

Занятие 6.

Микробиологическая диагностика зоонозных инфекций (бруцеллёз, сибирская язва, листериоз, чума и туляремия)

Обсуждаемые вопросы:

- 1. Зоонозные инфекции и их особенности
- 2. Понятие об особо опасных инфекциях, правилах работы с их возбудителями.
- 3. Морфобиологические особенности бруцелл. Факторы патогенности бруцелл, патогенез и клинические проявления бруцеллеза. Микробиологическая диагностика бруцеллеза.
Диагностическое значение тестов, применяемых при серологическом методе (ориентировочная агглютинация, реакция Райта, реакция Кумбса и др.). Специфическое лечение и профилактика бруцеллеза.
- 4. Понятие о бактериях рода *Bacillus*. Морфобиологические особенности возбудителей сибирской язвы. Факторы патогенности *B. anthracis*. Патогенез и клинические проявления сибирской язвы, микробиологическая диагностика, специфическое лечение и профилактика.
- 5. Возбудитель листериоза - *Listeria monocytogenes*, его морфобиологические особенности, экология. Патогенез и клинические проявления листериоза, роль листерий в неонатальной патологии. Микробиологическая диагностика листериоза.
- 6. Род *Yersinia*. Возбудитель чумы - *Yersinia pestis*, его морфобиологические особенности, факторы патогенности. Патогенез и клинические проявления чумы. Микробиологическая диагностика, специфическое лечение и профилактика чумы. Возбудители кишечного иерсиниоза - *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*, их морфобиологические особенности, патогенез и клиника, микробиологическая диагностика
- 7. Морфобиологические особенности возбудителей туляремии, факторы патогенности. Патогенез и клинические проявления туляремии, микробиологическая диагностика серологическими, биологическими, кожно-аллергическими и экспресс методами, специфическое лечение и профилактика.

Цель занятия:

- дать информацию студентам о морфобиологических особенностях возбудителей бруцеллеза, сибирской язвы, листериоза, чумы и туляремии, особенностях вызываемых ими заболеваний, микробиологической диагностике, принципах специфического лечения и профилактики.

Медицинские значимые виды *Brucella*

- *Brucella melitensis*
- *Brucella abortus*
- *Brucella suis*
- *B.avis*
- *B.canis*

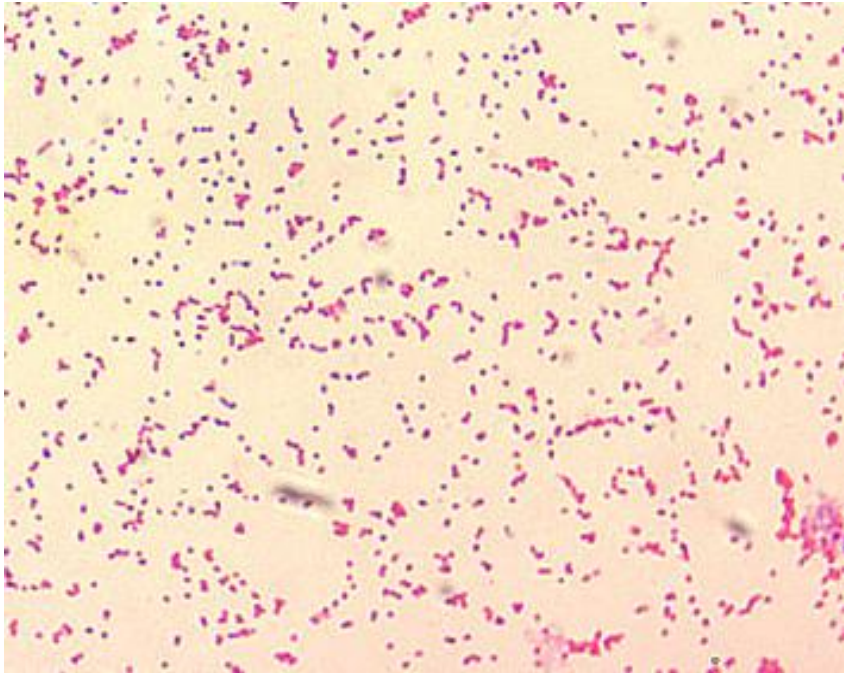
Род *Brucella*

- *Бруцеллы* - мелкие, неподвижные, грамотрицательные палочки или кокобациллы размером 0.5-0.6x0.6-1.5 мкм. Полиморфны.
- Спор не образуют.
- Неподвижны
- Некоторые виды при росте на среде с иммунологической сывороткой формируют нежную капсулу. Под действием антибиотиков превращаются L-формы.

