через 5-10 мин. Они хорошо переносят низкие температуры. При низких температурах сохраняют жизнеспособность в течение

нескольких лет. Хорошо переносят высушивание. Прямой УФО убивает их только через несколько часов. Обычные растворы дезинфицирующих веществ убивают их через 15- 20 мин. При обезвреживании биологических выделений, содержащих гной, белок, мокроту, не следует применять фенол, т.к. это дезинфицирующее вещество вызывает коагуляцию белков, что предотвращает микроорганизмы от гибели. Стафилококки очень чувствительны к бриллиантовому зеленому.

Источники инфекции. Больные люди и бактерионосители.

Пути передачи. Воздушно-капельный, воздушно-пылевой, контактно-бытовой, пищевой, алиментарный. Стафилококки вызывают: Пиодермию, фолликулиты, фурункулы, карбункулы, панариции, абсцессы, воспалительные процессы различных органов и тканей; ангины, циститы, остеомиелиты, холециститы, миозиты, маститы; сепсис и септикопиемия; пищевые токсикоинфекции и многие другие.

Патогенез. Стафилококки проникают через кожу и слизистые оболочки и попадает в организм при стафилококковых заболеваниях имеет роль золотистый стафилококк (*S. aureus*), но *S. epidermidis* и *S. Saprophyticus* также вызывает различные инфекции. Патогенез основан на выработке патогенных ферментов: коагулазу, фибринолизин, гиалуронидазу, протеазу, нуклеазу и липазу, а также экзотоксинов, веществами бактериальной клетки и состоянием иммунной системы.

Энтеротоксин вызывает пищевые токсикоинфекции.

Токсин синдрома токсического шока вызывает токсический шок, в основном у женщин во время менструации.

Эксфолиатин вызывает синдром «ошпаренной кожи» у маленьких детей. Чаще поражается кожа и подкожная клетчатка - возникают пиодермиты, абсцессы, флегмона, карбункулы, фурункулы, панариции. Иногда стафилококки являются возбудителями вторичных заболеваний, например пневмонию при гриппе. В акушерской практике стафилококки вызывают раневые инфекции, так как новорожденные очень чувствительны к ним. Небольшое место среди стафилококковых заболеваний занимают пищевые интоксикации. Клинически проявляются в виде токсикозов и диспепсических расстройств, сопровождаются рвотой, поносом, головной болью и другими симптомами.

Иммунитет. Клеточно-гуморальный иммунитет, формируется нестойкий и ненапряженный, как и при всех оппортунистических инфекций.

Профилактика. Сводится к улучшению санитарно-гигиенических условий

Специфическая профилактика. Антистафилококковый иммуноглобулин. стафилококковый анатоксин.

Лечение. Антибактериальные препараты, поливалентный стафилококковый бактериофаг, антистафилококковая плазма и иммуноглобулин, аутовакцина.

Микробиологическая диагностика. Материалом для исследований является отделяемое слизистой оболочки, гной, кровь, спинномозговая жидкость, моча, мокрота при пищевых отравлениях - рвотные массы, промывные воды желудка. Отбор патологического материала обычно выполняют стерильными пяташки, которые вносят в пробирку с транспортной питательной средой для контроля стерильности (СКС). С закрытых гнойных очагов (абцесс, флегмоны и т.д.) материал берут с помощью шприца. Мокроту, мочу, рвотные массы и промывные воды желудка помещают в стерильные пробирки, банки. Посев крови делают у постели больного в питательную среду на основе СКС в соотношении 1:10. Используют микроскопический и бактериологический и серологический методы.

Микроскопический метод. Патологический материал исследуется (исключая крови) готовят мазки, окрашивают по Граму. Гр + стафилококки, диаметром 0,5-1,5 мкм, располагаются в мазках чаще всего в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда. Они могут проявляться в одиночку, парами, короткими цепочками. Микроскопическое исследование не позволяет идентифицировать стафилококки, так как морфология возбудителей одинаковая, но дает возможность сориентироваться в выборе питательных сред для выделения чистой культуры бактерий.

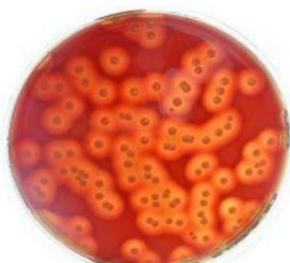


Бактериологический метод. Основана на выделении чистой культуры микробов из исследуемого материала и их идентификацию. Исследуемый материал высевают на кровяной агар (КА), желточно-солевой агар (ЖСА) и инкубируют в термостате 18-24 часов при температуре 37 °С. Через сутки изучают колонии, выросшие на питательной среде. Стафилококки образуют S - колонии, гладкие с ровными краями, выпуклые, непрозрачные средней величины (1-3 мм), гомогенной структуры. Колонии *S. aureus* на кровяном агаре окружены зоной гемолиза и имеют золотистый пигмент. На желточно-солевом агаре (ЖСА) колонии стафилококков окружены радужным венцом зоны помутнения среды, после мутнеет, поскольку эти микроорганизмы способны продуцировать лецитиназу. С изолированных колоний готовят мазок, окрашивают по Граму и микроскопируют. Часть колонии,

пересевают на скошенный МПА и ставят его в термостат для увеличения количества выделенных микробов. Через 18-24 часов с колоний, образовавшегося на скошенном агаре, готовят мазок, окрашивают по Граму, и микроскопируют. Если культура выделенных микробов чистая, приступают к изучению видовой идентификации стафилококков по их морфологическим, тинкториальным, культуральным, ферментативным, биологическим свойствам. Для индентификации и дифференциации *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* ставят реакцию плазмокоагуляции, определяют ДНК-азную активность, фосфатазную активность, способность расщеплять маннит в анаэробных условиях, вызвать некроз кожи кролик.

Реакция плазмокоагуляции. В пробирку наливают 0,5 мл кроличьей плазмы разведенной 1:5 и петлей вносят в нее суточную агаровой культуры стафилококка. Пробирку помещают в термостат и читают результат. Если появляется желеобразный сгусток свидетельствует о ферменте плазмокоагулазы. Это характерно для *S. aureus*.

Стафилококки



Стафилококки, рост на кровяном агаре. Вокруг колоний видны зоны полного гемолиза



Рост негемолитических стафилококков на кровяном агаре.



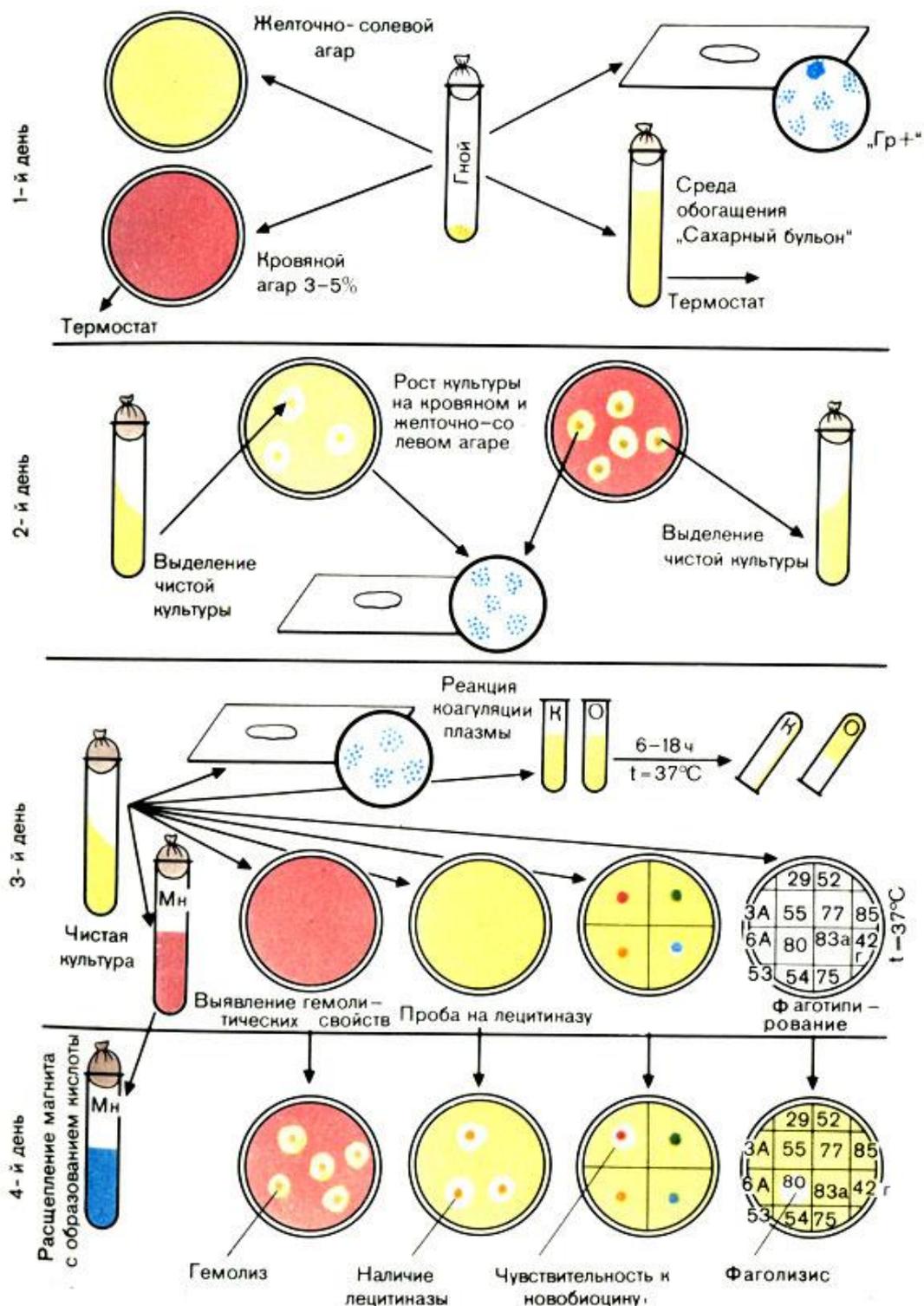
Определение фосфатазы. На чашку с фенолфталеиновой агаром высевают выделенную культуру стафилококка. Колонии, выросшие через 18-24 часа, обрабатывают парами аммиака. Появление розовой окраски колоний свидетельствует о положительной реакции. Токсигенность выделенных культур

стафилококков определяют в опыте *in vitro* с помощью реакции диффузной преципитации в геле. Для установления источника инфекции определяют фаговар патогенных стафилококков.

Фаготипирование. Испытуемую суточную бульонную культуру засевают на поверхность питательного агара в чашках Петри, слегка подсушивают в термостате, затем делят на квадранты, на которые пастеровской пипеткой наносят по одной капле различных типоспецифических фагов. После суточной инкубации просматривают чашку, отмечая те квадранты, в которых имеется лизис бактерий. Фаготип бактериальной культуры определяется тем типом фага, который вызвал лизис.



Дно засеянной чашки расчерчивают маркером на 23 квадрата (по числу типовых бактериофагов)



Вопросы по теме для контроля.

1. Какой возбудитель вырабатывает гемолизины, эксфолиатины, токсин синдрома токсического шока, энтеротоксины, лейкоцидин?
2. Устойчивость и антигенная структура стафилококков.
3. Характеристика токсинов и ферментов патогенности стафилококков.
4. Роль стафилококков во внутрибольничных инфекциях.

5. Методы микробиологической диагностики стафилококковых процессов и их оценка.
6. Классификация стафилококков.
7. Биологические свойства стафилококков.
8. Какая роль стафилококков в патологии человека?
9. Какие заболевания вызывают стафилококки?
10. Культуральные свойства стафилококков.

Ситуационные задачи по теме.

Задача 1. У больного из гнойного отделяемого послеоперационной раны выделена культура стафилококка.

1. Можно ли считать данный микроб возбудителем нагноения, осложнившего заживление раны?
2. Как это проверить и доказать?
3. Какие препараты следует выбрать для лечения?

Задача 2. В лабораторию из хирургического отделения поступила кровь больного с подозрением на послеоперационный сепсис стрептококковой этиологии.

1. Какой метод будет Вами использован для подтверждения клинического диагноза?
2. Какую питательную среду Вы используете на 1-м этапе выделения чистой культуры возбудителя. Обоснуйте Ваше решение.

Задача 3. В одной из групп детского сада зарегистрирована скарлатина.

1. Как проверить наличие противоскарлатинозного иммунитета у контактных детей?
2. Как можно установить источник инфекции?
3. Какие препараты Вы бы назначили для экстренной профилактики контактных детей?

Задания для самостоятельной работы.

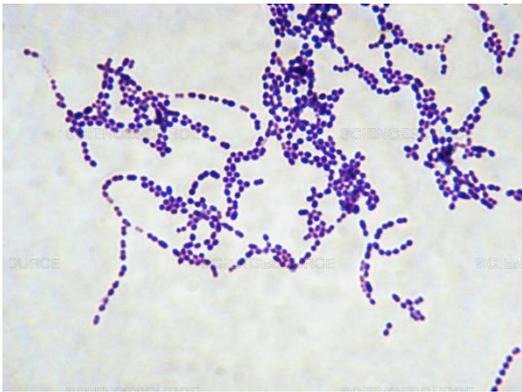
1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства стафилококков.
2. Изучить и освоить методы идентификации стафилококков.
3. Изучить факторы патогенности стафилококков.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики стафилококков.
5. Изучение специфической и неспецифической профилактики стафилококковой инфекции.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СРЕПТОКОККОВ.

Семейство Streptococcaceae, род Streptococcus.

К роду Streptococcus относятся: Streptococcus pyogenes (гноеродный) и Streptococcus pneumoniae (пневмококк). Streptococcus pyogenes (гноеродный).

Морфологические свойства. Стрептококки - это кокки, имеющие шаровидную форму. Диаметр каждого кокка в среднем 0,6-1 мкм, но для них характерен полиморфизм: шаровидные и овальные, встречаются мелкие и крупные кокки. Грамположительны. Стрептококки располагаются цепочкой, что является результатом деления их в одной плоскости. Стрептококки жгутиков и спор не имеют. На плотной питательной среде цепочки формируют короткие, на жидких - длинные. Некоторые культуры иногда образуют капсулу. Иногда образуют микрокапсулу.

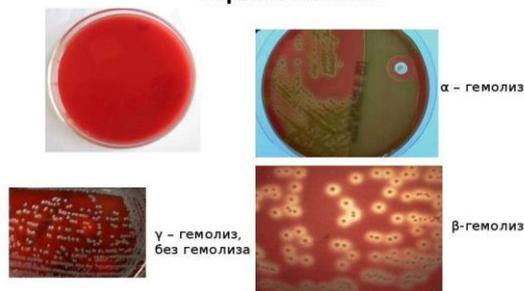


Культуральные свойства. Стрептококки - факультативные анаэробы. Растут при температуре 37°C и pH среды 7,6-7,8. Выращиваются на средах содержащие кровь, сыворотку крови. На плотных питательных средах колонии стрептококков мелкие, плоские, мутные, сероватого цвета. На кровяном агаре образуют стрептококки гемолиз. β -гемолитические стрептококки образуют четкую зону гемолиза, α -гемолитические стрептококки образуют зеленоватую зону (за счет перехода гемоглобина в метгемоглобин). Есть не гемолизирующие стрептококки, которые не дают гемолиза. На сахарном бульоне стрептококки растут в виде пристеночного и придонного мелкозернистого осадка, но бульон остаётся прозрачный.

Рост гемолитических стрептококков на кровяном агаре



Кровяной агар для определения гемолитической активности стрептококков



Ферментативные свойства. Стрептококки обладают сахаролитическими свойствами. Они расщепляют сахарозу, глюкозу, маннит, лактозу, и мальтозу с образованием кислоты. Протеолитические свойства у них слабо выражены. Они желатин не разжижают но свертывают молоко.

Факторы патогенности. Адгезины. Защиту от фагоцитоза обеспечивают:

- 1) *Fc-рецептор* (к IgG) – подавляет фагоцитоз, разрушает комплемент, вызывает дисбаланс иммуноглобулинов;
- 2) антихемотаксический фактор;
- 3) *M-белок*;
- 4) *капсула* – защищает от фагоцитов

Ферменты агрессии: гиалуронидаза, ДНКаза, стрептокиназа (или фибринолизин), эритрогенные токсины.

Токсины стрептококков:

O-стрептолизин (термолабильный белок) вызывает лизис эритроцитов.

S-стрептолизин (нуклеопротеид), вызывает гемолиз на кровеносных сосудах.

Цитотоксины – повреждают клетки.

Лейкоцидин лизирует лейкоциты, разрушает фагоцитоз.

Эритрогенный токсин (*скарлатинозный*).

Экология и распространение. Находятся в полости рта, на слизистых оболочках верхних дыхательных путей, в кишечнике на коже. Источник – больной и бактерионоситель. В основном – эндогенные инфекции, встречаются у лиц с иммунодефицитными состояниями.

На предметах обихода, в пыли могут сохраняться в течение 5-6 дней, хорошо выдерживают высушивание, сохраняют свою жизнеспособность, но теряют вирулентные свойства. Чувствительны к нагреванию и дезинфицирующим средствам.

Антигенные свойства. Стрептококки делятся на серологические типы, которые обозначаются арабскими цифрами. Группа А включает 70 типов, вызывающих различные заболевания у человека. Группа В в основном условно-патогенные для человека. Группа С включает патогенные для человека и животных. Группа D состоит из непатогенных (сапрофитных) для человека.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Стрептококки устойчивы в окружающей среде. При температуре 57-60° С погибают через 30 мин. В высушенной мокроте и гное они сохраняются несколько месяцев. Дезинфицирующие и антисептические вещества губят их через 15-25 мин.

Источники инфекции. Антропонозная инфекция, реже животные или инфицированные продукты.

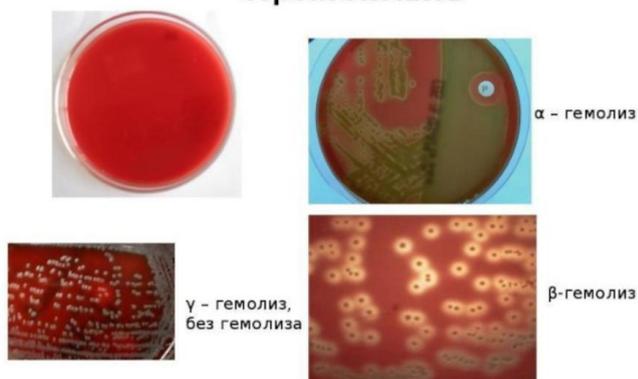
Пути передачи. Воздушно-пылевой и воздушно-капельный и, иногда пищевой (алиментарный), возможен контактно-бытовой.

Микроскопический метод. Из исследуемого материала готовят мазок и красят его по методу Грама. При микроскопическом исследовании в мазке обнаруживаются гр+ кокки, которые располагаются цепочками, иногда попарно. При изучении морфологических и тинкториальных свойств невозможно определить род возбудителя.

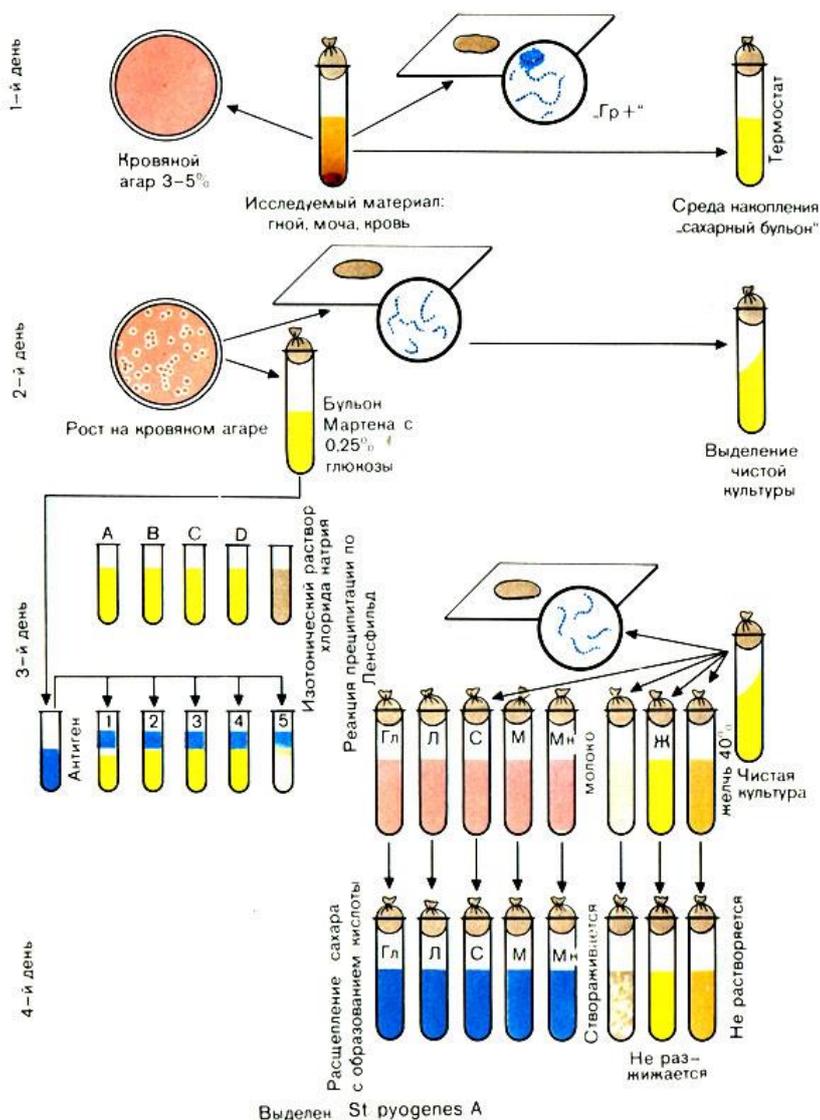
Бактериологический метод является основным методом в диагностике. Исследуемый материал высевают в среду обогащения, используют среду для контроля стерильности (СКС). После инкубации в термостате материал, исследуется и пересевают на 5% кровяной агар и сахарный бульон с целью выделения чистой культуры возбудителя для изучения культуральных и патогенных свойств и характера его гемолиза. На сахарном бульоне *S. pyogenes* дает придонно-пристеночный рост и образует мелкозернистый осадок и прозрачность среды. На кровяном агаре стрептококки образуют прозрачные, мелкие или полупрозрачные колонии серовато-белого цвета. По типу гемолиза на кровяном агаре стрептококки делятся на три группы. Группа β -гемолитических стрептококков, способны вызвать полный лизис эритроцитов вокруг колоний, колонии слизистые, прозрачные, круглой формы, напоминают капли росы. Группа α -гемолитических стрептококков, вызывают на кровяном агаре неполный гемолиз в виде полупрозрачной зоны с зеленоватым оттенком. α -гемолитических стрептококки растут в виде мелких колоний серого цвета с гладкой или шероховатой поверхностью. Так растут стрептококки, вегетирующих на слизистой оболочке полости рта (*S. salivarius*, *S. mutans*, *S. oralis* и др.) Третья группа представлена негемолитической γ -стрептококками. Они не вызывают изменений кровяного агара в процессе своего роста, у них слабовыраженная вирулентность.



Кровяной агар для определения гемолитической активности стрептококков



С колоний готовят мазки, окрашивают по Граму и микропируют. Колонии, выросшие на кровяном агаре, пересевают на скошенный кровяной агар. Посевы инкубируют в термостате при температуре 37°C в течение 18-24 часов. С целью проверки чистоты выделенной культуры, с микробного налета, вырос на скошенном агаре готовят мазок, окрашивают по Граму, микропируют. В случае, когда культура микробов чистая, продолжают изучать их ферментативные, биохимические и антигенные свойства. Для установления видовой принадлежности стрептококков используют тесты: проба на каталазу, тип гемолиза на кровяном агаре, чувствительность к бацитрацину, гидролиз эскулина с желчью (образует черный пигмент) рост в бульоне с 6,5% NaCl, наличие пиридоинариламидазы (рост энтерококков)



Дифференциация стрептококков по антигенной структуре. Основывается на выявлении полисахаридного антигена клеточной стенки стрептококка. Например применяют реакцию преципитации с группоспецифическими сыворотками групп А, В, С, G. Эти сыворотки наливают в 4 узкие преципитационные пробирки. Экстракт,

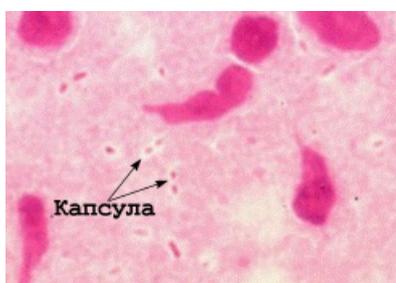
полученный после обработки центрифугата чистой культуры стрептококка раствором хлористоводородной кислоты, осторожно, не смещая жидкости, наслаивают на группоспецифические сыворотки. При положительной реакции на границе двух жидкостей появляется белое кольцо. Конечно реакция преципитации возникает через 5-30 мин.

Серологический метод диагностики используется в случае установления диагноза ревматизма. Для этого определяют титр антител к экстрацеллюлярного продуктов стрептококка - стрептолизина-О в сыворотке крови больного. С интервалом 7-10 дней. исследуют парные сыворотки больного. В каждую пробирку готовят 5% взвесь эритроцитов дефибринированной крови кролика. Реакция основывается в случае присутствия в сыворотке больного антител против стрептококка (Антистрептолизин-О) способность стрептолизина-О растворять эритроциты *in vitro* Максимально разведенная сыворотка в пробирке обеспечивает задержку гемолиза эритроцитов и указывает на соответствующее количество антистрептолизина-О. Титр антистрептолизина-О у практически здоровых лиц не должен превышать 250 МЕ. При наличии ревматизма или нефрита с первых дней болезни отмечается очень высокий титр антител.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПНЕВМОКОККОВ.

ПНЕВМОКОККИ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*

Морфология. Пневмококки - это диплококки, имеют ланцетовидную форму, стороны клеток обращенные друг к другу, уплощены, а противоположные стороны вытянуты, они напоминающую пламя горящей свечи. Пневмококки грамположительны. Размер пневмококков 0,6-0,75 мкм, располагаются они по парам. Пневмококки не имеют спор, неподвижны в организме образуют капсулу. В капсуле содержится антифагин который защищает пневмококк от фагоцитоза и действия антител. На искусственных питательных средах пневмококки теряют капсулу. Иногда встречаются грамотрицательные бактерии.



Культуральные свойства. Пневмококки - факультативные анаэробы. Растут при температуре 37°. Они очень требовательны к средам, так как не могут синтезировать многие аминокислоты, поэтому растут только на средах с добавлением крови или сыворотки. На агаре с кровью вырастают влажные колонии зеленовато-серого цвета, окруженные зеленой зоной, что является

результатом перехода гемоглобина в метгемоглобин. На агаре с сывороткой образуют нежные, мелкие, прозрачные колонии. Пневмококки хорошо растут в бульоне с добавлением 0,2% глюкозы и в бульоне с сывороткой. Рост в жидких средах характеризуется диффузным помутнением и пылевидным осадком на дне.



Ферментативные свойства. Пневмококки обладают довольно выраженной сахаролитической активностью. Они расщепляют: глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, инулин с образованием кислоты. Пневмококки растворяются в желчи. Протеолитические свойства у них выражены слабо: желатин не разжижают, молоко они свертывают, индол не образуют. Не ферментируют маннит. Диагностическим признаком, является расщепление инулина и растворение в желчи отличающим *Streptococcus pneumoniae* от *Streptococcus pyogenes*.

Факторы патогенности. Пневмококки продуцируют фибринолизин, гиалуронидазу и др.

Токсинообразование. Пневмококки образуют лейкоцидин, эндотоксин, гемолизин. Вирулентность пневмококков связана с наличием в капсуле антифагина. В цитоплазме пневмококков имеется протеиновый антиген, а в капсуле - полисахаридный антиген. По полисахаридному антигену разделяют на 84 серовара. Среди патогенных для человека наиболее часто встречаются I, II, III серовары.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Пневмококки нестойких микроорганизмов. Температура 50-60° С губит их через 3-6 мин. К низким температурам к высушиванию они устойчивы. В высушенной мокроте сохраняют до 2 мес. На питательной среде они сохраняются не более 5-6 дней, поэтому культивировании нужно делать пересевы через каждые 2-3 дня. Обычные растворы дезинфицирующих веществ: 2-3% фенол, сулема в разведении 1:1000 погибают через несколько минут. Особенно чувствительны пневмококки к оптохину, который убивает их в разведении 1:100000.

Источники инфекции. Бактерионоситель и больной человек.

Пути передачи. Воздушно-капельный путь

Входные ворота. Является слизистая оболочка верхних дыхательных путей, уха и глаза. Пневмококки вызывают гнойно-воспалительные заболевания разной локализации. 1) крупозная пневмония; 2) ползучая язва роговицы; 3) отит.

Иммунитет. После заболевания остается нестойкий иммунитет, т.к пневмония характеризуется рецидивами.

Профилактика. Специфическая профилактика не разработана.

Лечение. Используют антибиотики широкого спектра.

Микробиологическое исследование. Материал для исследования в зависимости от локализации: мокрота (пневмония), выделения из язвы (ползучая язва роговицы), слизь из зева (ангина), плевральный пунктат (плеврит) выделения из уха (отит), гной (абсцесс), кровь (подозрение на сепсис).

Основные методы исследования: 1. Микроскопический. 2. Бактериологический 3. Биологический. Биологическая проба. Немного (3-5 мл мокроты) эмульгируют в стерильном бульоне, 0,5 мл этой смеси вводят внутривентриально белой мыши.

Ускоренный метод определения типа пневмококка (реакция микроагглютинации). на предметное стекло 4 капли экссудата взятой из брюшной полости зараженной мыши наносят в первую каплю добавляют и агглютинируют сыворотку I типа, во вторую - сыворотку II типа, к третью - III типа, к четвертую - изотонический раствор натрия хлорида (это контроль). Все капли размещивают, высушивают, фиксируют и окрашивают разведенным фуксином. При (+) результате в одной из капель отмечается скопление микробов (это агглютинация). После термостата, из колоний делают мазки. При наличии в мазках грамположительных ланцетовидных диплококки из колонии делают посев на скошенный агар с сывороткой для получения чистой культуры. Помещают в термостат, из бульона делают микроскопическое и микроскопическое исследование. При наличии грамположительных ланцетовидных диплококки проводят идентификацию выделенной культуры по ферментативным, биохимическим, антигенным, биологическим свойствам.

1) дифференциация на среде Гисса (лактоза, глюкоза, сахароза, мальтоза) проводят посев обычным способом - уколом в среду;

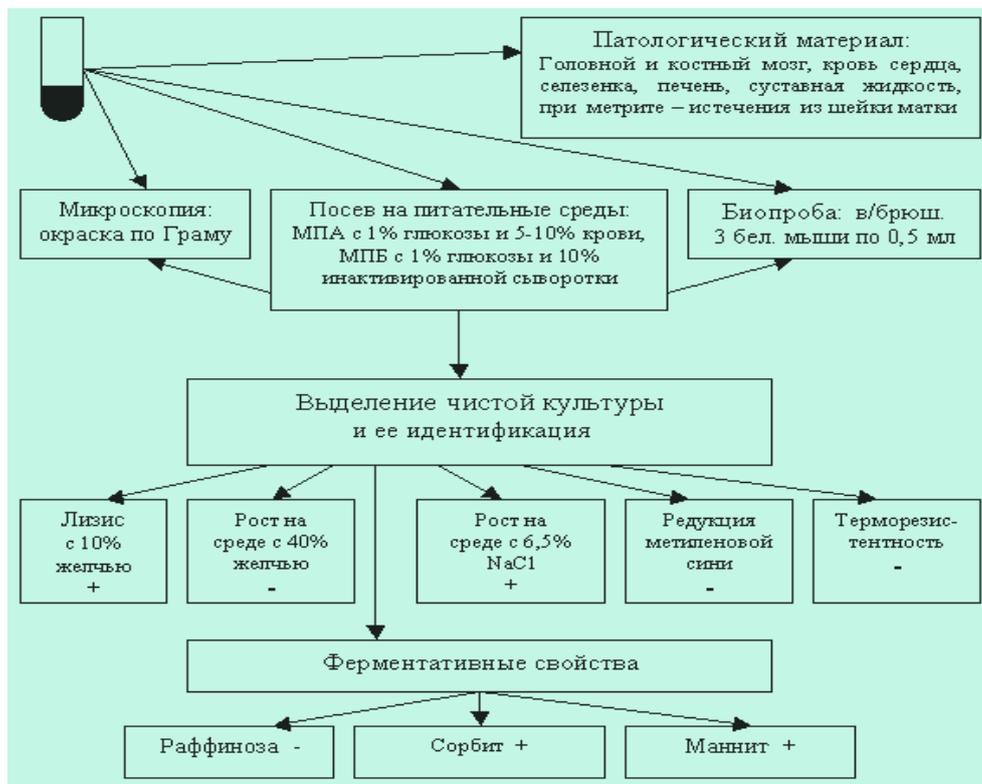
2) **на среду с инулин;** Исследуемый материал засевают на питательную среду, с инулин и лакмусовая настойку, и ставят в термостат. Через 18-24 ч посеvy вынимают из термостата. Если среда окрашивается в красный цвет свидетельствует о наличии пневмококков (стрептококки консистенцию и цвет среды не меняют).

3) **на среду с оптохином;** Исследуемый материал засевают на 10% агар с кровью с оптохином 1: 50000 Пневмококки не растут на средах с оптохином (подавляет рост пневмококков).

4) ставят пробу с желчью.

Иммунитет. После пневмококковой инфекции остается прочный антитоксический иммунитет.

Внутрикожная проба. Для выявления антитоксического иммунитета.



Вопросы по теме для контроля.

1. Биологические свойства стрептококков.
2. Характеристика токсинов и ферментов патогенности стрептококков.
3. Какая роль стрептококков в патологии человека?
4. Какие заболевания вызывают стрептококки?
5. Патогенез стрептококковых заболеваний.
6. Методы микробиологической диагностики стрептококковых процессов.
7. Иммунитет и его особенности при болезнях вызванных стрептококками
8. Препараты для специфической профилактики и терапии при болезнях вызванных стрептококками.
9. Морфологические и культуральные свойства стрептококков.
10. Какие инфекции вызывает стрептококк.

Ситуационные задачи по теме.

Задача 1. У 30 летнего пациента с гнойным фасцитом левой голени, из отделяемого выделены грамположительные кокки, располагающиеся попарно или короткими цепочками. Рост выделенных бактерий наблюдался только на кровяном агаре, вокруг колоний S-формы обнаружена зона полного гемолиза.

О каком микроорганизме- возбудителе можно думать?

А) *Streptococcus pneumoniae*

- Б) *Enterococcus faecalis*
- В) *Streptococcus pyogenes*
- Г) *Streptococcus agalactiae*

Проведите дальнейшую идентификацию возбудителя. Назовите тесты дифференциальной диагностики?

Задача 2 Мальчик, 5 лет, заболел на пятый день после посещения детского утренника. Заболевание протекало с выраженной интоксикацией и повышением температуры до 39,5°C., болью в горле и сыпью на коже и ладонях. Врач скорой помощи выставил диагноз скарлатина.

Какой возбудитель вызывает скарлатину? Как можно заразиться скарлатиной?

Что считают главным фактором вирулентности возбудителя скарлатины?

- А) способность к выживанию внутри клетки
- Б) выработку экзотоксина
- В) антифагоцитарные свойства капсулы
- Г) эндотоксические свойства пептидогликана

Задача 3. У мужчины 69 лет, находящегося на постельном режиме по поводу перелома бедренной кости, повысилась температура до 39,5°C, появился кашель с выделением ржавой мокроты с прожилками крови, озноб и боль в грудной клетке. Произведён забор мокроты для бактериологического исследования.

Какой микроорганизм является наиболее вероятным возбудителем

- А) *Legionella pneumophila*
- Б) *Mycoplasma pneumoniae*
- В) *Streptococcus pneumoniae*
- Г) *Klebsiella pneumoniae*

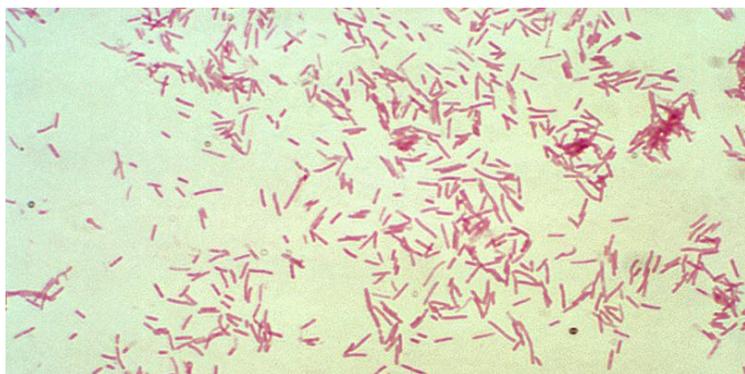
Задания для самостоятельной работы.

1. Изучение морфологических, тинкториальных, культуральных, антигенных, биохимических свойств стрептококков.
2. Освоить методы идентификации стрептококков.
3. Изучить факторы патогенности стрептококков.
4. Освоение методов микробиологической диагностики стрептококков.
5. Изучение специфической и неспецифической профилактики стрептококковой инфекции.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ.

Pseudomonas aeruginosa

Морфологические свойства: относится к семейству Pseudomonadaceae. Грамотрицательные прямые палочки, расположенные одиночно, попарно или в виде коротких цепочек. Подвижны. (лофотрихи) Имеют микроворсинки, пили, спор не образуют.



Культуральные свойства: хорошо растут на простых питательных средах. облигатные аэробы. На жидкой питательной среде бактерии образуют серовато-серебристую пленку. Образуют на плотных средах S- колонии округлые, гладкие, суховатые. *P. aeruginosa* является синтезировать водорастворимые пигменты зеленающего цвета при их культивировании. Чувствительна к высушиванию и устойчивые к антибиотикам.



Биохимические свойства: не ферментирует глюкозу и другие углеводы. Синегнойная палочка имеет каталазу и цитохромоксидазу. Восстанавливает нитраты в нитриты, обладает протеолитической активностью: разжижает желатину. Синегнойная палочка продуцирует бактериоцины —обладающие бактерицидными свойствами.

Антигенные свойства: Н – и О -антигены.

Факторы патогенности: факторы адгезии и колонизации: пили (фимбрии) – защищает бактерии от фагоцитоза. Токсины: экзотоксин А – цитотоксин, эндотоксин, экзоэнзим S; лейкоцидин. Ферменты агрессии: гемолизины; нейроминидаза; эластаза.

Эпидемиология: источник- больной человек. Механизмы заражения: контактный, воздушно-капельный, фекально – оральный, кровяной,

Патогенез: проникают через поврежденные ткани → Засевают рану ожоговую поверхность → Размножаются → Локальные процессы (инфекция мочевыводящих путей, кожи, респираторного тракта) → Бактериемия

→ Сепсис.

Клиника: ожоговую болезнь, раневые инфекции, инфекции мочевыводящих путей, менингиты, заболевания глаз, кожи, сепсис.

Иммунитет. Антибактериальные, антитоксические антитела.

Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал для исследования является: кровь, гной и раневое отделяемое из раны, мокрота, моча, Бактериоскопия не проводится, отсутствуют морфологические и тинкториальные особенности. Основной метод диагностики является - бактериологический метод, определения чувствительности к антибиотикам. Учитывают рост на агаре для идентификации, цитохромоксидазный тест. Серотипирование применяются для внутривидовой идентификации бактерий. Серологический метод: РСК, РПГА.

Лечение: антибиотики широкого спектра действия (цефалоспорины, β-лактамы, аминогликозиды). Для специфического лечения: антисинегнойный гетерологичный иммуноглобулин, синегнойный бактериофаг.

АСПИРАЦИОННЫЙ МЕТОД



Аппарат Кротова для взятия проб воздуха



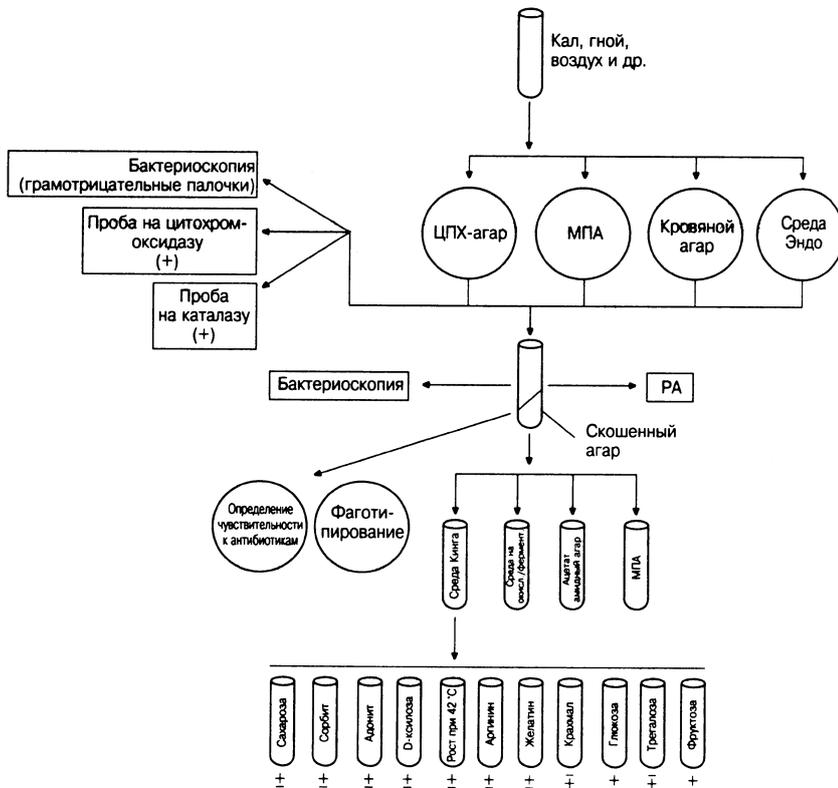
Устройство автоматического отбора проб воздуха ПУ-1Б



На площадку прибора устанавливают открытую чашку Петри с питательной средой, закрывают крышкой аппарата и включают мотор. Вращением центробежного вентилятора воздух засасывается через клиновидную щель и с силой ударяется о поверхность питательной среды, на которой оседают микроорганизмы, равномерно распределяясь по ней. Скорость вращения чашки Петри регулируется, что позволяет пропускать разный объем воздуха в минуту, который фиксируется микронометром. По истечении заданного времени экспозиции выключают мотор, чашку Петри с посевом воздуха снимают, закрывают и ставят в термостат.



Профилактика: специфическая – Пассивная специфическая иммунизация гипериммунной плазмой. А для активного иммунитета–вакцины (поливалентная корпускулярная синегнойная вакцина, стафило–протейно-синегнойная вакцина.



Вопросы по теме для контроля.

1. Классификация синегнойной палочки.
2. Биологические свойства синегнойной палочки.
3. Характеристика токсинов и ферментов патогенности синегнойной палочки.
4. Роль синегнойной палочки в патологии человека.
5. Патогенез заболеваний вызванных синегнойной палочкой.
6. Методы микробиологической диагностики синегнойной палочки.
7. Иммуитет и его особенности при болезнях вызванных синегнойной палочкой.
8. Препараты для профилактики и терапии при болезнях вызванных синегнойной палочкой.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. При бактериологическом исследовании отделяемого из нагноившейся послеоперационной раны обнаружены грамотрицательные палочки. При посеве гноя на плотную питательную среду выросли плоские колонии голубоватого цвета. Питательная среда окрасилась в зеленоватый цвет.

1. Наличие какого возбудителя можно предположить? Обоснуйте Ваше мнение.

Задача-2. В лабораторию из хирургического отделения поступила кровь больного с подозрением на послеоперационный сепсис этиологии синегнойной палочки.

3. Какой метод будет Вами использован для подтверждения клинического диагноза?
4. По каким дифференциальным признакам был поставлен диагноз. Обоснуйте Ваше решение.

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства синегнойной палочки.
2. Изучить и освоить методы идентификации синегнойной палочки.
3. Изучение факторов патогенности синегнойной палочки.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики синегнойной палочки.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику синегнойной палочки.

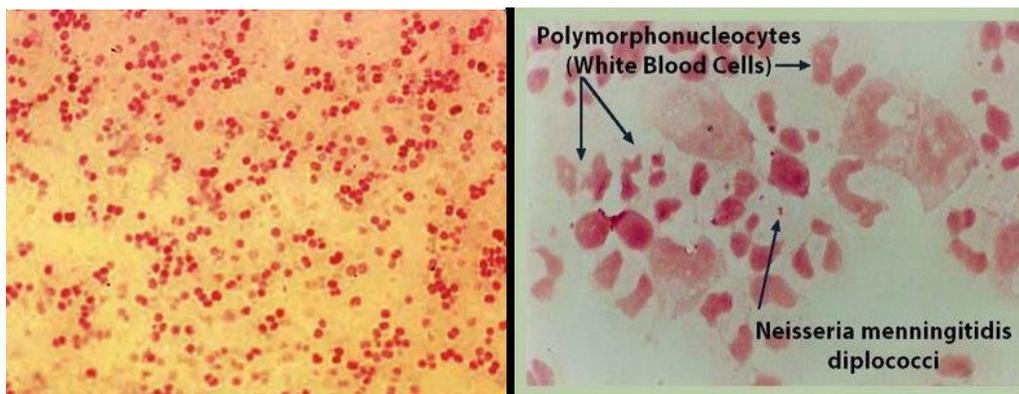
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВОЗДУШНО-КАПЕЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ: МЕНИНГОКОККОВ, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДИФТЕРИИ, КОКЛЮША, ТУБЕРКУЛЕЗА. ЛЕПРЫ.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МЕНИНГОКОККОВ

К роду *Neisseria* относится два вида микробов, патогенных для человека: *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae*.

Возбудитель - *Neisseria meningitidis* относится к семейству *Neisseriaceae*, роду *Neisseria*.

Морфология. Менингококки - парные кокки, состоят из двух бобовидных кокков, прилежащими друг к другу, стенки у них выпуклые. Размер каждого кокка $0,5-0,8 \times 1,3-1,5$ мкм. Полиморфны. Менингококки образуют капсулу, не имеют спор, неподвижны, Грамотрицательны. В чистых культурах располагаются попарно или тетрадами и в виде отдельных кокков в мазках, приготовленных из спинномозговой жидкости, располагаются попарно в виде кофейных зёрен. В гное располагается внутри лейкоцита.



Культуральные свойства. Менингококки это аэробы. Очень требовательны к питательным средам содержащих нативный белок (кровь, сыворотку,). Растут при температуре $35-37^{\circ}\text{C}$ (при 26°C рост прекращается), pH среды $7,5-7,7$. Для размножения менингококков необходима влажная среда и повышенное содержание углекислоты (это фактор стимулирует их рост). На плотных питательных средах образуют полупрозрачные, голубоватые, нежные, вязкие колонии. В бульоне с сывороткой образуют легкую муть и небольшой осадок.

Рост менингококков на шоколадном агаре.



Neisseria meningitidis



Чистая культура *Neisseria meningitidis*. Рост на сыровоточном агаре.

Ферментативные свойства. Биохимические свойства менингококков мало активны. Они расщепляют глюкозу иногда мальтозу с образованием кислоты. Протеолитические свойства у них не выражены.

Патогенные свойства менингококков имеют наличие капсулы, которая препятствует фагоцитозу, пили которые способствуют прикреплению микроба к поверхности эпителиальных клеток, и образованием ферментов агрессии: гиалуронидазы и нейраминидазы.

Токсинообразование. Эндотоксин, который является липополисахаридом (ЛПС) клеточной стенки. При остром заболевании обнаруживается в крови и в спинномозговой жидкости больных людей. Тяжесть и степень заболевания зависит от количества накопившегося токсина.

Антигенная структура. По полисахаридному К-АГ менингококки разделяют на серогруппы: А, В, С, D, X, Y U-135 29E (всего девять серогрупп). Менингококки группы А часто вызывают в основном генерализованные процессы и имеют эпидемиологическое значение. Менингококки групп В и С вызывают спорадические (встречающиеся в одной территории) заболевания.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Менингококки малоустойчивы. Температура 60° С губит их через 2-4 мин, 50° С - через 5 мин. В отличие от других грамотрицательных кокков они плохо переносят низкую температуру. Дезинфицирующие растворы губят их быстро.

Источники инфекции. Больные люди и бактерионоситель.

Пути передачи. Воздушно-капельный. Заболевания:

- 1) назофарингит;
- 2) цереброспинальный эпидемический менингит.
- 3) менингококкцемия;

Патогенез. Попад на слизистую оболочку носоглотки менингококки носительство острый назофарингит лимфатические сосуды кровь генерализация глубокие изменения в паренхиматозных органах (действия эндотоксина) развивается менингококкцемия. Менингококки проникают в мозговые оболочки гнойное воспаление менингит. Спинномозговая жидкость мутная при менингококковом менингите (в отличие от туберкулезного менингита). За счет повышенного внутричерепного давления, при спинномозговой пункции жидкость вытекает струей.

Примеры прозрачности ликвора:



Ликвор – мутный, серовато-белого цвета, напоминает «разведенное молоко». Такой ликвор наблюдается при менингококковой инфекции.



Ликвор в норме – бесцветный, прозрачный. Не отличим от воды.

Иммунитет. После перенесённого заболевания иммунитет напряженный, он связан с опсонинами, бактериоцидными, комплементсвязывающими антителами.

Профилактика. Раннее выявление носителей и изоляция заболевших назофарингитом. Госпитализация.