Культуральные свойства:

- аэробы (*B.abortus* развивается в атмосфере с 5-10% углекислым газом).
- На обычных питательных средах не растут. Медленно развивается на сложных питательных средах (сыворотно-декстрозный и 5% агар с овечьей кровью).
- Печеночный агар является оптимальной питательной средой.
- На плотной питательной среде образуют мелкие, приподнятые, гладкие, мутные негемолитические S-колонии.
- В жидкой питательной среде образуют легкий осадок и диффузное помутнение.
- Бруцеллы также можно культивировать в желточном мешке куриных эмбрионов.

Бруцеллы



(мазок из чистой культуры и колонии бруцелл на
печеночном агаре)

Бруцеллы

- обладают очень слабой биохимической активностью.
- Каталаза и оксидаза положительны (кроме *B.ovis* и *B.neotomae*).
- Преобразует нитраты в нитриты (кроме *B.ovis*)
- не образуют индол.
- Реакция Фогеса-Проскауэра отрицательная.
- Образуют сероводород

Внутривидовая дифференциация бруцелл

Вид	Бактериостатическое действие красителей		Образование H ₂ S
	фуксин	тионин	
Brusella melitensis	+	+	-
Brusella abortus	+	-	+
Brusella suis	-	+	+

Антигенная структура:

- Имеют соматический О- и капсульный К- антигены. Различные виды бруцелл схожи по антигенной структуре , что затрудняет дифференциацию видов реакцией агглютинации.
- Различные виды бруцелл различаются количественным соотношением двух основных поверхностных антигенов: А (*abortus*) и М (*melitensis*) . Такое соотношение у *B.abortus* составляет 20:1, у *B.melitensis* - 1:20, у *B.suis* - 1:2.
- Бруцеллы имеют общий антиген с *V.cholerae* .

Резистентность к факторам окружающей среды:

- Бруцеллы могут сохраниться в воде до 5 мес, в почве до 3 мес, в молоке до 45 сут, в сыре до 60 сут, в замороженном мясе более 5 мес.
- в 1% растворе фенола погибают в течение 15 мин.
- менее устойчивы к высокой температуре, при быстром кипячении – в короткое время, при 60 С - в течение 30 мин.
- Поскольку пастеризация уничтожает бруцеллы, пастеризованное молоко не представляет опасности заражения.

Чувствительность животных:

- В природных условиях разные виды бруцелл вызывают заболевания у разных животных:
- - *B. abortus* в основном у крупного рогатого скота,
- - у мелких рогатых животных (коз и овец) – *B. melitensis*,
- - у свиней – *B. suis*,
- - у собак – *B. canis*-
- у овец – *B. ovis*

Бруцеллы обладают способностью мигрировать, то есть передаваться от одного естественного хозяина к другому. Например, *B. abortus* также может вызывать заболевание у мелких рогатых животных. У самцов заболевание сопровождается воспалением яичек — орхитом, а у самок - абортom. Кроме того, у больных животных возможно поражение суставов, похудание, выпадение шерсти и др. симптомы. Бруцеллез может иметь латентное течение у животных, что приводит к распространению инфекции.

Факторы патогенности:

Бруцеллы являются факультативными внутриклеточными паразитами .

- высокая инвазивная способность
- капсула и эндотоксин
- низкомолекулярные вещества , ингибирующие слияние фагосом с лизосомами

Факторы патогенности:

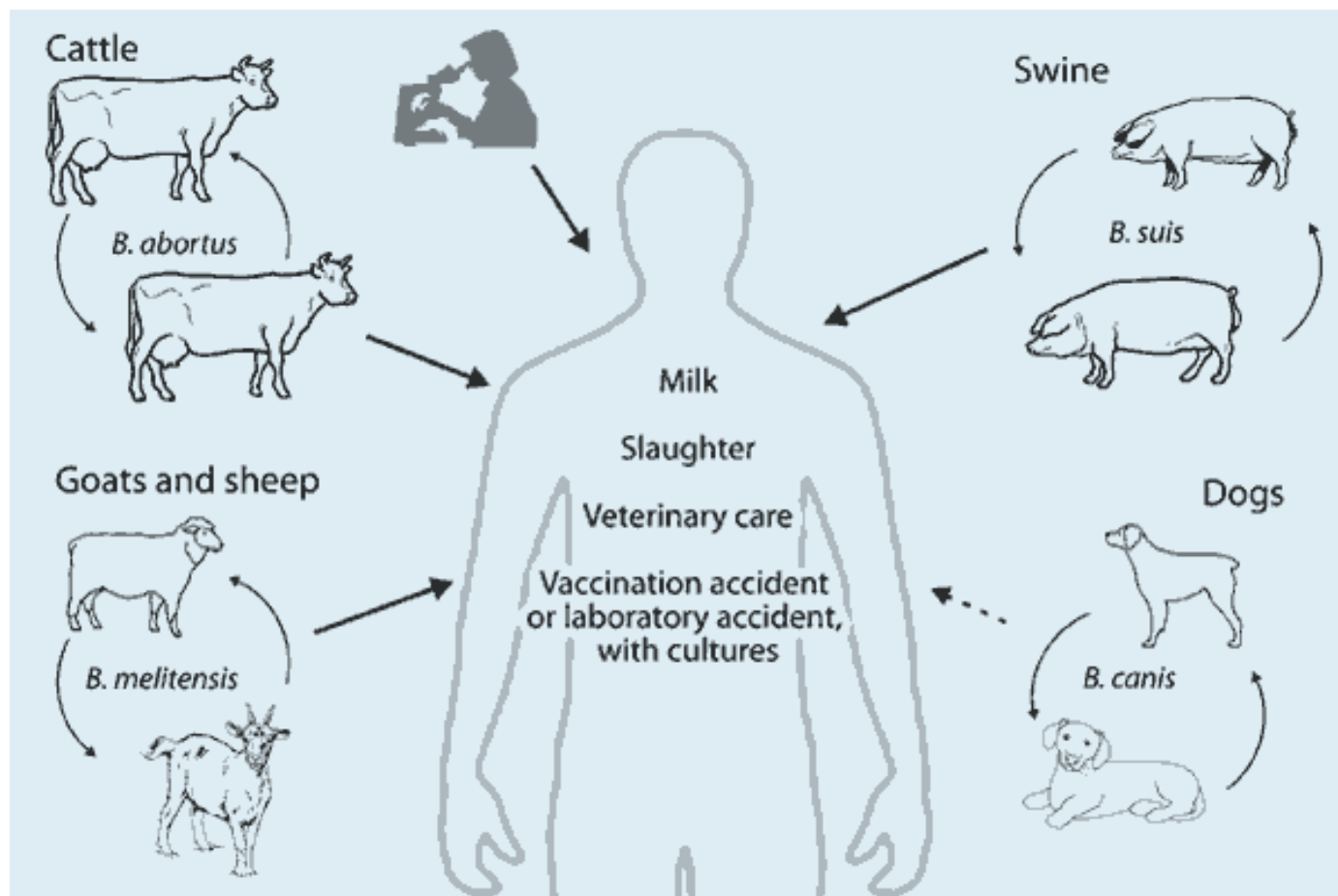
- Бруцеллы – факультативные внутриклеточные паразиты.
- Обладают низкомолекулярными субстанциями, препятствующими слиянию фагосом и лизосом.
- Благодаря высокой инвазивности бруцеллы легко преодолевают кожный и слизистый барьеры.
- Эндотоксин и капсула являются основными патогенными факторами бруцелл.
- Эндотоксин обладает аллергенными свойствами.

Источник инфекции и пути передачи:

- Бруцеллез - зоонозная инфекция , резервуаром возбудителя в природе являются животные. Основным источником инфекции для человека — сельскохозяйственные и домашние животные.
- *Алиментарный путь*
- *Контактный путь*
- *Аэрогенный путь*

Больной человек не заразен. Однако работники лабораторий заражаются при работе с патологическим материалом , взятых у больных бруцеллезом.