Специфическая профилактика. Химическая вакцина, состоит из полисахаридов серогрупп А и С. При экстренной профилактики иммуноглобулин.

Лечение. Антибактериальные препараты широкого спектра и цефалоспорины.

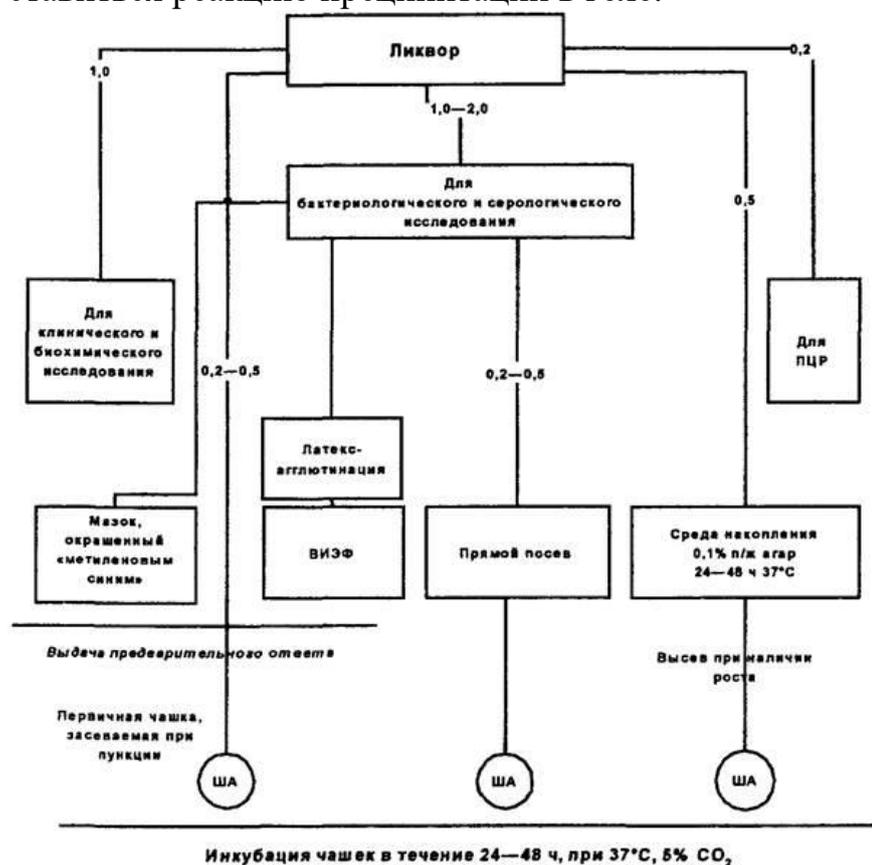
Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал: слизь из зева, спинномозговая жидкость (СМЖ), гной, кровь, экссудат. Менингококки очень чувствительны к температуре, поэтому материал сразу же, не допуская охлаждения, отправляют в лабораторию.

Микроскопический метод. Мазки из СМЖ окрашивают водным раствором фуксина или метиленовым синим. Препараты из мазка и слизи окрашивают по Граму. Менингококки грамотрицательные, имеют форму бобов, располагаются попарно (диплококки) в цитоплазме лейкоцитов. Часто оказывается нежная капсула.

Бактериологический метод. СМЖ сеют на агар Хоттингера или сывороточный бульон. Проводят посев при температуре 35 °С и повышенном содержании CO₂. Менингококки образуют выпуклые, круглые, мелкие, прозрачные колонии. В мазках выявляются полиморфные диплококки и тетракоки. Колонии пересевают на скошенный сывороточный агар. Для определения сахаролитической активности менингококков проводится посев на среду Гисса. Чтобы установить принадлежность бактериальной культуры к роду нейссерии ставят оксидазную реакцию. Дифференциацию менингококков и непатогенных нейсерий проводят с учетом роста на сывороточном агаре. Для выявления менингококка в крови засевают 5-10 мл крови, во флаконы с 50 мл бульона, который содержит 0,1% агара, стерильно взятой с вены. Через 24 часа делают пересел на сывороточный агар культуры. После проводится идентификация культур.

Серологический метод. Для выявления антител в сыворотке крови применяют РПГА, РИФ (непрямой) и ИФА, для реакций используются группоспецифические полисахариды менингококка.

Определение группы менингококка. После получения чистой культуры менингококка серологическое определение группы. Используют агглютинирующие и преципитирующие сыворотки. На предметное стекло наносят неразведенные агглютинирующие сыворотки групп А, В, С (по одной капле). Добавляем изотонический раствор натрия хлорида (это контроль). К каждой капле добавляют выделенную культуру. Где отмечается агглютинация в там и определяют группу выделенной культуры. Для определения серогрупп ставится реакция преципитации в геле.



Вопросы по теме для контроля.

1. Морфологические свойства менингококков
2. Биологические свойства менингококков.
3. Патогенез менингококковых заболеваний.
4. Формы менингококковой инфекции.
5. Микробиологическая диагностика менингококковых заболеваний.
6. Бактерионосительство при менингококковых заболеваниях.
7. Дифференциация менингококков от грамотрицательных диплококков носоглотки.
8. Профилактика и терапия при менингококковых заболеваниях.
9. Культуральные свойства менингококков.
10. Тинкториальные свойства менингококков

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. При посеве на кровяной агар мокроты больного пневмонией обнаружены мелкоточечные прозрачные колонии с зеленоватой зоной вокруг них.

1. О каких видах возбудителей можно думать?
2. По каким тестам их можно отличить друг от друга?

Задача-2. Из носоглотки здорового человека выделена культура бактерий, подозрительных на менингококк.

1. С какими другими бактериями их необходимо дифференцировать?
2. Какое можно сделать заключение, если выделенная культура будет идентифицирована как менингококк?

Задача-3. В мокроте больного обнаружены грамотрицательные палочки, имеющие хорошо выраженную капсулу и располагающиеся беспорядочно, парами или цепочками.

1. О каких бактериях можно думать?
2. К какому семейству они могут принадлежать?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства менингококков.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя менингококков
3. Изучить факторы патогенности возбудителя менингококков.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя менингококков
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику менингококков

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ДИФТЕРИИ.

Возбудитель дифтерии относится к роду *Corynebacterium* (от лат. *coryna* - булава, *diphthera* - пленка) типа Actinobacteria и порядка Actinomycetales включают около 60 видов. К этому роду относятся патогенные это дифтерийные палочки и непатогенные виды это псевдодифтерийные палочки и дифтероиды, которые обнаруживаются на слизистых оболочках и кожных покровах.

Морфологические свойства. Палочки слегка изогнутые, тонкие палочки, размером 1-8 мкм, на концах имеются утолщения. Грамположительны. Бактерии дифтерии неподвижны, не имеют спор имеют микрокапсулу. Окрашиваются основными анилиновыми красителями, а волютиновые зерна окрашиваются интенсивнее. Для окраски применяют кристаллический фиолетовый или щелочной метилленовой синий. Характерно расположение бактерий в мазках - они обычно располагаются попарно под углом, в виде L, V, Y. Дифференциально-диагностическим признаком при микроскопическом исследовании является расположение в мазках и наличие зерен волютина. Непатогенные представители рода коринебактерий - псевдодифтерийные палочки и дифтероиды зерна волютина у них иногда отсутствуют либо быть на одном конце.



Культуральные свойства. Коринебактерий дифтерии – являются факультативные анаэробами. Растут при температуре 36-37° С, pH среды 7,5-7,7. Они не растут на обычных питательных средах. Культивируют их исключительно средах, содержащих сыворотку или кровь. На лошадиной сыворотке с добавлением бульона (25%) и 1% глюкозы коринебактерий растут быстро, в течение 14-18 ч образуют выпуклые колонии кремового цвета а рост на скошенном агаре напоминает шагреньевую кожу. Основной средой для выращивания являются среда Клауберга она содержит сыворотку крови и теллурид калия, а также среда Тинсдаля, среда Бунина. Коринебактерий дифтерии делят на три биовара на основании культуральных и ферментативных свойств: *gravis*, *mitis*, *intermedius*. Биовар *gravis* на среде Клауберга растут в виде крупных колоний 3-4 мм, серовато-черного цвета (засчёт восстановления теллурид в

теллур) в виде розетки. Если прикоснуться к колонии петлёй она рассыпается. На жидкой среде бактерии образуют крошащуюся пленку и зернистый осадок. Коринебактерии биовара *mitis* на среде Клауберга растут в виде S-форма небольших, гладких колоний черного цвета. На жидкой среде растут в виде равномерного помутнения. Коринебактерии биовара *intermedius* являются промежуточными. На среде Клауберга бактерии этого биовара растут в виде блестящих, мелких, черных колоний.



Ферментативные свойства. Все биовары дифтерийных бактерий обладают цистиназной активностью, расщепляющие цистин с образованием сероводорода. Это основные свойства которые используются для идентификации возбудителей дифтерии от непатогенных представителей. Все биовары расщепляют глюкозу и мальтозу до образования кислоты. Отличие от других биоваров в том, что *C. gravis* расщепляют крахмал. Возбудители дифтерии образуют нейраминидазу, гиалуронидазу и другие патогенные ферменты.

Токсинообразование. Факторы адгезии (поверхностные белки, микроапсулы), ферменты инвазии и агрессии: гиалуронидаза, нейроминидаза, гликолипид, экзотоксин.

Антигенная структура. Соматический O- антиген (ЛПС клеточной стенки, термостойкий), капсульный K-антиген (термолабильный) он определяет серотип биовара, жгутиковый H-антиген отсутствует.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Возбудители дифтерии очень устойчивы. Температура 50° С убивает их через 10-15 мин, 90°-100° С - через минуту. В пленке они выдерживают нагревание до 80° С, на детских игрушках сохраняются несколько суток. Низкие температуры эти бактерии переносят хорошо. К высушиванию довольно устойчивы. Дезинфицирующие и антисептические вещества (3% раствор фенола, 1% раствор сулемы, 10% раствор перекиси водорода) убивают эти бактерии мгновенно.

Источники заболевания. Бактерионосители и больные люди

Пути передачи. Воздушно-капельный, пылевой путь, контактно-бытовой (через игрушки, посуду, книги, полотенца).

Патогенез. Входными воротами служат слизистые оболочки дыхательных путей и поврежденная кожа. Попав на слизистую оболочку, возбудители дифтерии размножаются в месте внедрения и вызывают воспаление и некроз ткани. Образуется фибринозная пленка, тесно связанная с подлежащими тканями. При размножения коринебактерий накапливается экзотоксин, он приводит к отеку слизистой оболочки и клетчатки. Со слизистой оболочки отек распространяется на гортань, бронхи и вызывает асфиксию и приводит к токсинемии.

Иммунитет. После перенесенного заболевания и вакцинации формируется длительный и напряженный, гуморальный иммунитет. О наличии антитоксического иммунитета судят по аллергической реакции Шика. Для постановки реакции 1/40 DIm, которая содержится в 0,2 мл изотонического раствора NaCl, вводят в/к в области предплечья. Если нет в крови антитоксина в месте введения через 24-48 ч появляется краснота и припухлость 2 см в диаметре. Если есть антитоксин припухлости и красноты нет (если в крови антитоксин он нейтрализуется введенным токсином).

Профилактика. Изоляция, выявление носителей токсигенной дифтерийной палочки.

Специфическая профилактика вакциной АКДС - это адсорбированная дифтерийный, столбнячный анатоксин и взвесь убитых коклюшных палочек. АДС-м, АДС (по национальному календарю). Для специфического лечения применяют противодифтерийную антитоксическую сыворотку.

Микробиологическая диагностика дифтерии. Исследуемым материалом для исследования является пленки с миндалин, слизь из зева и носа, отделяемое пораженных участков кожи и слизистых. Микробиологическую диагностику дифтерии проводят тремя методами: микроскопическим, бактериологическим, серологическим.

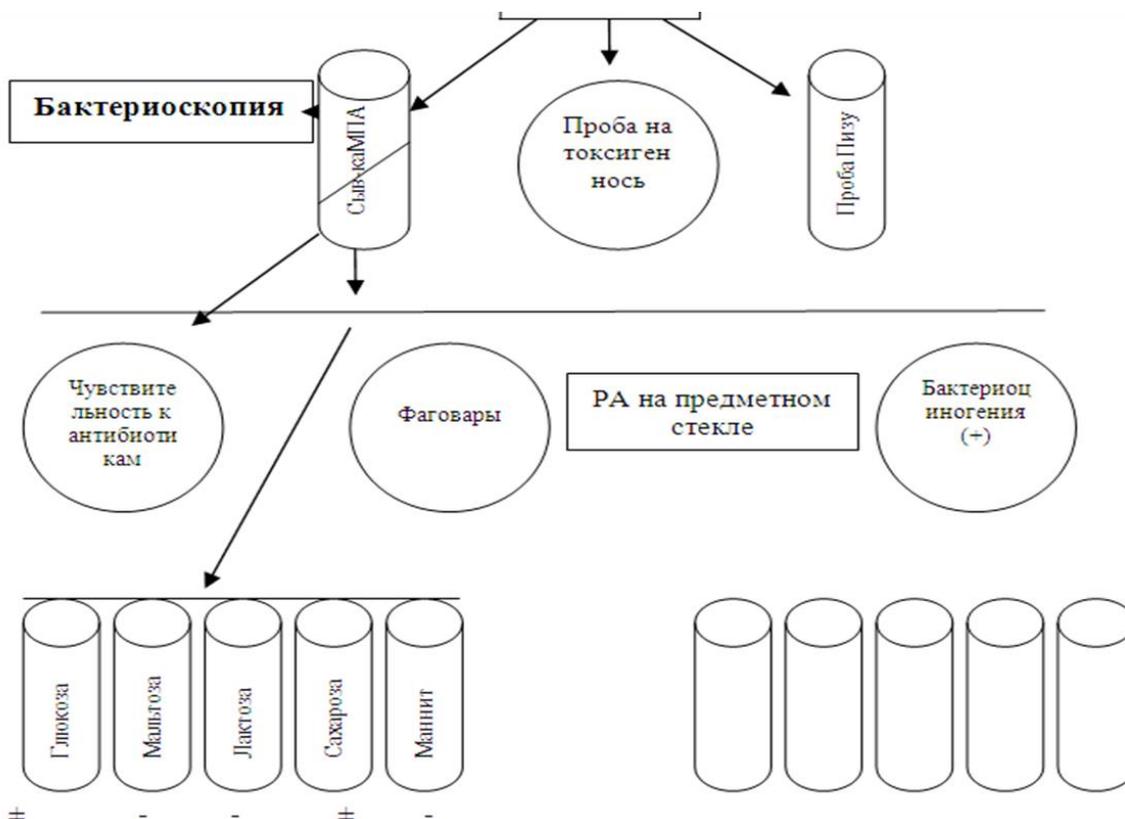
Микроскопический метод. Исследуемый материал исследуют, взятый тампоном, готовят 2 мазка и окрашивают один по Граму другой по Нейссеру. При окраске по Нейссеру в мазках обнаруживаются бактерии палочковидной формы, располагаются в виде (V). Палочки имеют желтый, а зерна Волютина (Бабеша Эрнста) на концах - темно-синий или черный цвет. Этот дифференцирующий способ окрашивания позволяет отличить *Corynebacterium diphtheriae* от *pseudodiphtheriticum*, в которых находятся зерна Бабеша Эрнста. А при окраске по Граму зерна Волютина не выявляются, но Гр+ окраска и характер расположения дифтерийных палочек, позволяет отличить их от непатогенных коринебактерий, которые располагаются в виде забора, или параллельно друг другу.

Бактериологический метод это основной метод диагностики дифтерии. Он включает выделение чистой культуры, идентификацию, токсинообразование. Исследуемый материал взятый вторым тампоном, высевают на кровяные среды теллурит сывороточные (среда Клауберга).

-на кровяно-теллуритовый агаре биовар *gravis*, растет в виде больших колоний серовато-черного цвета, плоские, шероховатые, радиально расчерчены,

- биовар *mitis* растет с зубчатыми краями мелкие выпуклые блестящие черные колонии с гладкой поверхностью и ровными краями

-биовар *intermedius* мелкие плоские колонии с более темным центром, иногда с неровными краями. Для получения чистой культуры бактерии с сомнительными колониями делают посев на скошенную свернутую сыворотку (среда РУ, Леффлера). После инкубации наблюдается рост дифтерийной палочки напоминающую «шагреновую кожу» (колонии сливаются, но центр остается повышенным). После микроскопии чистоту выделенной культуры, идентифицируют по биохимическим свойствам на среде Гисса (мальтоза, глюкоза, маннит, лактоза, сахароза), а также в среду с крахмалом, гликогеном. Для выявления цистиной активности дифтерийных палочек делают посев в среду с цистином и уксуснокислым свинцом. При этом отмечается почернение среды по ходу посева. Для выявления и индентификации микроба расщеплять мочевины делают посев в МПБ с 1% мочевины + индикатор крезолрот. Если покраснение среды не отмечается, это свидетельствует об отсутствии уреазной активности.



Определение экзотоксина. Метод диффузной преципитации в геле. Суть метода основана на взаимодействии токсина с антитоксином. В участках агара, где компоненты взаимодействуют с друг другом, образуется преципитат в виде закругленных линий.



Серологический метод. Для ускоренного обнаружения дифтерийного токсина применяется РНГА с антительным эритроцитарными диагностикумами, а также реакцию нейтрализации антител, ИФА, РИА, ПЦР.

Вопросы по теме для контроля.

1. Морфологические и тинкториальные свойства коринебактерий.
2. Культуральные свойства коринебактерий.
3. Биовары коринебактерий.
4. Факторы патогенности коринебактерий.
5. Токсинообразование коринебактерий.
6. Патогенез дифтерии.
7. Бактерионосительство при дифтерии.
8. Лабораторная диагностика дифтерии.
9. Дифференциация возбудителей дифтерии и дифтероидов.
10. Специфическая профилактика и лечение дифтерии.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. У ребенка с подозрением на дифтерию в мазке слизи из зева обнаружили бактерии, напоминающие дифтерийные палочки.

1. Можно ли на основании этих данных поставить диагноз «дифтерия»?
2. Если нет, то почему?
3. Какие дополнительные методы исследования необходимо провести для постановки микробиологического диагноза. Обоснуйте Ваше решение.

Задача-2. В одном из классов средней школы зарегистрирован случай заболевания дифтерией.

1. Как проверить наличие противодифтерийного иммунитета у контактных детей?
2. Каков характер этого иммунитета?
3. Какие меры экстренной профилактики следует предпринять, если обнаружатся неиммунные дети?

Задача-3. Ребенок Т., 6 лет, боле 3 дня. Жалобы на боль в горле при глотании, повышенную температуру. Был в контакте с больным дифтерией.

1. Какой материал следует взять от больного для бактериологического исследования?
2. Какие питательные среды будете применять и почему?

Задача-4. При постановке реакции Шика воспитанникам детского сада у 12 человек реакция была положительной, у остальных – отрицательная.

1. Каких детей надо вакцинировать? Обоснуйте ответ.

Задания для самостоятельной работы.

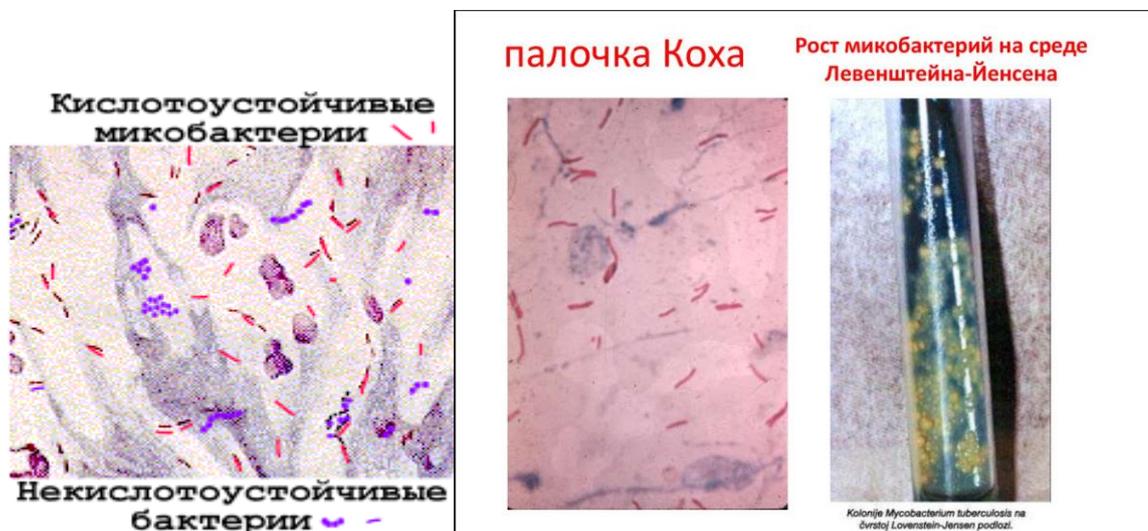
1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства коринобактерий.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя дифтерии.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя дифтерии.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя дифтерии.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику дифтерии.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЕЗА

Таксономия. Семейство *Mycobacteriaceae*, Отдел *Firmicutes*, род *Mycobacterium*. Туберкулез у людей вызывают три вида микобактерий: *M. tuberculosis* (палочка Коха), *M. bovis*, *M. africanum*. В редких случаях туберкулез у человека вызывают *M. microti* (мышинный тип) и *M. avium* (птичий тип, вызывает инфекцию у людей с иммунодефицитом).

Морфологические свойства. Полиморфизм: нитевидные, кокковидные, ветвистые, колбовидные формы. Грамположительные. Неподвижные. Спор не образуют. Имеют микрокапсулу. Имеют форму длинных тонких это *M. tuberculosis*, *M. africanum* короткие и толстые *M. bovis* палочки с зернистой цитоплазмой, которая содержит от 5 до 10 зерен различной величины – зерна Муха. Могут образовывать нитевидные структуры, которые напоминают мицелии грибов, от туда и названия возбудителя (*mykes* - гриб и *bacterium* - бактерия). Микобактерии являются кислото-, спирто- и щелочеустойчивыми бактериями, за

счет наличия в клеточной стенке липидов, миколовой, миколеновой кислоты. И для их окраски применяют только метод Циля-Нильсена (при такой окраски кислотоустойчивые микобактерии окрашиваются в ярко-красный цвет, а не кислотоустойчивые голубого цвета). Микобактерии располагаются в виде палочек, одиночно или небольшими скоплениями.



Культуральные свойства. Являются облигатными аэробами. Медленно растущие за счет наличия в клеточной стенке липидов, которые замедляют обмен веществ у бактерий. Температура для роста возбудителя 36-38°C. pH 6,5-7,5. Микобактерии туберкулеза очень требовательны к питательным средам, для подавления токсического действия возбудителей к средам добавляют сыворотку крови животных и альбумин, активированный уголь, а для подавления роста другой, сопутствующей микрофлоры добавляют красители такой как, малахитовый зеленый, антибиотики, которые не действуют на микобактерии.

Основные селективные питательные среды для микобактерий:

- среда Левенштейна-Йенсена (картофельная мука, аспарагин, глицерин, яичная суспензия, калия дигидрофосфат, магния сульфат, магния цитрат, малахитовый зеленый.);
- среда Миддлбука;
- среда Петроньяни (малахитовый зеленый, глицерин, аспаргин, яичный сок, сок картофеля, картофельный крахмал молоко.)
- среда Школьниковой (калий однозамещенный фосфорнокислый, лимоннокислое аммиачное железо, натрий лимоннокислый, глицерин, аспарагин, магний сернокислый, натрий фосфорнокислый)
- среда Сотона.

На плотных средах микобактерии на 15-20 день образуют шероховатые бледно-желтого цвета, плотные колонии бородавчатого вида (напоминающие цветную капусту).

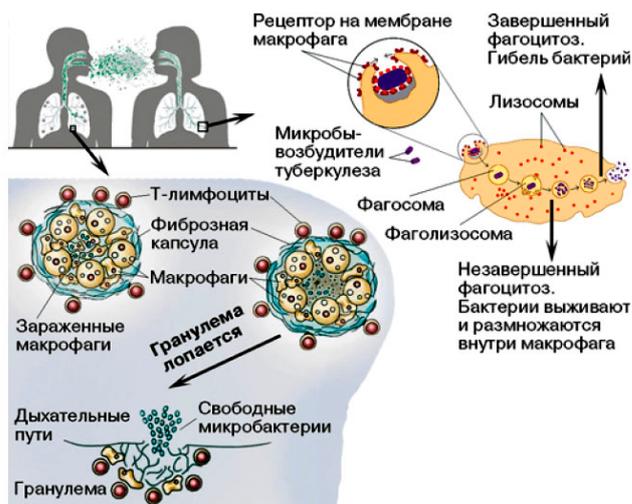
На жидких средах на 5-7 день микобактерии образуют морщинистую пленку толстую, сухую кремового цвета. Но при этом бульон остается прозрачным.



Резистентность. В засохшей мокроте микобактерии сохраняют свою жизнеспособность и вирулентность в течение 5-6 месяцев. На предметах обихода больного могут сохраняться более 3х месяцев. А в почве сохраняются до 5-6 месяцев, в воде – до 10-15 месяцев. УФЛ – через 2-3 минуты. При пастеризации микобактерии погибают через 30 минут. Хлорсодержащие, концентрированные вещества вызывают гибель микобактерий в течение 3-5 часов.

Факторы патогенности микобактерий:

- **туберкулопротеины** - вызывают развитие реакции гиперчувствительности.
 - **корд-фактор** –вызывает повреждение клеточных мембран и обуславливая развитие незавершенного фагоцитоза;
 - **липиды** которые содержат миколовую и фтионовую кислоты, вызывают появление многочисленных гигантских клеток. образование зёрен;
- Высокотоксичными для микобактерий являются продукты распада клеток. Основным и главным фактором патогенности микобактерий является **корд-фактор** (от англ. *cord* – веревка, жгут,). Корд-фактор обуславливает “скученный тип роста” в жидких средах в виде “извилистых тяжей” в которых клетки микобактерий располагаются параллельными цепочками или параллельно друг другу.
- жирные кислоты вызывают творожистый некроз
 - фосфолипиды образуют гранулемы
 - миколовая кислота обладает антифагоцитарными свойствами
 - микозилтрансфераза



Основной источник инфекции – больные люди туберкулезом органов дыхания, которые выделяют микробы в окружающую среду с мокротой, со слюной

Источниками являются люди с внелегочными формами туберкулеза и больные животные такие, как верблюды, свиньи, крупный рогатый скот, козы и овцы).

Основной механизм заражения – аэрогенный.

Пути передачи при туберкулезе - воздушно-капельный, воздушно-пылевой, а также алиментарный, контактно-бытовой. Входными воротами является слизистая оболочка полости рта, бронхи и легкие.

Патогенез. Туберкулёзная палочка → организм человека → фагоцитоз в фагоцитах → фагосомы → размножаются → в регионарные лимфатические узлы → “дремлющем” состоянии (незавершенный фагоцитоз). → лимфангоит → лимфаденит → очаг воспаления →

специфический характер, развивается реакция гиперчувствительности замедленного типа → гранулема → формируется соединительнотканная капсула, некротизированные ткани обызвествляются (творожистый некроз)

Иммунитет. После перенесенной инфекции формируется нестерильный иммунитет (за счёт L-форм, длительной персистенцией бактерий).

Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал зависит от клинической формы туберкулёза - мокрота, аспират бронхов, СМЖ, отделяемое свищей, моча, испражнения.

Бактериоскопическое исследование – микроскопия мазков из исследуемого материала, которые окрашиваются по Цилю-Нильсену.

Когда применяем этот метод?

-при подозрении на туберкулез (при этом симптомы: кашель с выделением мокроты, кровохарканье в течении 2-3 недель, потеря массы тела и боли в грудной клетке,);

-у контактированных с больными;

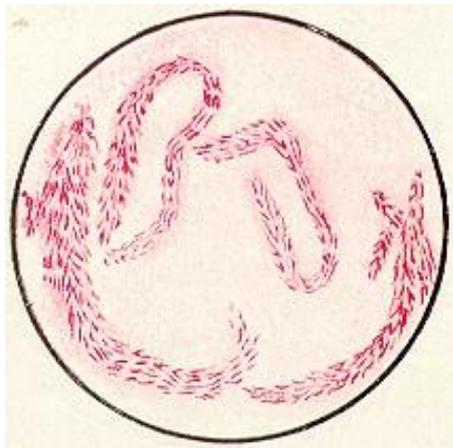
-при изменении R^o легких

Если отмечаются отрицательные результаты используют метод обогащения, седиментации (исследуемый материал обрабатывают щелочью и центрифугируют) и флотации, исследуемый материал обрабатывают смесью щелочи и ксилола (бензина, бензола, толуола и встряхивают 5-10 мин + дистиллированная вода, если обнаруживаются микобактерии, тогда капельки углевода адсорбируют их и всплывают и образуют кольцо после микроскопируют и окрашивают по методу Циля-Нильсена.

Бактериологическое исследование проводится посев исследуемого материала на элективные, яичные питательные среды, Левенштейна-Йенсена, Миддлбрука, Петроньяни, Сотона. Бактериологический метод является основным и стандартным методом, но так как возбудитель очень медленно растёт на питательной среде (около 3х недель) и занимает много времени для определения чувствительности микобактерий к антибиотикам (25-30 дней). Поэтому необходимо использовать метод Прайса для ускоренной диагностики микобактерий туберкулеза.

МЕТОД ПРАЙСА. Бактериологический метод микрокультивирования на предметных стеклах в жидкой среде с добавлением гемолизирующей цитратной крови в разведении 1\4 - 1\8, из исследованного материала делаем несколько толстых мазков, высушиваем и обрабатываем в 2% серной кислоте и нейтрализуем. После помещаем в цитратную кровь на 7-14 дней, извлекаем, фиксируем, окрашиваем по Цилю-Нильсену и микроскопируем. Вирулентные штаммы микобактерий образуют вид

“жгутов” или “кос” (от англ. *cord* – жгут, веревка) т.е выявление патогенных факторов микобактерий.



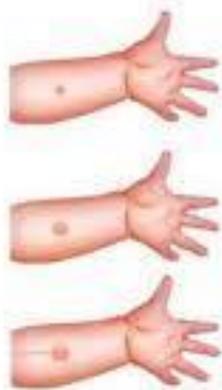
Биологическая проба. Заражение морских свинок, т.к морские свинки очень чувствительны к микобактерии туберкулеза. Цель изучения метода заключается в выделении чистой культуры и определении вирулентности микобактерий.

Серологический метод. РНГА, РСК, иммуноблоттинг, иммуноферментный анализ, ПЦР.

Аллергический метод. Кожно-аллергическая проба основана на определении чувствительности организма к туберкулину (экстракт белка, полученный из *M. tuberculosis* и *M. Bovis*).

Положительные реакции на пробу Манту
подразделяется на:

- 1) слабopоложительные (папула 5 – 9 мм)
- 2) средней интенсивности – умеренные (папула 10 – 14 мм)
- 3) выраженные (папула 15 – 16 мм)
- 4) гиперергические (у детей и подростков папула 17 мм и более, у взрослых папула 21 мм и более; или папула любого размера при наличии везикуло-некротической реакции, лимфангита, отсевов)



Она вводится внутрикожно на внутреннюю поверхность плеча и оценивается следующим образом:

- отрицательная - реакция от укола до 2 мм в диаметре;
- сомнительная - папула 2-4 мм в диаметре или гиперемия;
- положительная – папула менее 5-17 мм в диаметре ;
- гиперергическая - папула диаметром более 17 мм;

Для диагностики туберкулеза также используется накожную или скарификационную проба Пирке.

Лечение. Используются антибиотики и химиотерапевтические препараты. Изониазид, рифампицин, ПАСК, тубозид, канамицин и т.д.

Специфическая профилактика. Введения живой вакцины БЦЖ (*BCG - Bacille Calmette-Guerin*). Штамм БЦЖ состоит из *M. Bovis*, который был получен А. Кальметтом и К. Гереном путем длительного пассирования на картофельно-глицериновой среде с добавлением желчи. Первое вакцинирование проводится в\к на 3-4 день жизни новорожденных. С последующей ревакцинацией в 7-14 лет.

Вопросы по теме для контроля.

1. Классификация микобактерии.
2. Морфологические и тинкториальные свойства микобактерий туберкулеза.
3. На каких питательных средах растут возбудители туберкулеза?
4. Вирулентные свойства микобактерий туберкулеза.
5. Бактериологический метод Прайса
6. Аллергические свойства микобактерий туберкулеза.
7. Патогенез туберкулёза.
8. Клинические формы туберкулеза.
9. Где возникает первичный очаг при аэрогенном пути передаче?
10. Где возникает первичный очаг при алиментарном пути передаче?

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. Десяти учащимся одного из классов средней школы поставили пробу Манту. Получили результаты: у 7 учащихся диаметр папулы 6-7 мм, у одного 15 мм, у двух на месте инъекции – только след укола.

1. Как Вы оцените результат у первых 7 учащихся? Ваши дальнейшие действия?
2. Как Вы оцените результат у 8-го учащегося? Ваши действия?
3. Как Вы оцените результат у последних двух учащихся? Ваши действия.

Задача-2. Морской свинке за 2 дня до заражения мокротой от больного с подозрением на туберкулёз поставили туберкулиновую пробу и получили в месте инъекции гиперемию, инфильтрат. Решили, что эта свинка для биопробы непригодна.

- Объясните, почему?

Задача-3. В лабораторию поступила мокроты больного с подозрением на туберкулёз лёгких.

1. Какие методы исследования Вы используете для выявления возбудителя?
2. Какой метод и почему Вы используете для окраски мазка?

Задача-4. Врачу поручено организовать ревакцинацию против туберкулёза в средней школе.

1. Какую вакцину он должен использовать для специфической профилактики?
2. Какой контингент лиц будет подлежать вакцинации?
3. Какие тесты используют для оценки эффективности вакцинации и отбора лиц, подлежащих ревакцинации?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства микобактерий туберкулёза.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя туберкулёза.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя туберкулёза.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя туберкулёза.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику туберкулёза.

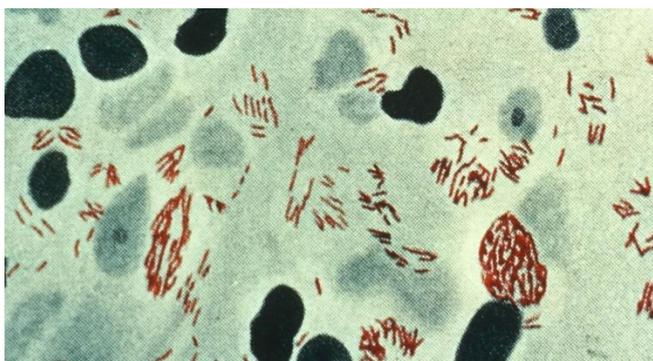
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЛЕПРЫ.

Таксономия. Семейство *Mycobacteriaceae*, род *Mycobacterium*. вид *Leprae*

Название происходит от греч.- *lepros* чешуйка, шероховатый, шелушащий. Возбудитель лепры является облигатным, внутриклеточным паразитом тканевых макрофагов.

Морфологические свойства. Грамположительны. Прямые слегка изогнутые иногда встречаются булавовидные и зернистые формы. Размеры их 2 - 6 мкм. В макрофагах располагаются группами в виде «сигары пачек» или скоплений, не образуют спор и капсул.

Возбудитель лепры как и микобактерии туберкулеза обладают полиморфизмом. Встречаются короткие, длинные, тонкие клетки, сегментированные, крупные, разветвленные, вздутые, изогнутые. Клеточная стенка плотная и имеет микрокапсулу она богата липидами, жирами, воском, миколовой и миколеновой кислотой за счет это придает высокую спирто- кислото устойчивость что обуславливает им элективную окраску по Циль-Нельсену.



Культуральные свойства. Возбудитель лепры не растут на питательных средах, Используется биологический метод с введения исследуемого материала в лапку мышей, где они размножаются в течение 25 – 30 дней.

Ферментативные свойства изучены слабо. Их исследованию мешает нерешенность проблемы культивирования *M. leprae* на питательных средах.

Токсинообразование. У микобактерии лепры выработка токсинов не выявлено.

Антигенные свойства. Имеется термостабильный и термолабильный антиген.

Патогенез. Источник инфекции является больной человек. Пути передачи воздушно-капельный, механизм заражения аэрогенный, возможен контактный механизм заражения и оба механизма связаны с длительным, тесным контакте с больными лепрой что приводит к массивному инфицированию.

Микобактерии лепры → кожа и слизистые оболочки → клетки различных тканей и органов → в лимфатические и кровеносные сосуды → диссеминируют → развитие латентной формы лепры.

Инкубационный период очень длительный длится от 2 - 6 до 35 лет. Болезнь протекает первично-хронически.

Различают клинические формы проявления лепры: лепроматозный, туберкулоидный, недифференцированный



Иммунитет. Мало изучено.

Лабораторная диагностика. Исследуемым материалом является соскоб со слизистой оболочки носа, отделяемое язв, лепрозных узлов кожи, мокроту, исследуют кровь в период лихорадки. Основным методом для диагностики лепры используются микроскопический метод окраски по Цилю – Нильсену.

Чтобы от дифференцировать лепру от туберкулеза заражают морских свинок патологическим материалом 0,8 % растворе хлорида натрия. Если отмечаются туберкулезные поражения животное погибает т.к. морские свинки к микобактериям лепры невосприимчивы.

Аллергический метод. Проба Митсуда считается (+), если через 48 ч на месте введения 0,1 мл лепромина появляются эритема и небольшая папула это ранняя реакция, при которой через 10 – 15 дней на месте инъекции образуется узелок в последующим он некротизируется в центре.

Серологический метод. ИФА, ПЦР.

Лечение. Длительная химиятерапии. Применяются дапсон, диоцифон, солносульфон.

Микробиологическая диагностика



Профилактика. Изоляция больных в лепрозории до клинического излечения. Те больные которые контактировались с лепрой не реже 1 раза в год подвергают специальному врачебному осмотру. Отделяют детей, рожденных больными лепрой матерями и вскармливают искусственно

Вопросы по теме для контроля.

1. Морфологические и тинкториальные свойства микобактерий лепры.
2. На каких питательных средах растут возбудители лепры?
3. Ферментативные свойства возбудителя лепры.
4. Биохимические свойства возбудителя лепры.
5. Вирулентные свойства возбудителя лепры.
6. Антигенные свойства возбудителя лепры.
7. Факторы патогенности возбудителя лепры.
8. Патогенез лепры.
9. Как проводится микробиологическая диагностика лепры?
10. Откуда берутся материалы для исследования при лепре?

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. На прием к врачу обратился мужчина 49 лет с жалобами на появление кольцевидных образований на коже правой щеки, выпадение волос на этом месте чувствительность снижена. При бактериоскопическом исследовании окрашеном по Циль-Нельсона обнаружены: палочки расположенные в виде пачки сигарет.

1. Ваш предположительный диагноз, его обоснование;

2. Какие микроорганизмы окрашиваются по методу Циль-Нельсона, объясните.
3. Объясните состав клеточной стенки этих бактерий.

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства микобактерий лепры
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя лепры.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя лепры.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя лепры.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику лепры.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЙ. ГАЗОВАЯ ГАНГРЕНА, СТОЛБНЯК.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ГАЗОВОЙ ГАНГРЕНЫ

Анаэробная инфекция — это болезнь которая вызывается облигатными анаэробными, относящие к условно-патогенным микроорганизмам. Облигатные анаэробные бактерии разделяются на две группы: 1) спорообразующие (кlostридии - вызывают кlostридиозы) 2) неспорообразующие или еще их называют некlostридиальные анаэробы— относятся к условно-патогенным микробам. гнойно-воспалительные заболевания. Представители обеих групп бактерий

Гангрена — анаэробная раневая инфекция, вызывается бактериями рода *Clostridium*, она характеризуется некрозом в основном мышечной ткани и тяжелой интоксикацией, но отсутствием воспалительных явлений.

Таксономия. Род *Clostridium*, отдел Firmicutes. Основные возбудители: *Cl.perfringens*, *Cl.novii*, *Cl.ramosum*, *Cl.septicum* и др.

Морфологические свойства. Грамположительные, палочковидные, спорообразующие бактерии. В пораженных тканях возбудитель образует капсулы, которые обладают антифагоцитарной активностью, кlostридии при попадании в окружающую среду при неблагоприятных условий они образуют субтерминально расположенные споры. Споры окрашиваются по Ожешко в красный цвет, а вегетативная палочка в синий. Капсулы у кlostридий выявляем методом Бурри-Гинса,

Культуральные свойства. Кlostридии облигатные анаэробы. На жидких средах образую муть равномерную, некоторые виды образуют осадки в виде «свежевыпавшего снега». На плотных средах образует R-колонии, сероватые, зернистые, полупрозрачные колонии с неровными краями. На кровяном агаре

клостридии газовой гангрены образуют шероховатые колонии, тип А,В,С разрушают эритроциты с образованием гемолиза, а тип D не разрушает эритроциты.

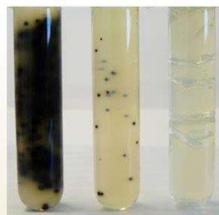


Биохимические свойства. Очень высокая ферментативная активность, они расщепляют углеводы с образованием кислоты и газа.

Создание анаэробных условий



- Кислород удаляется при кипячении жидкой питательной среды вследствие снижения его растворимости в воде.
- После посева поверхность среды заливается вазелиновым маслом или парафином для предотвращения попадания кислорода в ходе инкубации.



- Посев в высокий столбик полужидкой или плотной питательной среды
- Можно культивировать сравнительно нетребовательные к анаэробным условиям микроорганизмы (например, некоторых представителей родов *Clostridium* и *Bifidobacterium*).
- На фото рост клостридий на среде Вильсон-Блер

Рост анаэробов в среде Китта-Тароцци



Антигенные свойства. Имеется О- антиген имеется у всех типов, К-антигену *Cl. perfringens*, Н-антиген, для идентификации возбудителей серотипирование не используются.

Токсинообразование. Вид клостридий разделён на серовары, которые продуцируют сильные экзотоксины они различаются по антигенным свойствам. Токсин *Cl. perfringens* делится на 6 серовариантов: А, В, С, D, Е и F. Из них

патогенными для человека являются А и F, остальные патогенны только для животных. Cl. novii серовары А, В, С и D.

Факторы патогенности:

Синтезируемые экзотоксины	Синтезируемые экзотоксины	Биологическое действие токсинов
<i>C. perfringens</i>	α -токсин	Фосфолипаза С. Дерматонекротизирующее, гемолитическое, и летальное действие
	β -токсин	Некротизирующее действие
	δ -токсин	Гемолитическое действие и летальное действие на лабораторных животных
	θ -токсин	Гемолитическое, дерматонекротизирующее, летальное действие
	ϵ -токсин	Белок, образующий поры в мембранах эпителиоцитов кишечника и вызывающий выход из клетки ионов калия и воды
	ι -токсин	Летальное, дерматонекротизирующее действие
	κ -токсин	Летальное, некротизирующее действие
	λ -токсин	Коллагеназная и желатиназная активность
	γ -токсин	Летальное действие
	η -токсин	Летальное действие
	μ -токсин	Повышение проницаемости тканей
	ν -токсин	Расщепление нуклеиновой кислоты
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты соединительной ткани
Энтеротоксин	Пищевые токсикоинфекции	
<i>C. histolyticum</i>	α -токсин	Летальное и некротическое действие
	β -токсин	Коллагеназа (цинк-металлопротеаза), расщепляющая коллаген и желатин
	γ -токсин	Протеиназы, вызывающие деструкцию и омертвление мышц
	δ -токсин	Эластаза, расщепляющая желатин и казеин

	ε-токсин	Гемолитическая активность
C. novyi	α-токсин	Летальное и некротическое действие
	β-токсин	Лецитиназа С; летальное, некротическое и гемолитическое действие
	γ-токсин	Лецитиназа; некротическое и гемолитическое действие
	δ-токсин	Гемолитическое действие
	ε-токсин	Липаза
	ξ-токсин	Гемолитическое действие
	η-токсин	Тропомиозиназа
	θ-токсин	Лецитиназная активность
	Гиалуронидаза	Расщепление гиалуроновой кислоты
C. septicum	α-токсин	Летальная, некротизирующая и гемолитическая активность
	β-токсин	ДНК-аза
	γ-токсин	Гиалуронидаза
	δ-токсин	Гемолитическая активность

Резистентность. Чувствительны к солнечному свету, кислороду, высокой температуре, дезинфектантам. Возбудитель газовой гангрены является представителем нормальной микрофлоры кишечника животных и человека.

Патогенез. Причинами возникновения газовой гангрены способствует несколько причин: 1) попадание микроорганизмов в рану, 2) наличие некротических (омертвённых) тканей, 3) снижение резистентности. В некротических тканях условия гипоксии  благоприятные для размножения  образуются токсины и ферменты  приводят к повреждению здоровых тканей  тяжёлая общая интоксикация за счет выработки токсинов и ферментов в окружающие ткани.

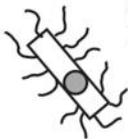
Факторы агрессии

Капсула
Гиалуронидаза
Коллагеназа
Протеаза
Эластаза
Лецитиназа
ДНКаза
Фибринолизин



Факторы токсичности

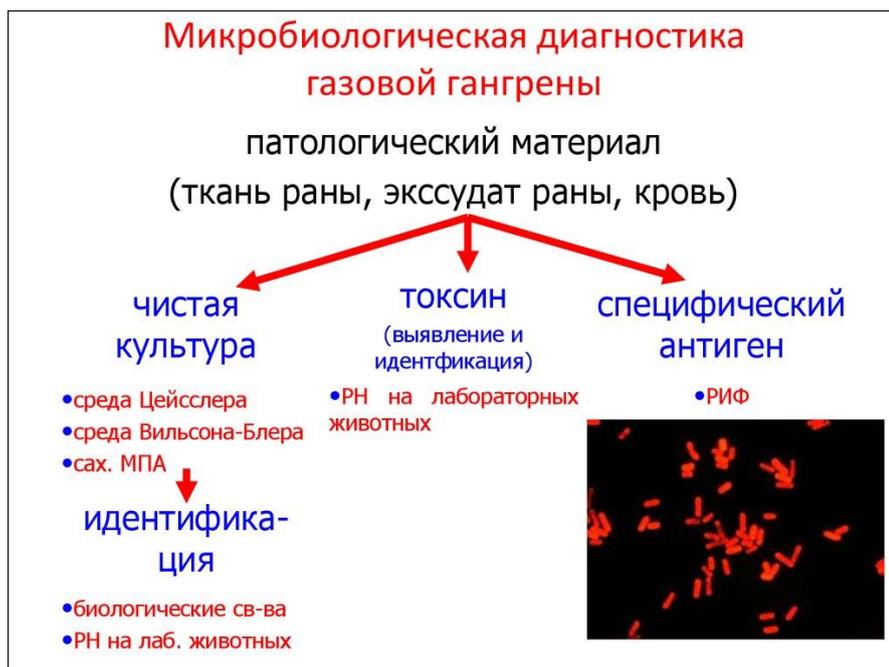
Экзотоксины
Гемолизины



Иммунитет. После перенесенной иммунитет не сохраняется.

Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал это (раневое отделяемое, кусочки пораженных тканей) микроскопируют, окрашивают по Грамму, Бурри-Гинс, Ожешко. Диагноз подтверждается при обнаружении грамположительных палочек с капсулой и спорами в исследуемом материале.

Проводят бактериологическое исследование – обнаружение *Cl.perfringens* в фекалиях для постановки пищевой токсикоинфекции;



Лечение. Хирургическое лечение, удаляют некротические ткани. Вводят антитоксические сыворотки, применяют антибиотики и гипербарическую оксигенацию.

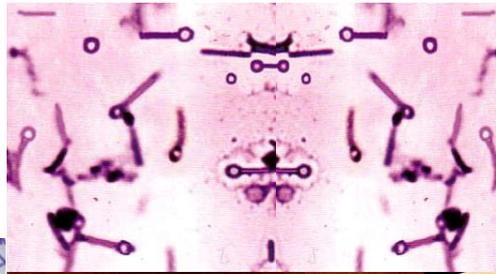
Профилактика. Соблюдение асептики и антисептики, соблюдение асептики и антисептики при операциях. Для специфической (активной) иммунизации применяют анатоксин в его состав входит секстанатоксин, он создаёт приобретенный, активный, искусственный, антитоксический иммунитет.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ СТОЛБНЯКА.

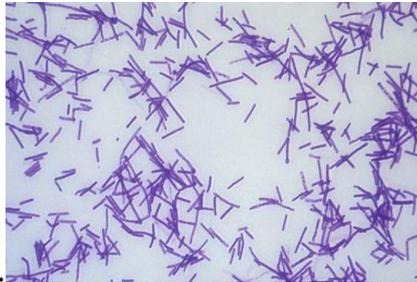
Столбняк — тяжёлая раневая инфекция, обладающая нейротоксическим действием экзотоксина, проявляющая тоническими и клоническими судорогами.

Таксономия. Семейство: *Vacillaceae*, род: *Clostridium*, семейство *tetani*.

Морфология и физиология. Грамположительные крупная палочки с закруглёнными концами размер 4-8 x 0,3-0,8 мкм. Содержат около 20 жгутиков перитрихи, имеют терминально расположенные споры напоминающие «барабанную палочку», споры выявляем методом Ожешко, вегетативные палочки окрашиваются в синий цвет, а споры в красный цвет.



Мазок из чистой культуры *C. tetani*. Окраску по Граму



Опистотонус

Культуральные свойства. *C. tetani* очень требовательны к питательным средам (должны содержать белок), являются строгими анаэробами, на среде Китта-Тароции образуют равномерное помутнение среды, на среде с желатином образуют ровные, шероховатые колонии.

Фементативные свойства. Многие штаммы не обладают сахаралитической активностью, но проявляют слабые протеолитические свойства, медленно расщепляя белки и пептоны до аминокислот.

Антигенные свойства. *C. tetani* имеют O, H-Аг. H-Аг содержит 10 серовариантов. Все серовары продуцируют тетаноспазмин и тетанолизин.

Патогенность и токсинообразование. Основные факторы патогенности *C. tetani* это экзотоксин он имеет 2 фракции: тетаноспазмин и тетанолизин.

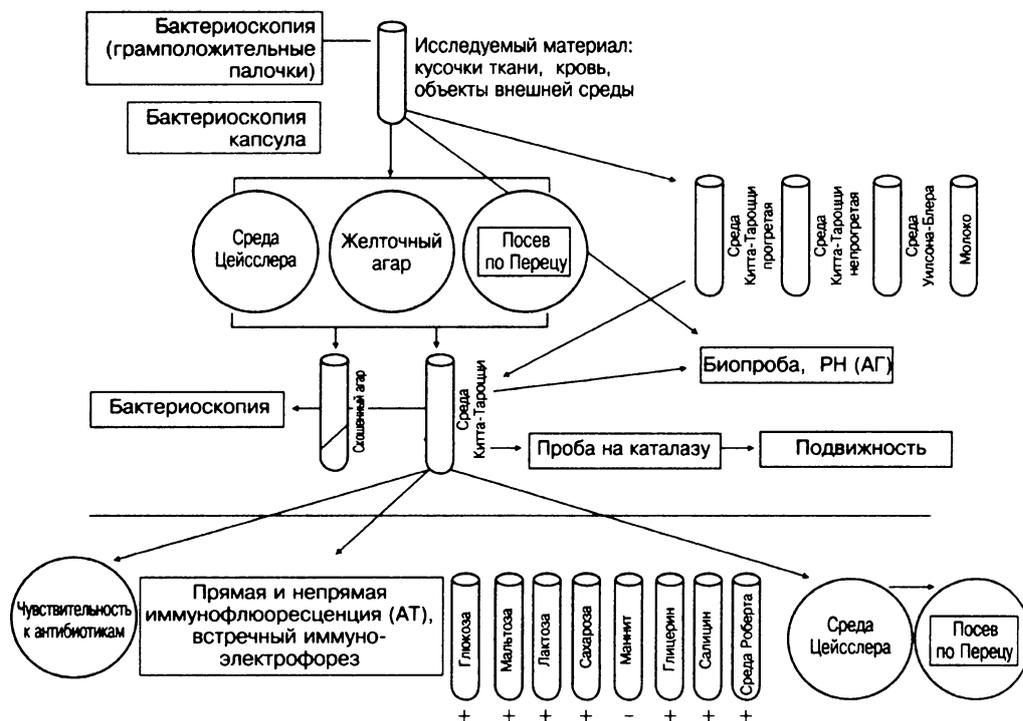
Тетаноспазмин → полипептид с дистантным механизмом действия, фиксируется на поверхности отростков нервных клеток → проникает путем лигандопосредованного эндоцитоза → ретроградно - аксонного транспорта попадает в ЦНС → подавляет высвобождение тормозных нейромедиаторов в синапсах.

Тетанолизин обладает гемолитическим, кардиотоксическим и летальным действием, он подавляет фагоцитоз.

Самые распространенные пути заражения столбняком



Резистентность. Споры очень устойчивы к химическим и физическим факторам они сохраняются в течение 5-10 ч в 1% растворе сулемы, а также выдерживают кипячение в течение 0,5-1 ч



Лечение и профилактика столбняка

Активная иммунизация

- плановая (совместно с АД)
- экстренная (при ранениях)

очищенный
концентрированный и
адсорбированный
столбнячный анатоксин



Пассивная иммунизация

- экстренная (при ранениях)

сыворотка
противостолбнячная
лошадиная



Вопросы по теме для контроля.

1. Локализация клостридий в организме.
2. Токсигенность и патогенность клостридий для человека.
3. Культуральные свойства Кл. перфрингенса.
4. Энтеротоксин Кл. перфрингенса и его роль при пищевых токсикоинфекциях.
5. Биологические свойства других возбудителей газовой гангрены.
6. Антитоксический иммунитет газовой гангрены.
7. Лабораторная диагностика газовой гангрены.
8. Патогенез столбняка.
9. Столбняк у новорожденных детей.
10. Антитоксический иммунитет столбняка.
11. Лабораторная диагностика столбняка.
12. Специфическая профилактика и лечение столбняка.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. Вы хотите проверить микроскопическим путём чистоту выделения чистой культуры анаэробов.

1. Какой метод окраски из предложенных Вы примените (метиленовый синий, Ожешко, Грам)?
2. Почему Вы не выбрали метод Ожешко?
3. Почему Вы не выбрали метиленовый синий?

Задача-2. Пострадавший в транспортной катастрофе был доставлен в стационар с обширными ранами, загрязнёнными почвой.

1. Возбудители каких анаэробных раневых инфекций могли быть занесены в рану с почвой?
2. Какие меры специфической профилактики следует провести в данном случае?

Задача-3. Рабочий во время земляных работ получил травму с повреждением кожных покровов. Через 3 дня во время перевязки у него обнаружили симптомы, подозрительные на газовую гангрену.

1. Какие это симптомы?
2. Какими экспресс-методами можно провести предварительный микробиологический диагноз?
3. Какие препараты следует назначить для лечения?

Задача-3. Пострадавшему в транспортной катастрофе в качестве мер специфической профилактики столбняка введён только столбнячный анатоксин.

1. Правильно ли проведена специфическая профилактика столбняка?
2. Если нет, Ваши предложения и их обоснование?

Задача-4. Больному с открытым переломом нижней конечности и сильно загрязнённой раной проведена хирургическая обработка раны и введена противостолбнячная сыворотка. Через 2 месяца больной был выписан с хорошим заживлением раны и костной мозолью на месте перелома. Через 2 недели он погиб дома при явлениях столбняка.

1. Как объяснить развитие столбнячной инфекции?
2. Какая ошибка была допущена при поступлении больного в стационар?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства клостридий газовой гангрены.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя газовой гангрены.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя столбняка.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя столбняка.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику газовой гангрены и столбняка.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ: ЭШЕРИХИЙ, ШИГЕЛЛ, САЛЬМОНЕЛЛ.

Возбудители кишечных инфекций относятся к семейству Enterobacteriaceae. Это семейство грамотрицательных, спорообразующих палочковидных бактерий. К ним относятся *Esherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Ervina*, *Proteus*, *Edwardsiella*, *Hafnia*, *Yersinia*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Seratia*. Роды этих бактерий подразделяются на виды, биовары, серовары, фаговары. Бактерии кишечных инфекций этого семейства имеют одинаковые морфологические, тинкториальные и биологические свойства.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ЭШЕРИХИИ

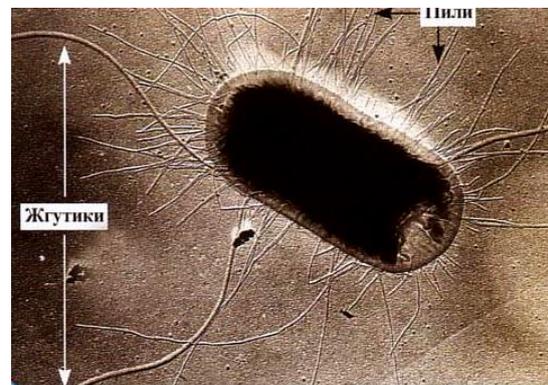
(РОД *ESCHERICHIA*).

Кишечная палочка (*E. coli*) является основным возбудителем эшерихиозов у человека. Эти бактерии являются условно-патогенными бактериями, т.к. обитают в кишечнике организма человека и при понижении реактивности организма бактерии вызывают различные патологические изменения. Также кишечная палочка является санитарным показателем. Для определения фекального загрязнения воды и почвы используют коли-титр и коли-индекс.

Морфологические свойства. Грамотрицательные, подвижные (перитрихи), короткие, палочковидные бактерии с закруглёнными концами, располагаются по одиночке иногда парами, некоторые виды имеют микрокапсулу, размер 0,5x6,0 мкм.



Чистая культура *E. coli*. Окраска по Граму



Жгутики и пили кишечной палочки.
Электроннограмма бактерии, напыленной металлом

Культуральные свойства. На плотных средах кишечные палочки образуют S- и R- колонии, S- колонии плоские выпуклые мутные с ровными или слегка волнистыми краями иногда сухие, R- колонии плоские с неровными краями. На жидких средах растут в виде диффузного, помутнения среды с образованием осадка.

Для идентификации и определения сахаролитических свойств кишечной палочки делаем посев чистой культуры на среду Гисса (МПБ, углеводы, индикатор Андрее, папльвок) при этом возбудитель образует газ или кислоту при расщеплении углеводов. На дифференциально-диагностических средах Эндо (МПА, лактоза, фуксин, сульфит

натрия) колонии лактоза-положительные эшерихии окрашиваются в красный цвет с металлическим блеском, а лактоза-отрицательные бледно-розового цвета. На среде Левина (МПА, лактоза, калий гидрофосфат, натрий хлор, метиленовый синий) бактерии формируют тёмно-синие колонии с металлическим блеском, а лактоза-отрицательные бесцветные, на среде Плоскирева (МПА, лактоза, цитрат натрия, бриллиантовый зеленый, желчные кислоты, цитрат железа, минеральные соли, индикатор красный) колонии красные с жёлтым оттенком или бесцветные.



Ферментативные свойства. *E. coli* по способности ферментировать лактозу разделяют на лактоза-отрицательные и лактоза-положительные. Бактерии этого рода обладают следующими свойствами: продукция кислоты и газа при ферментации глюкозы, ферментация лактозы, неспособность образовывать сероводород, продукция индола.



Антигенные свойства. Имеет сложную антигенную структуру: О-антиген соматический-173 серогрупп, К-антиген капсульный или поверхностный - 97 серогрупп, Н-антиген жгутиковый – 57 серогрупп.

У человека кишечная палочка вызывает различные кишечные инфекции, поражения бактериемии, гастроэнтериты, мочевыводящих путей, холициститы, циститы, менингиты и др.

E. coli, разделяют на пять основных категорий — энтеротоксигенные, энтероинвазивные, энтеропатогенные, энтерогеморрагические и энтероадгезивные. Основной путь передачи является фекально-оральный.

Токсинообразование и патогенность.

Энтероинвазивные *E. coli* → проникают и размножаются в клетках эпителия кишечника → кодируют синтез поверхностных белков → инвазия в клетки слизистой кишечника → дизентериеподобное заболевание (водянистый стул с примесью крови). Серологические группы: O-124, O-144, O-152

Энтеропатогенные *E. coli* → проникают → адгезией на эпителии → повреждает микроворсики кишечника (продукция шигоподобного токсина), при этом нет инвазией в его клетки. Серологические группы: O-55, O-111, O-26, O-18,

Энтерогеморрагические *E. coli* → размножение на поверхности апикальной поверхности эпителия → продукция шигоподобного токсина вызывая геморрагической диареи (геморрагического колита) и гемолитического уремического синдрома с почечной недостаточностью. Серологические группы: O157:H7 и O157:HNM

Энтероадгезивные *E. coli*, эти бактерии не проникают в клетки эпителия и не образуют цитотоксины, но имеют плазмидный фактора адгезии, существующего у EPEC.

Энтеротоксигенные *E. coli* → пили → облегчают адгезию на эпителии → колонизация в нижние отделы тонкой кишки → выделяют энтеротоксины → усиливает синтез АМФ (цАМФ) → нарушая транспорт электролитов → потере внутриклеточной жидкости.

Резистентность. *E. coli* устойчивые к факторам окружающей среды. Они сохраняются в воде и почве в течении нескольких месяцев, погибают при нагревании 15-20 мин, погибают 3 % растворе хлорамина через несколько минут.

Микробиологическая диагностика. Исследуемым материалом является — кровь, гнойное отделяемое СМЖ, моча и др.

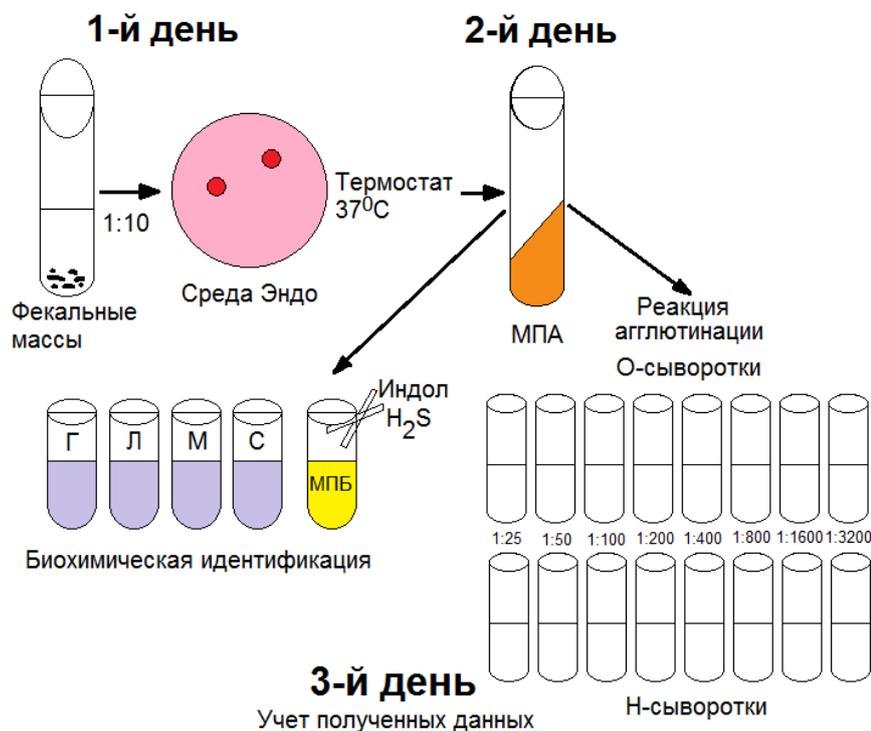
Бактериологический метод.

- посев на дифференциально-диагностические среды (Эндо, Левина, Плоскирева).
- для определения ферментативной активности используют среду Гисса.

Серологический метод.

- Из изолированных колоний используют реакцию агглютинации с поливалентными O, K сыворотками.

Профилактика. Специфической иммунопрофилактики не существует. Соблюдение санитарно-гигиенических правил.



Вопросы по теме для контроля.

1. Морфологические признаки энтеробактерий.
2. Культуральные признаки энтеробактерий.
3. Биохимические признаки энтеробактерий.
4. Антигенная структура энтеробактерий.
5. Локализация энтеробактерий в организме.
6. Бактерионосительство.
7. Основные свойства эшерихий.
8. Физиологическая роль эшерихий в кишечнике человека и санитарно-показательное значение.
9. Патогенные серовары эшерихий.
10. Значение эшерихий в патологии человека.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. У группы людей через 18-24 часа после купания в местном водоёме появились признаки острой кишечной инфекции.

1. Какие микроорганизмы могли вызвать это заболевание?
2. Какой материал от больного следует взять на исследование?
3. Какой метод следует применить для постановки микробиологического диагноза?

Задача-2. При посеве на среду Эндо испражнений больного ребёнка с подозрением на колиэнтерит выросли колонии красного цвета.

1. Какие бактерии (вид, серовары) могли вызвать данное заболевание?
2. Каким образом можно подтвердить предварительный микробиологический диагноз?

Задача-3. В детском коллективе наблюдается вспышка острых кишечных заболеваний, соответствующих по клинической картине дизентерии. Заболевания связаны по времени с поступлением на работу новой няни.

1. Какие микробиологические исследования необходимо провести с целью установления источника инфекции?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства эшерихий.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителей колиэнтеритов.
3. Изучение факторов патогенности возбудителей колиэнтеритов.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителей колиэнтеритов.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику колиэнтеритов.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

ШИГЕЛЛЫ (род *Shigella*).

Шигеллы — это кишечные патогенные бактерии вызывающие бактериальную дизентерию или шигеллёз. По биохимическими свойствами известные 40 сероваров шигелл которые делятся на 4 вида: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*.

Морфологические свойства. Прямые неподвижные грамотрицательные палочки с закругленными концами, капсул не образуют но имеют фимбрии.

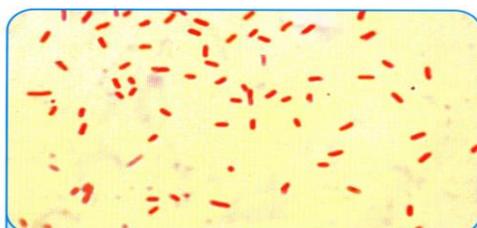


Рис. Мазок из чистой культуры *S. Flexneri*. Окраска по Граму
Шигеллы — прямые грамотрицательные палочки с закругленными концами (0,7–1,0 x 1–3 мкм). Неподвижны (не имеют жгутиков). Факультативные анаэробы. По O-антигенам выделяют 45 сероваров внутри видов *S. dysenteriae*, *S. Flexneri*, *S. boydii*. У некоторых шигелл обнаруживают K-антиген. Вирулентность связана с плазмидой инвазии, которая имеется у всех шигелл. Плазмида детерминирует синтез Ipa BCD-инвазинов (invasion plasmide antigen) — белков, входящих в состав наружной мембраны



Колонии шигелл на среде Эндо

Культуральные свойства. Шигеллы растут на простых питательных средах. На плотных средах образуют (S-), (R-) колонии. S-колонии гладкие, круглые, полупрозрачные, куполообразные. R-колонии с шероховатой поверхностью с неровными краями. На жидких средах образуют равномерное помутнение и придонный осадок. Для идентификации шигелл по биохимическим свойствам лактоза⁺ от лактоза⁻ используем среду Эндо (МПА, лактоза, фуксин, сульфит натрия) колонии лактоза-положительные окрашиваются в красный цвет с металлическим блеском, а лактоза-отрицательные бледно-розового цвета. На среде Левина (МПА, лактоза, калий гидрофосфат, натрий хлор, метиленовый синий) бактерии формируют тёмно-синие колонии с металлическим блеском, а лактоза-отрицательные бесцветные, на среде Плоскирева (МПА, лактоза, цитрат натрия, бриллиантовый зеленый, желчные кислоты, цитрат железа, минеральные соли, индикатор красный) колонии красные с жёлтым оттенком или бесцветные.

Резистентность. Резервуар для шигеллёзов является только человек. Источник инфекции для шигеллёза это больные люди и бактерионосители. Основной путь передачи — фекально-оральный, а также контактно-бытовой, также роль играют насекомые-переносчики это мухи, тараканы и др. Шигеллы устойчивы во внешней среде от нескольких дней до нескольких месяцев. При кипячении — мгновенно, при 60 °С погибают в течение 15-20 мин. Шигеллы чувствительны к действию дезинфицирующих средств которые содержат хлор.

Ферментативные свойства.

	Ферментация углеводов					Индол
	лактоза	глюкоза	маннит	мальтоза	сахароза	
Бактерии дизентерии Григорьева — Шига	—	+	—	—	—	—
Бактерии дизентерии Штуцер — Шмитца	—	+	—	—	—	+
Бактерии дизентерии Лардж — Сакса	—	+	—	±	—	—
Бактерии дизентерии Флекснера:						
а) подвид Флекснера	—	+	+	±	±	±
б) подвид Ньюкестл	—	+	±	±	—	—
		иногда газ				
в) подвид Бойда	—	+	+	—	—	±
Бактерии дизентерии Зонне	+	+	+	±	+	—
	со 2-го по 10-й день					

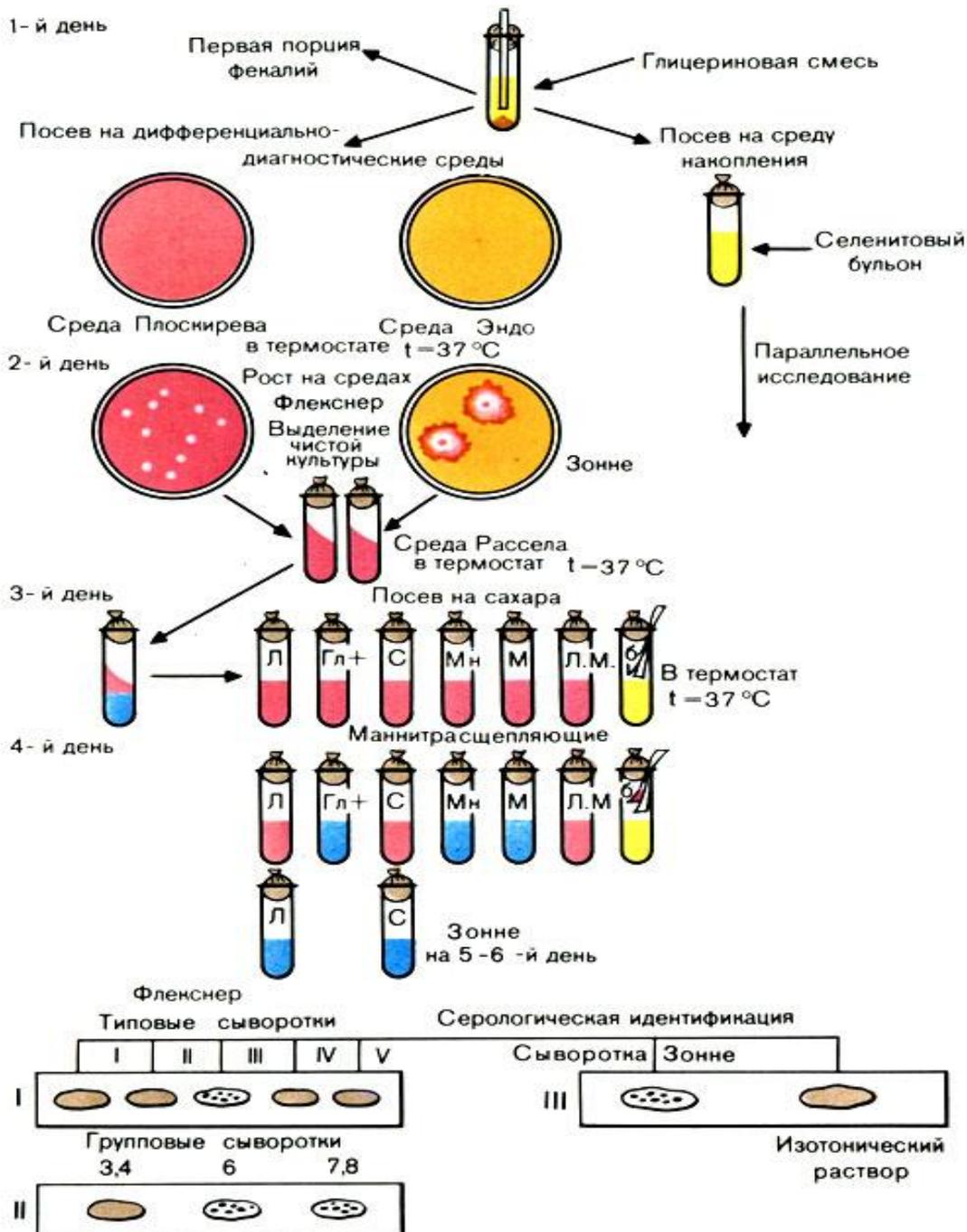
Антигенные свойства. Термолабильные и термостабильные и антигены.

Токсинообразование и патогенность. Шигеллы → проникают в эпителий слизистой оболочки толстой кишки → размножаться (выброс шиг токсина) → массовая гибель эпителиальных клеток → дефект слизистой оболочки → проникновение бактерий ткани → воспалительная реакция → выход форменных элементов крови в просвет кишечника.

Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал испражнения. Целью бактериологического исследования — определение биохимических признаков и антигенной структуры возбудителя шигеллёза.

Бактериологический метод. Посев на дифференциально-диагностические среды Эндо и Плоскирева, либо на жидкую селенитовую среду накопления, после, делаем пересев на дифференциально-диагностические среды. После выделения чистых культур из изолированных колоний определяют биохимические свойства т.е. видовую принадлежность.

Серологический метод. Используют РНГА используются стандартные диагностикумы и определения групповой принадлежности.



Профилактика. Вакцинацию не проводится. Соблюдение санитарно-гигиенических правил профилактики кишечных инфекций.

Вопросы по теме для контроля.

1. Биологические свойства шигелл.
2. Классификация шигелл.
3. Роль шигелл в патологии человека.
4. Роль токсинов шигелл и ферментов патогенности.
5. Патогенез дизентерии.
6. Методы микробиологической диагностики дизентерии.
7. Специфическая профилактика и лечение дизентерии.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. Больному при поступлении в больницу был поставлен клинический диагноз «дизентерия». Однако при бактериологическом исследовании фекалий шигелл обнаружить не удалось.

1. Чем это можно объяснить?
2. Какие бактерии могли вызвать подобное заболевание и как оно называется?
3. Каким образом можно выделить и идентифицировать возбудителя (метод исследования, методы идентификации, серовары)?

Задача-1. В населённом пункте зарегистрирована вспышка дизентерии. Из фекалий больных людей выделена культура шигелл Флекснера.

1. На основании каких признаков были идентифицированы выделенные шигеллы?
2. Какие объекты подлежат бактериологическому исследованию для установления источника инфекции?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства шигелл.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя дизентерии.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя дизентерии.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя дизентерии.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику дизентерии.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

SALMONELLA (род *Salmonella*)

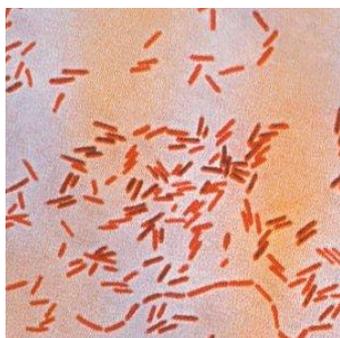
Род включает лишь один вид — *Salmonella enterica* (*S. enteritidis*) и семь подвигов: *S. cholerae-suis*, *S. salamae*, *S. arizonae*, *S. diarizonae*, *S. houtenae*, *S. indica* и *S. bongori*.

БРЮШНОЙ ТИФ И ПАРАТИФЫ

Брюшной тиф это острые кишечные заболевания, при которых отмечается бактериемия, с поражением лимфоидного аппарата кишечника и интоксикацией.

Таксономия. Брюшной тиф - *S. Typhi*, возбудитель паратифа А— *S. paratyphi A*, возбудитель паратифа В — *S. Schotmulleri*, возбудитель паратифа С — *S. Hirschfeldii*.

Морфологические свойства. Сальмонеллы мелкими, грамтрицательные с закруглёнными концами, спор не образуют, имеют микрокапсулу, перитрихи, размер 0,8-х 5 мкм.



Культуральные свойства. Сальмонеллы растут на элективных средах с добавлением желчи (среда Плоскерева - МПА, лактоза, цитрат натрия, бриллиантовый зеленый, желчные кислоты, цитрат железа, минеральные соли, индикатор красный). На висмут-сульфит агаре (МПА, глюкоза, натрий сернистый кислый, натрий фосфат, висмут цитрат, дрожжи, соль Мора) образуют черно-коричневые, с металлическим блеском. На среде Эндо (МПА, лактоза, фуксин, сульфит натрия) образуют колонии розового цвета так, как не расщепляют лактозу. Являются факультативными анаэробами.



Биохимические свойства.

Вид бактерии	Ферментация					Образование		
	Лактозы	Глюкозы	Мальтозы	Сахарозы	Маннита	H ₂ S	NH ₃	Индола
<i>S. typhi</i>	-	К	К	-	К	+	-	-
<i>S. paratyphi A</i>	-	КГ	КГ	-	КГ	-	-	-
<i>S. schottmuelleri</i>	-	КГ	КГ	-	КГ	+	+	-

- Ферментируют глюкозу с образованием кислоты И газа, за исключением *S. typhi* – только до кислоты
- НЕ ферментируют лактозу
- НЕ образуют индол
- Образуют H₂S (за исключением *S. paratyphi A*)

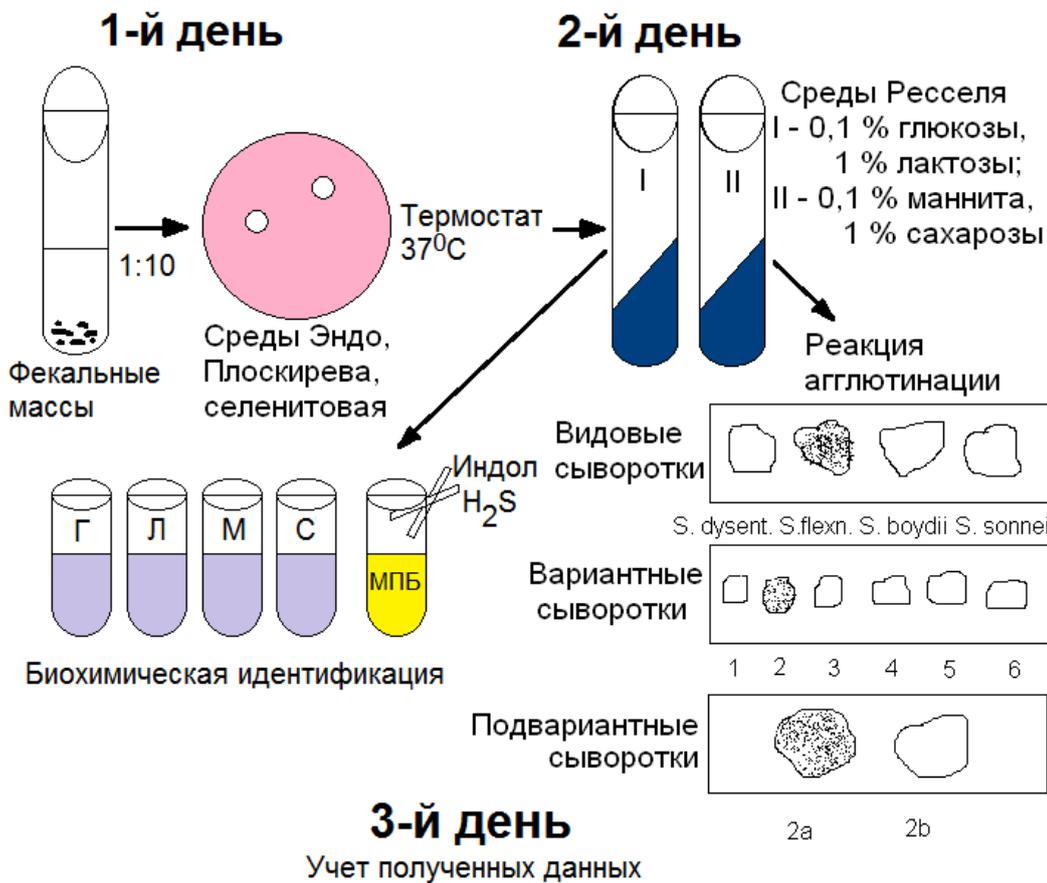
Антигенные свойства. Сальмонеллы имеют О-(соматический, термостабильный), Н-(жгутиковый, термолабильный), К-(капсульный, поверхностный), Vi (вирулентный, белково-полисахарид) антигены, все антигены сальмонеллы классифицируются по Кауфману-Уайту.

Токсинообразование и патогенность.

Сальмонеллы → адгезия к клеткам эпителия (пили) → попадают → эндоцитоза базальная мембрана → кровоток → размножаться в фагоцитах → эндотоксин → кровоток (вторичная бактериемия) → инфицирование различных органов → инфекционно-токсический шок → вторичной инвазии эпителия → кровотечение и перфорация (повреждение пейеровых бляшек) →

Резистентность. Сальмонеллы очень долго сохраняют свою жизнеспособность во внешней среде: в открытых водоёмах и питьевой воде живут 10-150 сут, в почве — 1-10 мес, в морской воде — 15-30 сут, в комнатной пыли — 50-550 сут, в колбасных (мясных) изделиях — 50-140 сут, порошке — до 9 мес, в замороженном мясе — 7-15 мес, в яйцах - до 15 мес, в замороженных овощах и фруктах — 1-3 мес.

Микробиологическая диагностика. Материалом для микробиологического исследования: промывные воды желудка, рвотные массы, испражнения, кровь, мочу. При брюшном тифе можно исследовать кожные высыпания, СМЖ, жёлчь, содержимое двенадцатиперстной кишки, а также секционный материал, но для дополнительного исследования используют объекты — остатки пищи, корма животного и растительного происхождения. Исследуемый материал помещают на среды обогащения на селенитовый, 20% жёлчный бульон, а также используют дифференциально-диагностические среды висмут-сульфитный агар, среда Плоскирева, среды Эндо и Левина. На плотных средах возбудитель паратифа В может давать феномен радужного венчика. На висмут-сульфитном агаре возбудители паратифа А образует зеленоватые колонии. В последующем выбирают бактерии которые ферментируют глюкозу, культуры пересевают на среду Гисса и полужидкий агар для определения подвижности возбудителей.



Серологический метод. Используется РА (для определения различных форм носительства) на стекле с О- и Н-поливалентными антисыворотками, а затем моновалентными антисыворотками (реакция Видала). Используемая на ранних стадиях заболевания, где выявляется нарастание титров АТ. Для выявления антител в крови больных и реконвалесцентов (период выздоровления) применяют РПГА с поливалентными эритроцитарными диагностикумами, которые содержат О-Аг серогрупп А, В, С, D и E

Серологические методы

Реакция Видала

- Развернутая реакция агглютинации
- Ставится с 4 диагностикумами
- Диагностический титр 1:200

Компоненты	Номера пробирок						
	1	2	3	4	5	6 кс	7 кд
Полученное разведение сыворотки	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:100	-
О-диагностикум S.typhi							
Н-диагностикум S.typhi							
Диагностикум S.Paratyphi A							
Диагностикум S.Paratyphi B							



Положительная реакция Видала только с Н-диагностикумом указывает либо на ранее перенесенное заболевание (анамнестическая реакция), либо появляется в результате вакцинации (прививочная реакция).

Профилактика. Ветеринарно-санитарные, санитарно-гигиенические и противоэпидемические мероприятия. Специфическую иммунопрофилактику не проводят; но для предупреждения брюшного тифа разработано три типа вакцин — живая аттенуированная (штамм Ty21a), убитая, и вакцина состоящая из Vi-Ag *S. typhi*.

Вопросы по теме для контроля.

1. Классификация сальмонелл по Кауфману-Уайту
2. Патогенность сальмонелл для человека и животных.
3. Морфологические свойства возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
4. Культуральные свойства возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
5. Биохимические свойства возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
6. Антигенные свойства возбудителей брюшного тифа и паратифов А и В.
7. Патогенез брюшного тифа и паратифов А и В.
8. Патогенетические основы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов А и В.
9. Методы микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов А и В.
10. Специфическая профилактика и лечение брюшного тифа и паратифов А и В.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. В бактериологическую лабораторию поступил запрос на необходимость проведения бактериологического исследования для диагностики брюшного тифа (5-е сутки болезни).

1. Какой материал от больного будет взят для исследования и в каком количестве?
2. Какая питательная среда и в каком количестве будет приготовлена? Объясните Ваше решение.

Задача-2. Человек, переболевший брюшным тифом, был выписан из стационара после трёхкратного отрицательного ответа при бактериологическом исследовании фекалий. Через месяц в его семье зарегистрировано то же заболевание.

1. Мог ли переболевший явиться источником инфекции?
2. Какое исследование следует провести для проверки данного предположения?
3. Какой материал от переболевшего будет взят для исследования?
4. Как Вы докажете, что именно переболевший явился источником инфекции?

Задача-3. Человек, переболевший брюшным тифом, хочет работать в пищеблоке.

1. Можно ли допустить его к этой работе?
2. Какие исследования следует провести для решения этого вопроса?
3. Какой материал будет взят для исследования

Задания для самостоятельной работы.

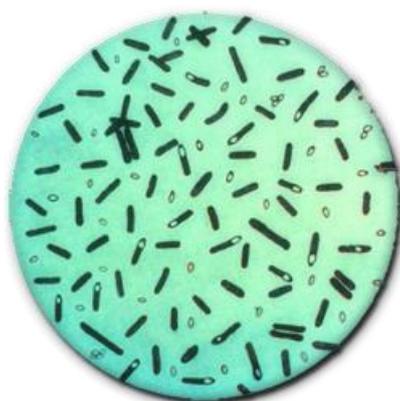
1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства сальмонелл.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя брюшного тифа.
3. Изучение факторы патогенности возбудителя брюшного тифа.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя брюшного тифа.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику брюшного тифа.

ВОЗБУДИТЕЛИ ПИЩЕВЫХ ТОКСИКОИНФЕКЦИЙ: БОТУЛИЗМ, САЛМОНЕЛЛЁЗ.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ БОТУЛИЗМА.

Таксономия: семейство Bacillaceae, род Clostridium, вид Cl.botulinum (от лат. botulus – колбаса).

Морфологические свойства. Грамположительные палочки с закругленными концами, длина 5-11 мкм, (перитрихи), капсул не имеет, споры терминально или субтерминально расположенные, напоминают теннисную ракетку, по методу Ожешко споры окрашиваются в красный цвет, а вегетативные палочки – в синий цвет.



CLOSTRIDIUM BOTULINUM



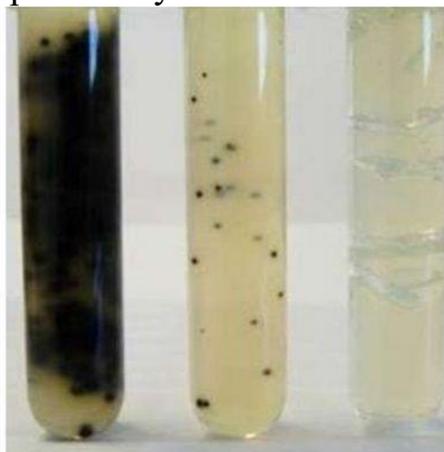
Культурные свойства. Клостридии являются строгие анаэробы. Температура культивирования 25-35 °С. На кровяном агаре образуют S - колонии крупные, круглые, окруженные зоной гемолиза. В столбняке агара клостридии могут быть двух форм: S-формы в виде пушинок и R-формы чечевице. В жидких средах (на среде Китта-Тароцци МПБ, глюкоза, гидролизат рыбы или мяса)– образуют равномерную мутность, образование газа. Растут на казеиновых или мясных

средах, цвет колоний коричневый или серовато-мутный.

Рост на ППС: мелкие сероватые или желтоватые мутные колонии линзообразной формы с зоной гемолиза различной ширины. На печеночном агаре образуют полиморфные звездчатые колонии

В столбике агара можно обнаружить: R-формы имеют форму чечевичных зерен, S-формы — перьев.

Рост на ЖПС: помутнение среды и газообразование

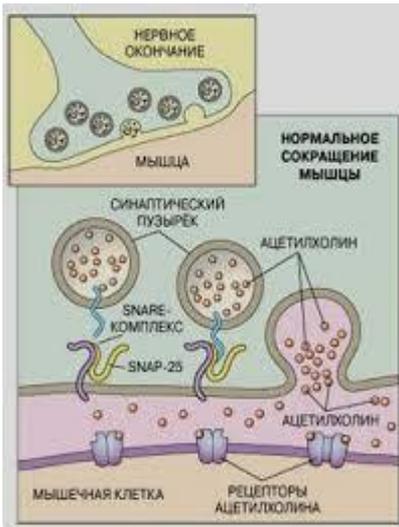


Биохимические свойства. Сахаролитические свойства выражены только у типов А и В (расщепляют углеводы: глюкозу, мальтозу, глицерин, фруктозу, левулез с образованием кислоты и газа). Тип С, G слабовыраженные сахаролитические свойства. Протеолитические свойства не у всех штаммов, тип А и В гидролизуют казеин и образуют сероводород, в средах Китта-Тароцци клостридии расплавляют кусочки печени.

Антигенная структура. Имеют О и Н- антигены. Однако, по ним идентификация возбудителя не проводится. По антигенной специфичности токсина различают 8 сероваров: А, В, С₁, С₂, Е, F, G. Тип токсина определяется в реакции нейтрализации с соответствующими антитоксическими сыворотками.

Патогенез. Экзотоксин (нейротоксин-самый сильный биологический яд) → попадая в ЖКТ → проникает в кровь → поражает ЦНС (поражаются бульбарные нервные центры) → действуя на мотонейроны спинного мозга → ядра продолговатого мозга → нарушение передачи возбуждения с нерва на мышцу → изменяет чувствительность ацетилхолинового рецептора к действию медиатора → блокируется передача нервного импульса (нарушается походка, зрение, глотание, возникает асфиксия).

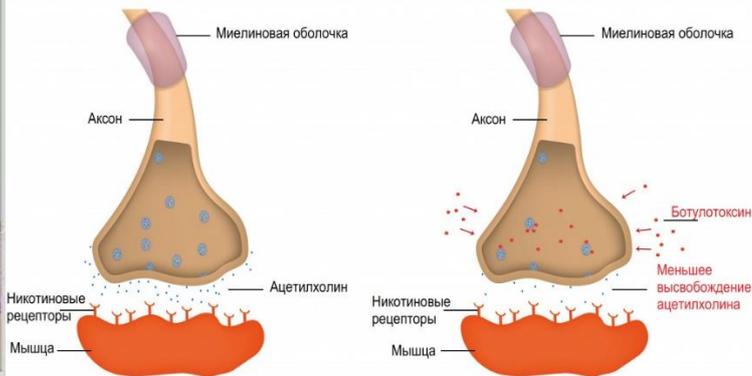
Резистентность. Клостридии обитают в почве. При кипячение в течение 1-5 часов споры погибают, при 110-120 °С – через 10-20 мин. Вегетативные формы погибают при 80 °С в течение 30 мин. Большие куски мясных продуктов сохранившиеся в банках большой емкости жизнеспособность спор после автоклавирования при 120 °С в течение 15 мин, 10 % соляная кислота убивает споры через 1 час, при 2-3 % растворе уксусной кислоты при рН 3-4,5 споры прекращают прорастать. Ботулотоксин – устойчив к действию солнечного света при кипячении разрушается в течение 15 мин., при высоких концентраций хлорида натрия погибает в течении 1 часа, резистентен к действию протеолитических ферментов ЖКТ.



ОТРАВЛЕНИЕ БОТУЛОТОКСИНОМ

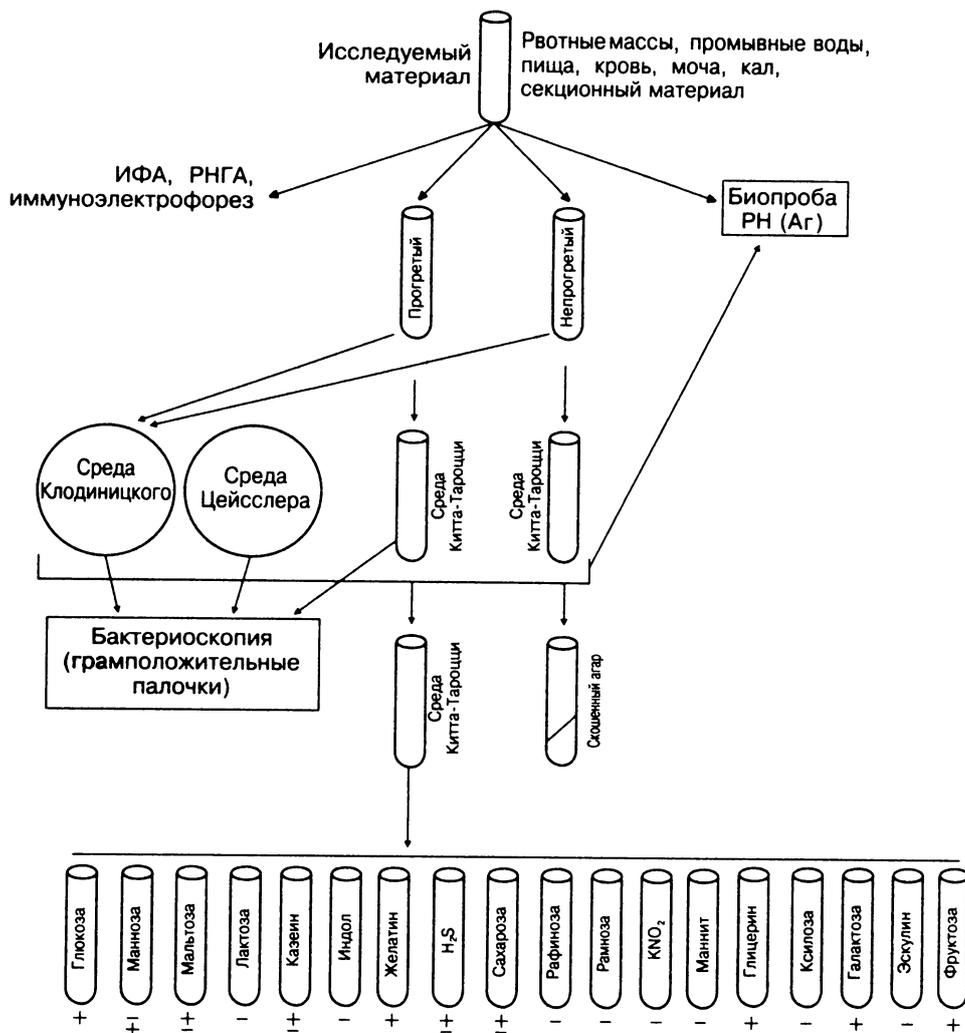
Здоровое нервно-мышечное соединение

Нервно-мышечное соединение при отравлении ботулотоксином



Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал: рвотные массы, фекалии, моча, кровь, секционный материал. В крови определяют токсин, в кале возбудитель, а в других исследуется на токсин и бактерии (исследование проводится одновременно).





Профилактика: А) специфическая – назначают поливалентную противоботулиническую сыворотку и ботулинический анатоксин, после определения типа возбудителя назначаем типовые противоботулинические сыворотки. Б) неспецифическая – соблюдение правил термической обработки продуктов (консервированные продукты автоклавируют 20-40 мин при температуре 120 °С), а также необходимо вносить в продукты ингибиторы: нитриты.

Лечение и профилактика ботулизма

Специфическая терапия

сыворотка противоботулиническая лошадиная



Неспецифическая терапия

Промывание желудка, кишечника
Гемосорбция
Плазмоферез

Неспецифическая профилактика

Соблюдение технологии заготовки консервов

Вопросы по теме для контроля.

1. Культуральные свойства клостридий ботулизма.
2. Биохимические свойства клостридий ботулизма.
3. Антигенные свойства клостридий ботулизма.
4. Факторы патогенности клостридий ботулизма.
5. Ботулотоксины.
6. Патогенез ботулизма.
7. Антитоксический иммунитет ботулизма.
8. Лабораторная диагностика ботулизма.
9. Специфическая профилактика и лечение ботулизма.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. После употребления грибов домашнего консервирования в семье отмечено два случая отравления с неврологическими симптомами.

1. Ваш предварительный диагноз?
2. С помощью какого лабораторного исследования может быть выяснена этиология данного заболевания?
3. Какой препарат необходимо экстренно назначить больным?

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА САЛМОНЕЛЛЕЗОВ.

Сальмонеллезы – группа кишечных инфекционных болезней.

Таксономия. Сем. Enterobacteriaceae, Род: Salmonella.

Госпитальные штаммы сальмонелл

- *S. typhimurium*
- *S. enteritidis*
- *S. heidelberg*
- *S. haifa*
- *S. infantis*
- *S. munche*

Морфологические свойства. Сальмонеллы мелкими, грамотрицательные с закруглёнными концами, спор не образуют, имеют микрокапсулу, перитрихи, размер 0,8-х 5 мкм.

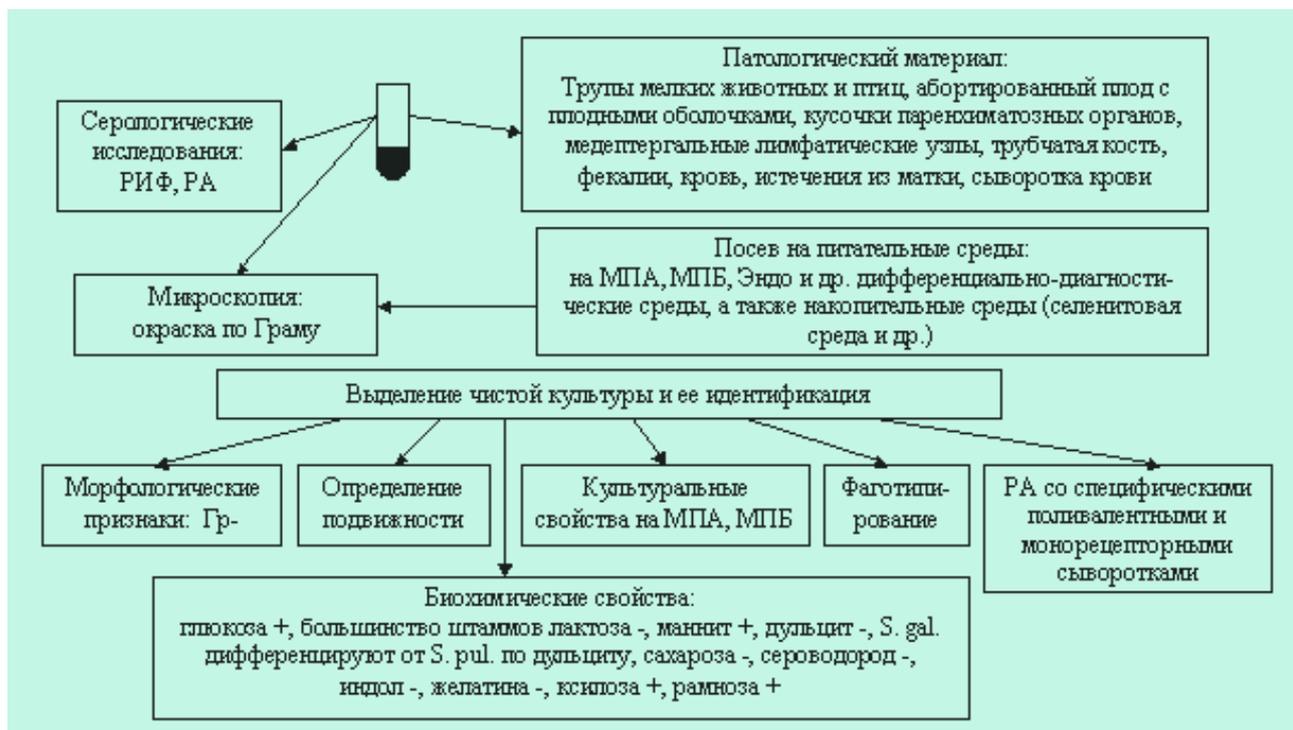


Патогенез и факторы вирулентности: основные пути заражения при сальмонеллёзе это алиментарный, фекально-оральный, трансвариальный. Сальмонеллы → размножаются в тонком кишечнике → гематогенно и лимфогенно → паренхиматозные органы → размножаются → эндотоксины → вызывают патологические процессы.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования при жизни является сыворотка крови, кал, остатки пищи, рвотные массы, а если посмертно то исследуемый материал это мезентеральные лимфатические узлы, абортёрванный плод, трупы мелких животных и птиц, паренхиматозные органы. Применяем для культивирования дифференциально-диагностические среды – Эндо, Левина, Плоскирева, Гисса, висмут-сульфит агар, накопительные среды.



При необходимых случаях заражают белых мышей подкожно для выявления биологических, токсических свойств. Используют реакцию агглютинации (реакция Видала) с сывороткой крови при диагностике сальмонеллёза. и определения их вида и сероварианта, а также используется РИФ.



Вопросы по теме для контроля.

1. Принципы классификации сальмонелл - возбудителей острых гастроэнтеритов.
2. Факторы патогенности сальмонелл.
3. Патогенез сальмонеллёзов.
4. Микробиологическая диагностика сальмонеллёзов.
5. Лечение сальмонеллёзов.
6. Сальмонеллы – возбудители внутрибольничных инфекций.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. В детском саду зарегистрирована вспышка сальмонеллёза, вызванная сальмонеллами тифимуриум.

1. Кто мог явиться источником инфекции?
2. Каким образом можно установить источник инфекции? (Указать материалы и метод исследования, методологические приёмы, используемые для установления источника).

Задача-2. Пищевое отравление у группы рабочих было связано с употреблением в пищу булочек с кремом, купленных в буфете предприятия.

1. Какие материалы от больных подлежат микробиологическому исследованию?
2. Какие материалы подлежат микробиологическому исследованию для установления источника инфекции?
3. Какие микробиологические исследования будут проведены для установления возбудителя заболевания?

Задача-3. В остатках продуктов, послуживших источником пищевого отравления, была обнаружена грамотрицательная палочка, которая по своим свойствам не могла быть отнесена к шигеллам, сальмонеллам или эшерихиям.

1. Какой микроорганизм мог явиться возбудителем данного заболевания?
2. Какое микробиологическое исследование надо провести для его идентификации?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства сальмонелл.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя сальмонеллёзов.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя сальмонеллёзов.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя сальмонеллёзов.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику сальмонеллёзов.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ОСОБО-ОПАСНЫХ ИНФЕКЦИЙ: СИБИРСКАЯ ЯЗВА, ЧУМА, БРУЦЕЛЛЕЗ, ТУЛЯРЕМИИ.

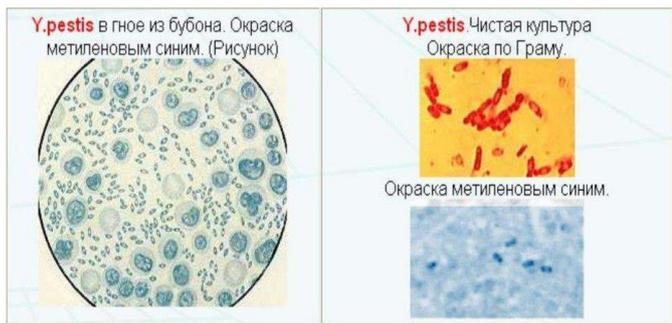
Особо опасные инфекции (ООИ) — это группа острых карантинных заболеваний человека, которые способны к быстрому распространению, внезапному появлению. ООИ характеризуются высокой летальностью и тяжелым течением. К ООИ относятся сибирская язва, туляремия, бруцеллез, арбовирусные инфекции, холера, геморрагические лихорадки, натуральная оспа и другие.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ ЧУМЫ

Чума — (Pestis, от лат. гибель), относится к особо опасным инфекциям, является острой природно-очаговой инфекцией и характеризуется сильной интоксикацией, лихорадкой, поражением кожи и лимфатических узлов с образованием бубонов.

Таксономия. Семейство Enterobacteriaceae, отдел Gracillicutes, род Yersinia, вид pestis.

Морфологические свойства. Чумная палочка грамотрицательная, овоидная, биполярно окрашенная палочка, склоны к полиморфизму, спор не образует, неподвижная, имеет капсулу.



9

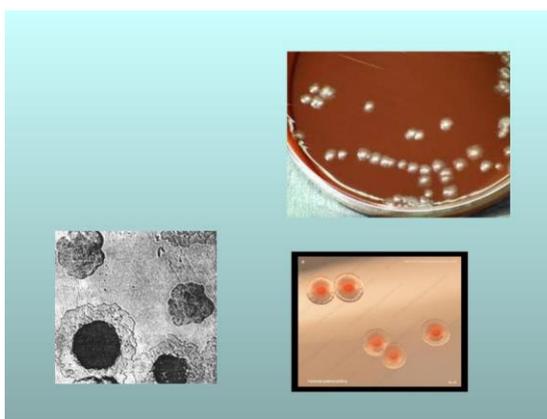


Культуральные свойства. Возбудитель не требователен к питательной среде, растёт на простой питательной среде, На МПА в первые часы инкубирования 8-12 ч иерсинии образуют блестящие колонии в виде «битого стекла», а в последующем вирулентные штаммы образуют S-колонии в виде «кружевных платочков» со светлым центром и резными краями. На МПБ образуют нежные нити спускающиеся на дно пробирки, на дне образуются хлопьевидные осадки. Для ускорения роста возбудителя добавляют в питательную среду стимуляторы: гемолитическую кровь и сульфит натрия.

Биохимические свойства. У иерсиний очень высокая. Не ферментирует сахарозу и рамнозу, не расщепляет мочевины, расжижает желатин, ферментируют декстрин

Культуральные свойства

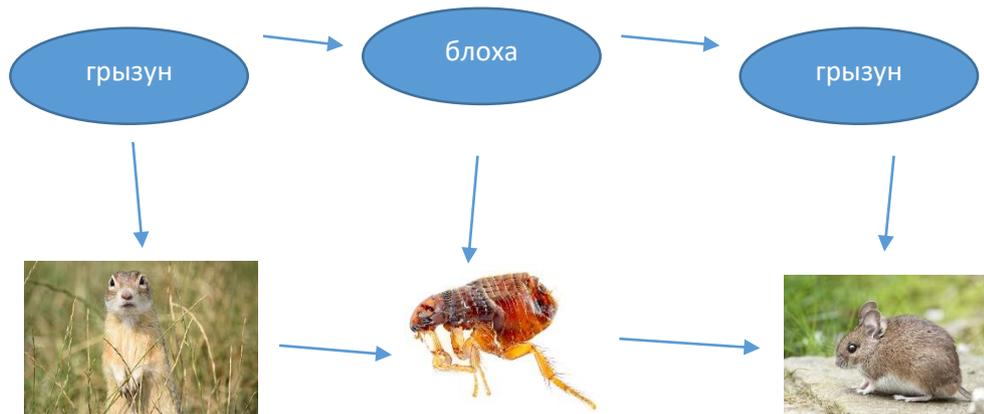
- Факультативный анаэроб
- Оптимальная температура его роста 28°C
- Растет на простых питательных средах
- Колонии – «кружевной платочек»



Антигенные свойства. Чумная палочка имеет комплексные антигены: O- Ag термостабильный и термолабильные капсульные антигены. F1-поверхностный капсульный антиген, W-ЛПС клетки, V-белок клеточной стенки.

Резистентность. Чумная палочка является психрофилами, вне организма возбудитель нестойк. Очень хорошо переносит низкие температуры 20-25° С. В замороженных трупах и блохах, в мокроте сохраняется до 10 суток. Чумная палочка при нагревании 50 ° С гибнет в течении 30 минут, а при кипячении гибнут моментально, прямой солнечный свет убивает возбудителя в течении нескольких минут.

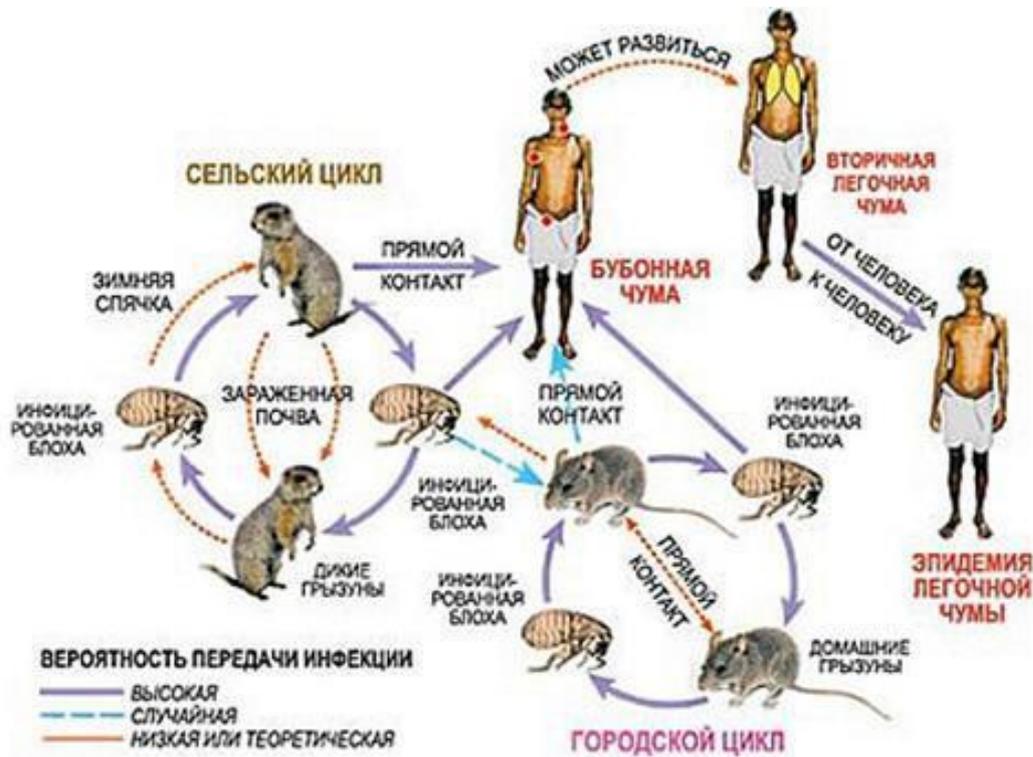
ТРАНСМИССИВНЫЙ МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ.



Пути передачи при чуме – трансмиссивный, контактный, аспирационный или воздушно-капельный, алиментарный. Источник инфекции является больной человек и больное животное. Контагиозность очень высокая при чуме. Сезонность заболевания связана с миграцией крыс. Иммуниетет – прочный, возможно повторные заболевания.

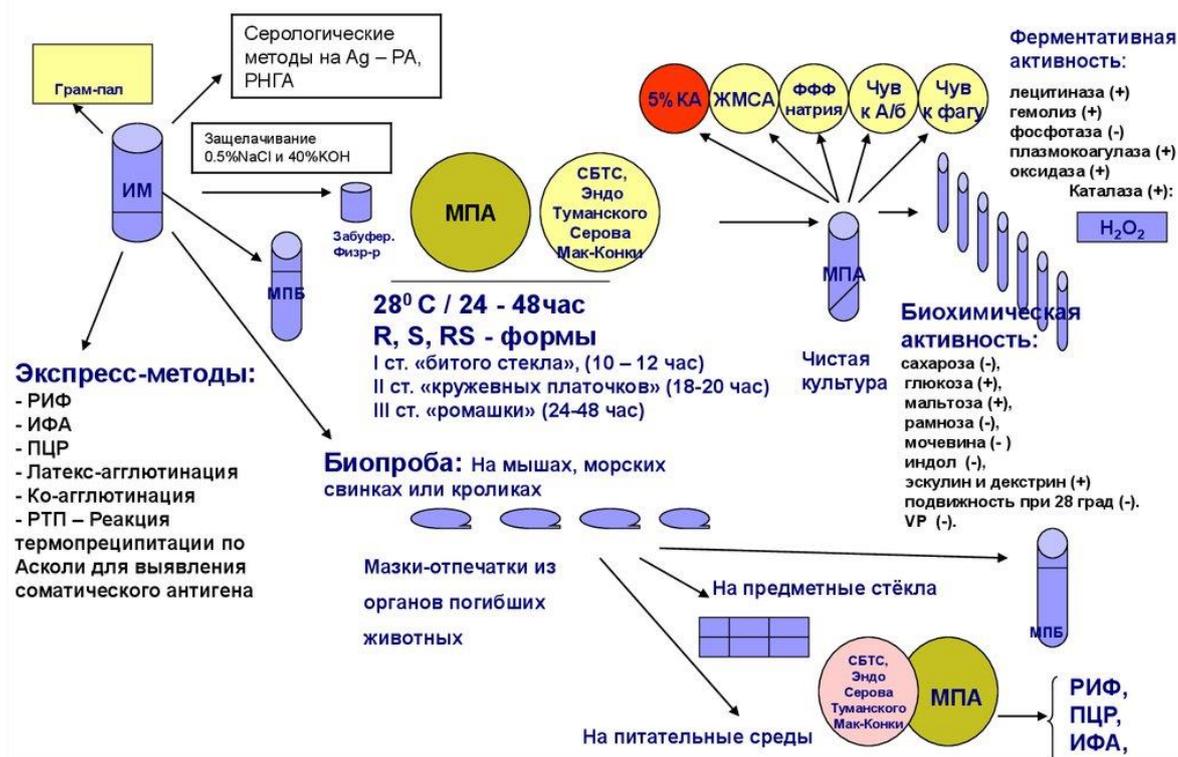
Патогенез. Обладают плазмокоагулазной, лецитиназной, гемолитической, фибринолитическую активностью. Вырабатывают мышинный токсин,

Чумная палочка → проникает в организм (алиментарным, респираторным, трансмиссивным) → регионарные лимфатические узлы → воспалительный процесс → первичный бубон → гематогенный занос геморрагическая септицемия.



Микробиологическая диагностика. Исследуемый материал при чуме является пунктат (бубон) из лимфатических узлов, мокрота, содержимое язв и кожных поражений, фекалия, моча, слизь, СМЖ. Исследуемый материал окрашиваем по Граму (гр- палочки с биполярным окрашиванием), Бурри-Гинсу (выявляем капсулу), Романовскому-Гимзе, метил синим. Делают посев на питательные среды: бульон Хотенгера, МПА, элективные среды для иерсиний. Заражают подкожно морских свинок и белых мышей.

Лабораторная диагностика чумы



Лечение: Используют антибиотики – препараты тетрациклинового ряда, стрептомицин.

Профилактика: Специфическая профилактика: используют живую ослабленную чумную вакцину EV (высушенная живая культура *Y. pestis*), также применяется сухая таблетированная вакцина для перорального применения. Можно использовать чумный бактериофаг – при идентификации *Y. pestis*.

Вопросы по теме для контроля.

1. Общая характеристика зоонозных инфекций
2. Морфологические свойства возбудителя чумы.
3. Культуральные свойства возбудителя чумы.
4. Биохимические свойства возбудителя чумы.
5. Антигенные свойства возбудителя чумы.
6. Патогенность возбудителя чумы для человека и животных.
7. Факторы патогенности возбудителя чумы.
8. Патогенез чумы.
9. Лабораторная диагностика чумы.
10. Специфическая профилактика и лечение чумы.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. В инфекционное отделение поступил больной, у которого заподозрили бубонную форму чумы.

1. Какой материал от больного будет взят для исследования?
2. Какие микробиологические исследования будут проведены для подтверждения диагноза?

Задача-2. У промыслового охотника через неделю после его возвращения с охоты на ондатру внезапно поднялась температура до 39°, появились резкие головные и мышечные боли и образовался в подмышечной области бубон.

1. Какие микроорганизмы могли вызвать подобное заболевание?
2. Какие микробиологические исследования должны быть проведены для диагностики данного заболевания?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства возбудителя чумы.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя чумы.
3. Изучение факторов патогенности возбудителя чумы.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя чумы.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику чумы.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ

Сибирская язва (Anthrax- с греч. уголь) – является зооантропонозной инфекцией. К этой инфекции восприимчивы многие животные, такие как травоядные. Болезнь протекает с явлениями септицемии, остро с образованием различной величины карбункулов.

Таксономия. Семейство Bacillaceae, род Bacillus, вид anthracis.

Морфологические свойства. Бациллы это грамположительные, неподвижные, спорообразующие (спора располагается в центре) капсула образующие палочки напоминающие бамбуковую трость. Размер палочки 1-1,6 x 2,8-9,0 мкм. Споры не образуются в крови и сыворотке животных, в живом организме и не вскрытом трупе. При окрашивании располагаются в виде коротких, в виде цепочек или попарно расположенных палочек. Концы резко обрубленные, иногда палочки могут имеет вид обрубленного бамбука.

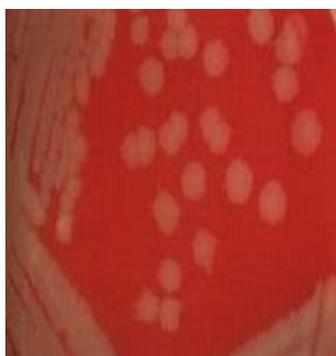


Культуральные свойства.

Бациллы являются факультативным анаэробом, растут на универсальных средах, таких как (МПБ, МПА, МПЖ, среды с добавлением картофеля и молока). На МПА бациллы образуют R-колонии серовато-беловатых тонкозернистых с серебристым оттенком, похожих на снежинки колоний, имеют шероховатую поверхность. На свернутой лошадиной сыворотке и сывороточном агаре образуют S-колонии, гладкие полупрозрачные которые тянутся за петлей.

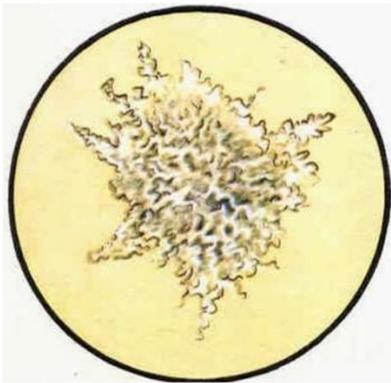
Рост *B.anthraxis* на МПЖ

➤ Медленно, послойно разжижает желатину (елочка, перевернутая вершиной)



21

На МПБ возбудитель образует белый осадок, жидкость прозрачная, осадок формирует мелкие хлопья. При посеве на желатиновый столбик появляется желтовато-белый стержень. Выросшая культура напоминает перевернутую верхушкой вниз елочку и постепенно желатин начинает разжижаться, сперва, применяет форму воронки, а потом мешочка. Бациллы в молоке вырабатывают кислоту и свертывают её и образуют сгусток. Также бациллы могут размножаться в 8-10-суточном курином эмбрионе, вызывает их гибель уже на 2-5 дне с момента заражения.

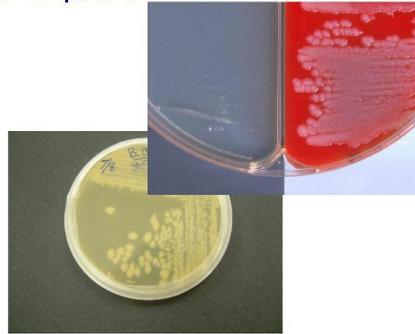


Колонии *Bac. anthracis* при малом увеличении



Рост *Bac. anthracis* в МПБ (суточная культура)

Рост бацилл на МПА и 5% КА



Биохимические свойства. Высокая ферментативная активность, сахаралитической, протеолитической, липолитической, расщепляет углеводы до кислоты, но без газа (глюкозу, мальтозу, сахарозу, трегалозу, фруктозу и декстрин). Не сбраживает маннит, арабинозу, галактозу, рамнозу, раффинозу, инулин, маннозу, дульцит, сорбит, но выделяют аммиак, некоторые штаммы могут образовывать сероводород. Восстанавливает нитраты в нитриты, реакция Фогеса - Проскауэра положительная.

Антигенные свойства. Бациллы имеют О-соматический, протективный, К-капсульный, белковый, летальный фактор, капсульный антиген кодируется плазмидами.

Патогенез. Бациллы → проникают в организм → (аэрогенно, алиментарно, контактно, при уходе за животным) → образуют язву или карбункул → отек → некроз в центре очага → через макрофаги, лимфогенно → кровь → септицемия → ЦНС → отек → Гипергликемия и активация щелочной фосфатазы → гипоксия.

Резистентность. Вегетативная клетка или форма не устойчива к факторам окружающей среды, в трупах может сохраняться до 4 дней. В замороженном мясе при минус 15°C жизнеспособна 15 дней, в засоленном мясе - до 1,5 мес. В навозная жиже, смешанной с сибиреязвенной кровью, погибает через 2-3 ч, споры же остаются в ней вирулентными в течение месяцев. В закрытых ампулах с бульонными культурами могут сохранять свою жизнеспособность и вирулентность до 60-70 лет, а в почве - более 60 лет. Возбудитель сибирской язвы высокочувствителен к пенициллину и левомицетину, а также к лизоциму. При кипячении в течении 5 мин бациллы погибают, а при автоклавировании в течении 40 мин, спорцидным эффектом обладают хлорамин и перекись водорода.

Лабораторная диагностика. Материалом для исследования является: мокрота, кровь, моча, содержимое карбункула, испражнения, кусочки органов, шерсть, щетину. Исследуемый материал окрашивают по Граму, обнаруживаются крупные, грамположительные палочки. Ожешко (для выявления спор, споры располагаются в центре, споры окрашиваются в красный цвет, а вегетативные палочки в синий),

по Бурри-Гинсу (выявление капсулы). Делаем посев на питательные среды: МПА, МПБ, МПЖ выявляем специфические колонии бацилл, «жемчужное ожерелье», «грива льва», «перевернутая ёлочка». А также используем **биологический метод** заражение белых мышей, морских свинок, кроликов по 0,5-1,0 мл материалом и одновременно делаем посев исследуемого материала на питательные среды. Проводим **идентификацию** возбудителя сибирской язвы от сапрофитных бацилл: *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. mycoides* и *B. subtilis* по культуральным, ферментативным, биохимическим признакам но основной признак является патогенность, образование капсул, отсутствие гемолиза, тест колонии в виде «жемчужного ожерелья», образование фосфатазы. ИФ тест, лецитиназная активность.



Серологическое исследование. РСК, РП, ИФА

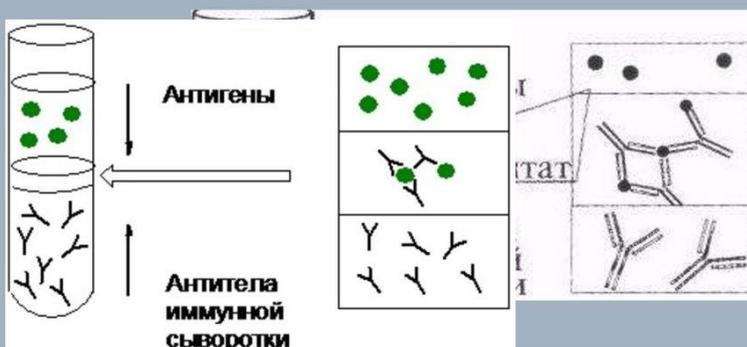
Реакция кольцепреципитации.

Проводят в узких преципитационных пробирках:
на иммунную сыворотку наслаивают растворимый антиген.

Результат: образуется непрозрачное кольцо преципитата

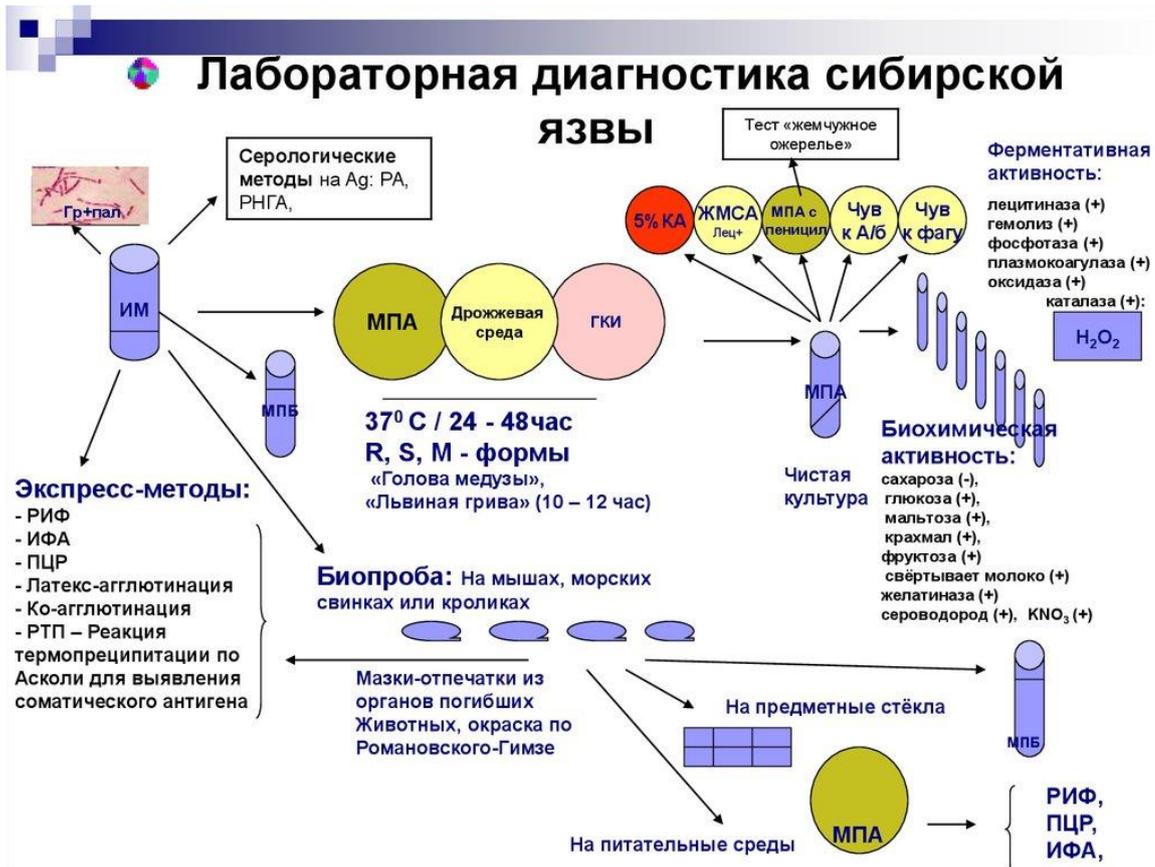
Реакция Асколи (при сибирской язве)

В качестве антигенов - прокипяченные и профильтрованные водные экстракты органов или тканей.



Иммунитет. После перенесенного заболевания формируются стойкий, клеточно-гуморальный иммунитет.

Профилактика. Проводится лицам контактирующими с животными, т.е профилактика



Профилактика и терапия сибирской язвы



Вопросы по теме для контроля.

1. Морфологические свойства бацилл сибирской язвы.
2. Культуральные свойства бацилл сибирской язвы.
3. Биохимические свойства бацилл сибирской язвы.
4. Антигенные свойства бацилл сибирской язвы.
5. Патогенность бацилл сибирской язвы для человека и животных.
6. Факторы патогенности бацилл сибирской язвы.
7. Патогенез сибирской язвы.
8. Лабораторная диагностика сибирской язвы.
9. Специфическая профилактика и лечение сибирской язвы

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. К врачу обратился больной, по специальности скорняк, с жалобами на лихорадку, общее недомогание. При осмотре на коже в области запястья обнаружен карбункул.

1. Какие микроорганизмы могли вызвать заболевание?
2. Какие микробиологические исследования должны быть проведены для подтверждения предварительного диагноза?
3. Что может служить источником инфекции и как это доказать?
4. Какие антибиотики и иммунобиологические препараты необходимо назначить для лечения?

Задача-2. В лабораторию поступил материал (отделяемое карбункула) больного с подозрением на сибирскую язву. При микроскопии мазка, окрашенного по Граму, обнаружили крупные грамположительные палочки, окруженные капсулой и расположенные цепочками.

1. Ваш предварительный микробиологический диагноз?
2. Как проверить правильность Вашего диагноза?

Задача-3. В лабораторию поступил исследуемый материал (кожа из полушубка) для обнаружения возбудителя сибирской язвы.

1. Какую серологическую реакцию следует применить для этой цели?
2. Каким образом Вы будете экстрагировать сибирезвенный антиген?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства возбудителя сибирской язвы
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя сибирской язвы.
3. Изучение факторов патогенности возбудителя сибирской язвы.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя сибирской язвы.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику сибирской язвы.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА БРУЦЕЛЛЁЗА.

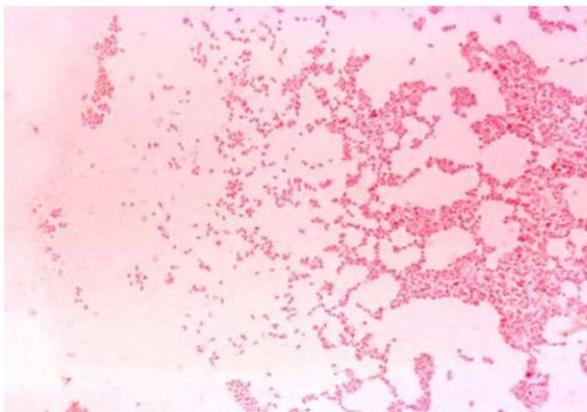
Бруцеллёз – антропозоонозное инфекционное заболевание, с поражением опорно-двигательного аппарата, ЦНС, ССС, интоксикацией с затяжным течением. Эти бактерии названы в честь Д. Брюса. Основными патогенными для человека являются только три вида бруцелл: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*. все эти три вида бруцелл патогенны для человека.

Таксономия: Род *Brucella*, Вид *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. abortus*.

Морфологические свойства. Бруцеллы грамотрицательные, мелкие коккобактериальные бактерии, лишены жгутиков, не образуют спор, и имеют капсулу.



Brucella melitensis (окраска по методу Грама)



Культуральные свойства. Бруцеллы очень требовательны к питательным средам они не растут на простых питательных средах, печеночные и мясопеченочные агары, растут на средах с добавлением нативного белка, сывороточно-декстрозный, аминокислот и других фактор роста. Размножаются очень медленно. На жидких средах бруцеллы образуют равномерное помутнение, на плотных средах образуют S-колонии, гладкие, выпуклые, прозрачные. На кровяном агаре гемолиза не образуют.

КОЛОНИИ БРУЦЕЛЛ НА ПЕЧЕНОЧНОМ АГАРЕ



21

Колонии бруцелл на кровяном агаре



MyShared

Ферментативные свойства. сахаролитические свойства выражены слабо,

протеолитические свойства – желатин не разжижают, молоко не свертывают, сероводород образуют Br. suis в меньшей степени Br. abortus.

Патогенез. Бруцеллы → через кожу, слизистые оболочки → лимфогенно → в лимфотические узлы → кровь → РЭС система (печень, селезенка, костный мозг) → повторно кровь → эндотоксин → интоксикация.

Иммунитет. После перенесенного заболевания формируется гуморальный и клеточный постинфекционный иммунитет. Повторные заболевания встречаются очень редко.

Лабораторная диагностика: Исследуемый материал является желудок, печень, почки плода, абортированный плод с оболочками, молоко и др.

Материал окрашивается по Граму. Делаем посев на питательные среды – печеночно-глюкозо-глицериновый бульон и агар (МГГБ и МГГА) с 10%-ной глюкозой и 2-3% -ным глицерином, мясо-пептонный печеночно-глюкозо-глицериновый агар (МППГГА), мясо-пептонный печеночный бульон (МППБ). На жидких питательных средах растет в виде равномерное помутнение, пристеночное кольцо, отмечается незначительный осадок.



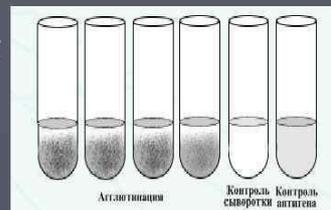
Серологический метод.

Схема реакции Райта

Схема реакции Хеддельсона	
I 0,04 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума	IV контроль диагностикума (Кд) 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума + 0,03 мл физ. раствора
II 0,02 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума	V контроль сыворотки (Кс) 0,02 мл сыворотки пациента + 0,03 мл физ. раствора
III 0,01 мл сыворотки пациента + 0,03 мл единого бруцеллёзного диагностикума	

Развернутая РА в пробирках

- ▶ 1. К разведениям сыворотки добавляют взвесь бактерий
- ▶ 2. **Агглютинация с О-Аг** (бактерии, убитые нагреванием) - в виде мелкозернистой агглютинации
- ▶ 3. **С К и Н -Аг** - крупнохлопчатая и протекает быстрее



Профилактика. Для плановой иммунизации проводится лицам работающими в животноводстве, ветеринары, зоотехники, мясники, кожеперерабатывающие организации, а также лица работающие с лабораторными животными .

Вакцинация против бруцеллёза проводится ежегодно.

Вакцина бруцеллёзная лечебная

содержит штаммы *Brucella melitensis* и *Brucella abortus*, инактивированные нагреванием



Вопросы по теме для контроля.

1. Классификация бруцелл.
2. Характеристика основных свойств бруцелл.
3. Морфологические признаки бруцелл.
4. Культуральные признаки бруцелл.
5. Биохимические признаки бруцелл.
6. Антигенное строение бруцелл.
7. Патогенность бруцелл для человека и животных.
8. Факторы патогенности бруцелл.
9. Патогенез и иммунитет при бруцеллёзе.
10. Методы микробиологической диагностики бруцеллёза.
11. Специфическая профилактика и лечение бруцеллёза.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. У больного подозрение на бруцеллёз. Идут 5-е сутки заболевания. Основным симптом – лихорадка. Необходимо микробиологическое исследование.

1. Что послужит материалом от больного для исследования?
2. С какой целью будет взят этот материал?
3. Что необходимо подготовить для реализации этой цели?

Задача-2. В лабораторию поступила кровь от больного с подозрением на бруцеллёз (18 сутки заболевания).

1. Какие методы исследования следует применить с диагностической целью?
2. Какова цель этих исследований?

Задача-3. У человека, длительно болеющего бруцеллёзом, каждый последующий рецидив протекает тяжелее предыдущего с выраженными явлениями специфической сенсибилизации.

1. Каким методом можно оценить степень специфической сенсибилизации организма?
2. Какой метод специфической иммунотерапии можно использовать в данном случае и как проконтролировать эффективность лечения?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства бацилл бруцелл.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя бруцелл.
3. Изучить факторы патогенности возбудителя бруцелл.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя бруцелл.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику бруцеллёза.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУЛЯРЕМИИ.

Туляремия – болезнь Франсиса, мышьяная болезнь, кроличья лихорадка, бактериальный зооноз, острая природно-очаговая инфекционная болезнь. Пути передачи: воздушно-пылевой, контактный, алиментарный, трансмиссивный, инфекция характеризуется лихорадкой, отмечается поражением в входных воротах: кожи, миндалин, глаз, легких и других органов.

Таксономия. Подкласс Proteobacteria, Семейство Francisellaceae, Francisella, род – Francisella, вид tularensis.

Морфология: Грамотрицательная, кокковидная или палочковидная 0,5—0,8 мкм, неподвижная, спор не образует, но имеет микрокапсулу.

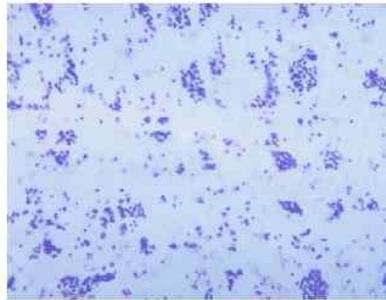
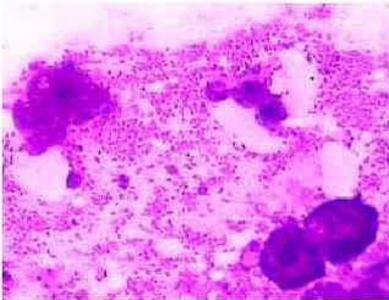
МОРФОЛОГИЯ

FRANCISELLA TULARENSIS

окр. по Романовскому- окр. метиленовым

Гимза

синим



Культуральные свойства. Франциселлы являются факультативные анаэробы. Используют специальные среды для выращивания франциселл: среда Френсиса- (МПА, натрий хлор, цистеин, глюкоза) образуются S- колонии гладкие, блестящие, круглые, выпуклые, с ровными краями колоний белого цвета. FT агар (РСА, глюкоза, витамины, селективные добавки) эта среда предназначена для культивирования и выделения чистой культуры туляремийного возбудителя. среда Мак-Коя (свернутая желточная среда, натрий хлор, пивные дрожжи, желтки (куриных яиц)), образуют R-колонии.

**Колонии франциселл
на желточном агаре**



Биохимические свойства. У возбудителей туляремии ферментативная активность очень низкая. Расщепляют мальтозу, глюкозу до кислоты, а белки расщепляют до сероводорода.

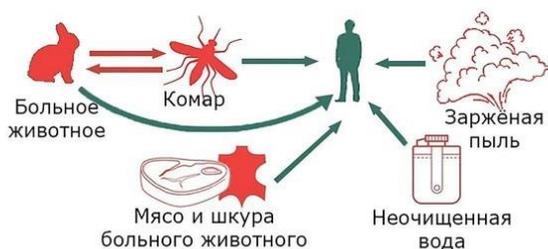
Антигенные свойства. Содержат О-аг (соматический), Vi аг (поверхностный), антигенная структура схожа с бруцеллёзными антигенами.

Патогенез. Факторы патогенности: микрокапсула, она угнетает фагоцитоз, нейраминидаза, эндотоксин, клеточная стенка (аллергенные свойства), рецепторы которые подавляют систему комплемента и макрофагов.

Возбудитель туляремии → через кровососущих членистоногих насекомых, алиментарным, аэрозольным, контактным путями в организм → первичное повреждение → региональные лимфатические узлы → размножаются → бубон → кровь → сепсис → вторичные бубоны (аллергические изменений).

Резистентность. Возбудители туляремии сохраняются в зерне и соломе до 5 месяцев, в трупах животных - до 9 месяцев, при кипячении, а 60 °С бактерии погибают в течении 10 минут, прямые солнечные лучи уничтожают бактерии за 30 минут, в замороженной воде могут сохраняются -до 9-10 месяцев, в молоке и молочных продуктах, сливках при 10-15 °С до 8-10 суток, бактерии чувствительны к дезинфицирующим и антисептическим средствам: этиловому спирту, лизолу, хлору, фенолу, сулему.

Пути передачи туляремии



Иммунитет. После перенесенного заболевания сохраняется длительный и пожизненный иммунитет.

4) Метод кожно-аллергических проб – 2-ой основной

- Для постановки пробы используют **тулярин**
- **Тулярин** – это взвесь инактивированных нагреванием франциселл вакцинного штамма
- Вводится **0,1 мл внутрикожно** в ладонную поверхность предплечья (есть тулярин для **накожного** применения)
- Учет реакции производится через **24 - 72 часа**
- Результат считается **положительным**, если образуется **инфильтрат и гиперемия размером не менее 5 мм в диаметре**
- У вакцинированных или переболевших людей проба остаётся положительной несколько лет. У больных проба становится положительной с 3 – 5 дня болезни

Лабораторной диагностика. Исследуемый материалом является: кровь, пунктат из бубона, отделяемое конъюнктивы, мокрота, соскоб из язв это зависит от клинической формы заболевания. А также исследуется павшие животные, воду, почву, клещей. Так как возбудитель имеет маленькие размеры, берутся отпечатки от патологического материала. Окрашиваются по Романовский- Гимзе, возбудитель окрашивается в темно-фиолетовый цвет, грамтрицательные окрашиваются в слабо-розовый цвет. На питательных средах (Френсиса, FT, Мак-Коя) возбудитель образует S-, R- колонии. Применяется биологический метод для заражения лабораторных животных тулярином.



Профилактика. Используется живая туляремийная вакцина содержащая атенуированного штамма F. Tularensis, лицам с природными очагами туляремии.

Вопросы по теме для контроля.

1. Биологические свойства возбудителя туляремии.
2. Патогенез туляремии.
3. Лабораторная диагностика туляремии.
4. Специфическая профилактика и лечение туляремии.
5. Морфологические свойства возбудителя туляремии.
6. Культуральные свойства возбудителя туляремии.

Ситуационные задачи по теме.

Задача-1. В лабораторию поступил труп водяной крысы.

- 1.Какой метод исследования следует использовать для выявления возбудителя туляремии?
- 2.Что необходимо приготовить для этой цели?

Задача-2. У промыслового охотника через неделю после его возвращения с охоты на ондатру внезапно поднялась температура до 39°, появились резкие головные и мышечные боли и образовался в подмышечной области бубон.

1. Какие микроорганизмы могли вызвать подобное заболевание?

2. Какие микробиологические исследования должны быть проведены для диагностики данного заболевания?

Задания для самостоятельной работы.

1. Изучить и освоить морфологические, тинкториальные, культуральные, антигенные, биохимические свойства возбудителя туляремии.
2. Изучить и освоить методы идентификации возбудителя туляремии.
3. Изучение факторы патогенности возбудителя туляремии.
4. Изучить и освоить методы микробиологической диагностики возбудителя туляремии.
5. Изучить специфическую и неспецифическую профилактику туляремии.

Сокращения в тексте.

МПА-мясо-пептонный агар

МПБ-мясо-пептонный бульон.

ГР+ -грамположительные бактерии

ГР- -грамотрицательные бактерии

РА-реакция агглютинации

РСК-реакция связывания комплемента

ИФА-иммуноферментный анализ

ИФР-иммунофлюоресцентная реакция

РНГА-реакция непрямой гемагглютинации

FT- Francisella tularensis агар

РЭС-ретикуло-эндотелиальная система

СМЖ-спинномозговая жидкость

ЖСА-желточно-солевой агар

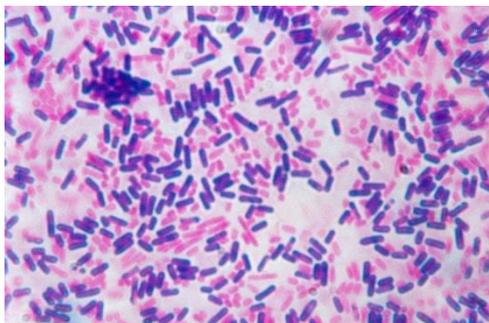
КА-кровоной агар

ПЦР-полимеразная цепная реакция

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ ОКРАСКИ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ.

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ ГРАМА.

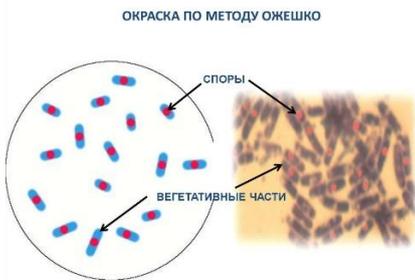
1. Исследуемый материал, фиксируем и наносим генцианвиолет на 1-2 минуты
2. Наносим раствор Люголя на 0,5-1 минуты, не смывая
3. Наносим спирт на 20-30 секунд
4. Промываем водой
5. Наносим водный фуксин на 1-2 минуты
6. Промываем водой



ГР + бактерии окрашиваются в фиолетовый цвет,
а ГР- бактерии в красный цвет.

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ ОЖЕШКО

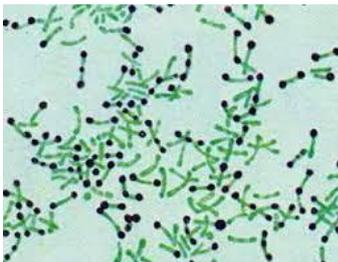
1. На нефиксированный мазок наносим 0,5 % раствор HCl и подогреваем над пламени 2-3 минуты
2. Кислоту сливаем, мазок промываем водой
3. Просушиваем
4. Фиксируем
5. Окрашиваем по методу Циля-Нельсона
6. Наносим на мазок карболовый раствор фуксина и подогреваем до появления паров в течении 4-5 минут
7. Наносим 5% раствор H_2SO_4 на 1-2 минуты
8. Промываем водой
9. Красим мазок раствором метиленовым синим в течении 3-5 минут
10. Промываем водой
11. Высушиваем и микроскопируем.



Споры окрашиваются в красный цвет, а вегетативные палочки в синий цвет.

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ НЕЙССЕРА.

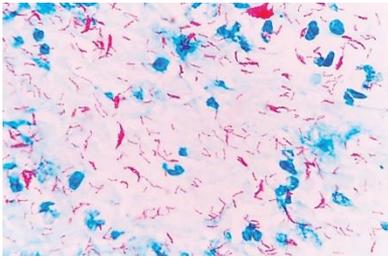
1. На фиксированный мазок наносим ацетат синьки Нейссера на 2-3 минуты
2. Добавляем раствор Люголя на 10-20 секунд
3. Промываем водой
4. Мазок окрашиваем водным визувина или хризоидина в течении 20-50 секунд
5. Промываем водой
6. Высушиваем и микроскопируем



Валютиновые зерна окрашиваются в темно-коричневый цвет, а цитоплазма окрашивается в желтый цвет.

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ ЦИЛЯ-НИЛЬСЕНА.

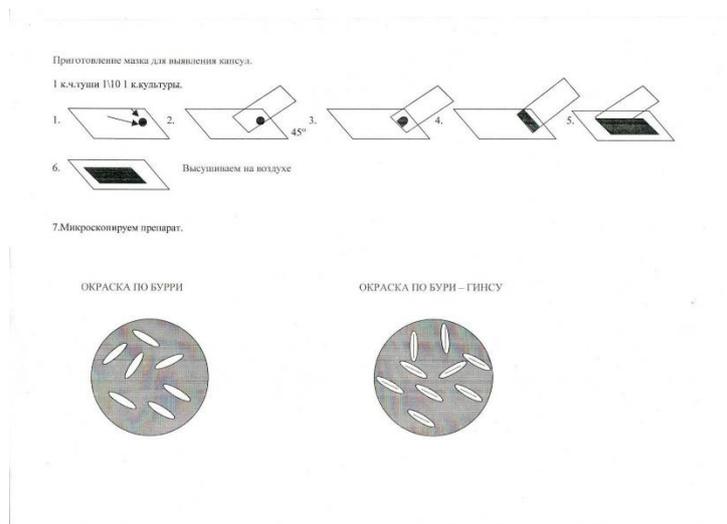
1. Зафиксируем мазок над пламенем
2. Окрашиваем карболовым фуксином
3. Нагреваем над пламенем в течении 4-5 минут
4. Промываем водой
5. Обесцвечиваем в смеси спирт-кислота до слабо-розового окрашивания
6. Промываем водой
7. Окрашиваем метиленовым синим в течении 10-20 секунд
8. Промываем водой и высушиваем на воздухе.



Кислотоустойчивые бактерии окрашиваются в красный цвет, а некислотоустойчивые в синий.

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО МЕТОДУ БУРРИ-ГИНСА.

1. Смешиваем каплю взвеси бактерий с каплей туши
2. Ребром шлифованного стекла наклонив, проводим под углом 45° при этом прикасаемся к капле с культурой
3. Наносим водный раствор фуксина на 1-2 минуты
4. Промываем водой и микроскопируем



Окраска капсулы по Бурри-Гинсу



ОКРАСКА ПО БУРРИ



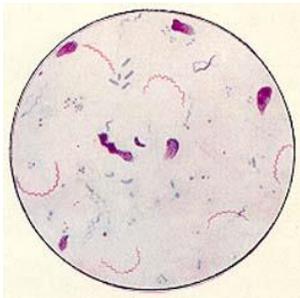
ОКРАСКА ПО БУРРИ-ГИНСУ



Бактерии окрашиваются в красный цвет, а капсула остается не окрашенная выделяющаяся на черном фоне

ТЕХНИКА ПОСТАНОВКИ ОКРАСКИ ПО РОМАНОВСКОМУ-ГИМЗЕ.

1. Сухие мазки фиксируют в метиловом спирте в течении 5 минут или смесь Никифорова в течении 15 минут
2. Погружают в рабочий готовый раствор Романовского-Гимзы в разведении 1:4 в течении 5-7 минут
3. Промываем дистиллированной водой
4. Высушиваем и микроскопируем



В сине-фиолетовый окрашивается боррелии, бледно-розовый цвет трепонемы, красно-розовый лептоспиры.