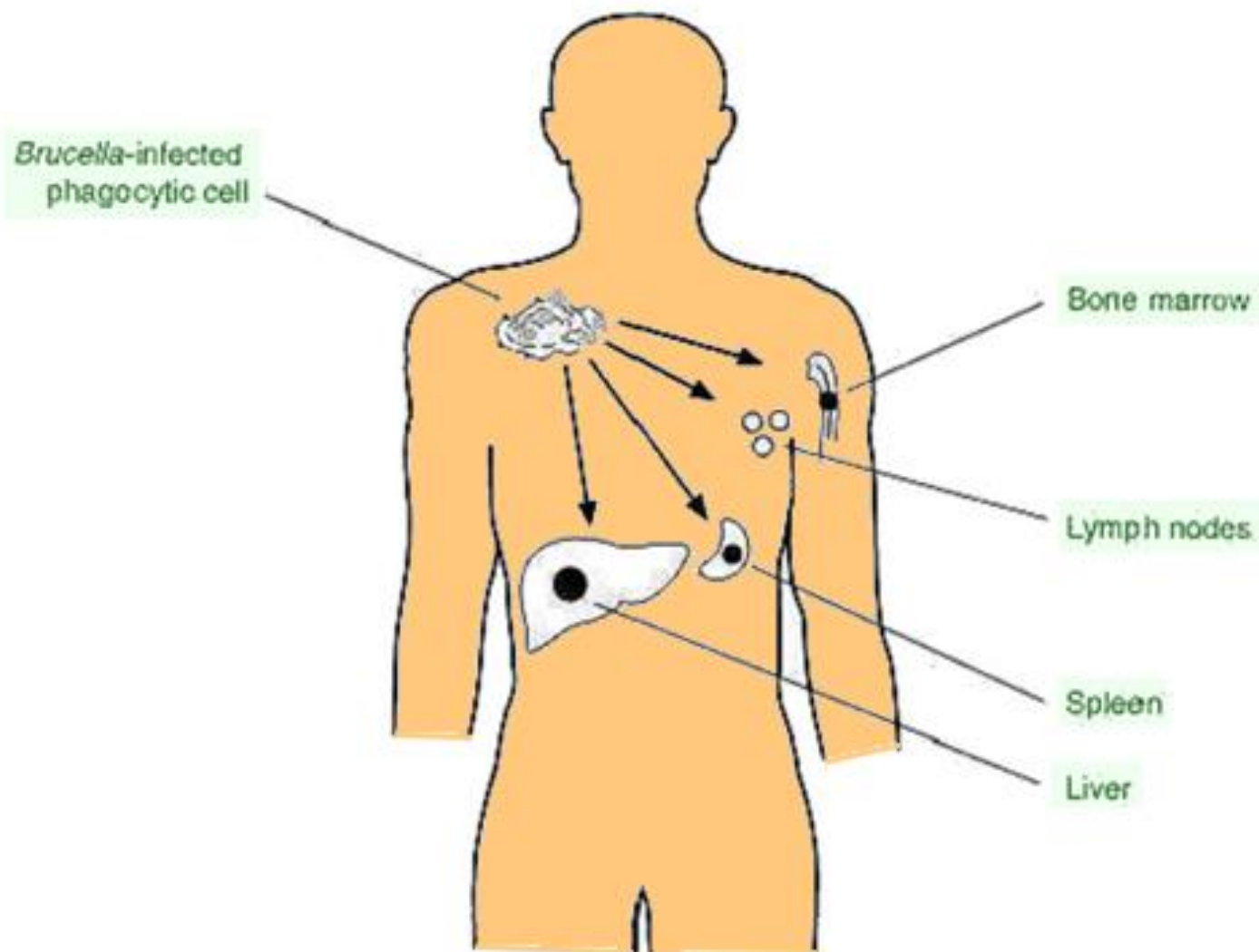
Источник инфекции и пути заражения



Патогенез бруцеллеза

- Бруцеллы проникают в организм через кожу или слизистые оболочки, распространяются по лимфатическим путям и депонируются в лимфоузлах. В период инкубации бактерии размножаются в макрофагах регионарных лимфатических узлов.
- Из лимфоузлов бруцеллы попадают в кровоток и диссеминируют в печень, селезенку и костный мозг. В дальнейшем бактерии могут попадать в молочные железы человека и появиться в грудном молоке. В органах бруцеллы, вследствие способности к внутриклеточному паразитизму, длительно сохраняются и формируют очаги некроза, окруженные инфильтратами. Заболевание характеризуется хроническим течением со сменой обострений и ремиссий. При обострениях процесса бруцеллы вновь усиленно размножаются, попадают в кровоток, вызывая повторные волны генерализации.

Патогенез бруцеллеза



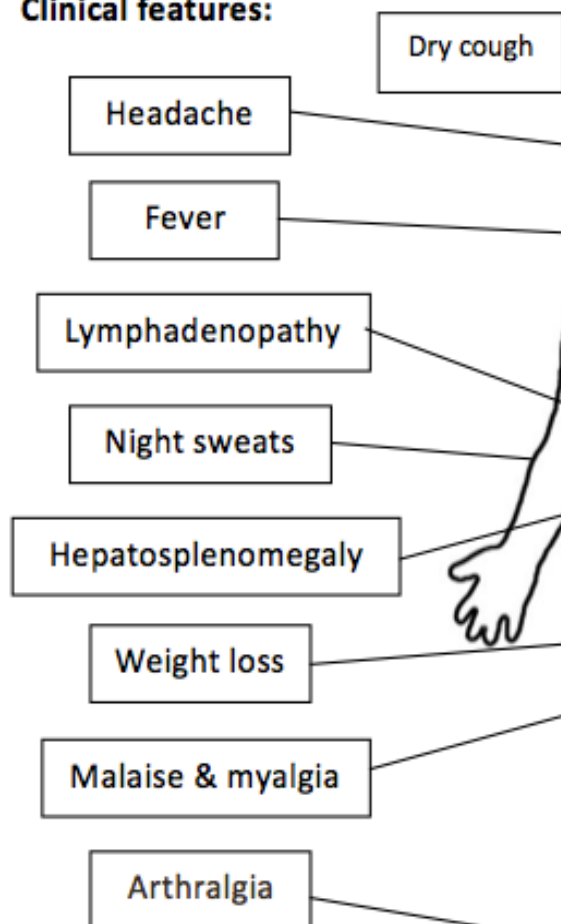
Клинические проявления бруцеллеза:

Инкубационный период бруцеллеза длится 1-6 недель. Заболевание начинается постепенно, иногда остро. Различают латентную, острую и хроническую формы заболевания.

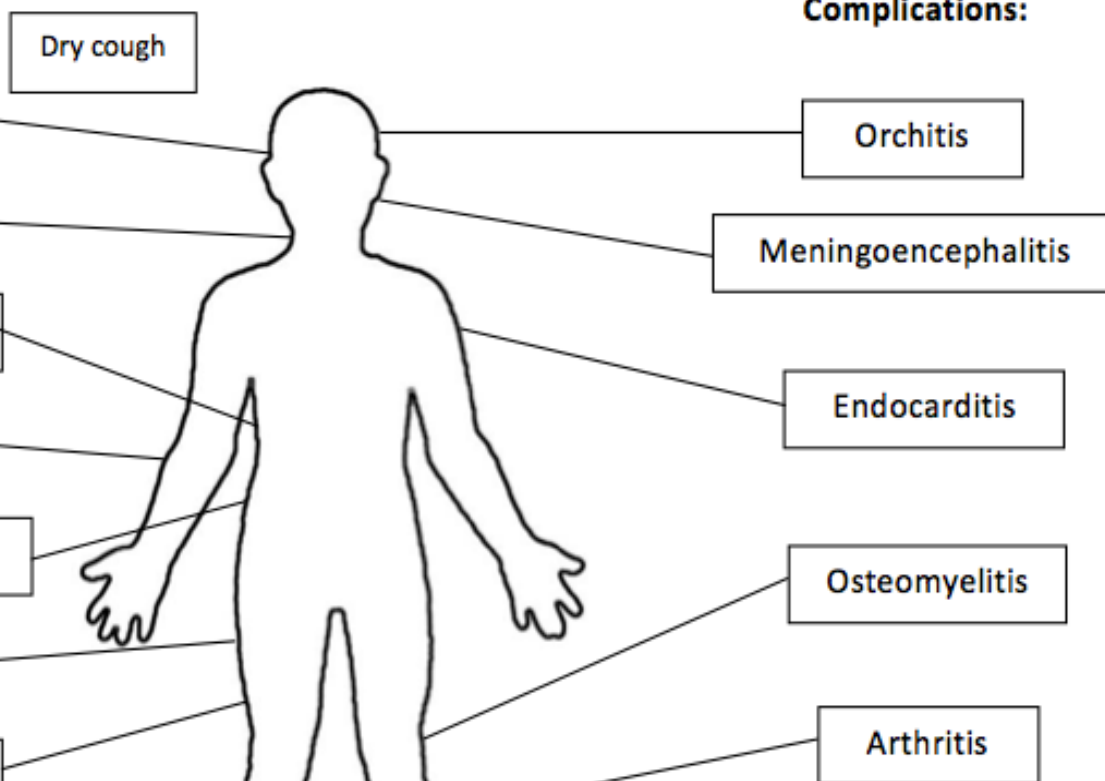
- Первично-латентная форма – имеет бессимптомное течение, может переходить в острую септическую и первично-хроническую форму на фоне ослабления резистентности.
- Острая септическая форма - проявляется высокой температурой (39-40°C) без признаков интоксикации. Характерны генерализованная лимфаденопатия, увеличение печени и селезенки. Лихорадка держится 3-4 недели.
- При первично-хроническом и вторично-хроническом бруцеллезе на фоне общей интоксикации (субфебрилитет, слабость и др.) наблюдаются метастазы. Поражение опорно-двигательного аппарата протекает по типу полиартрита, больные жалуются на боли в суставах и мышцах. Воспаление тазобедренного сустава – сакроилеит – важный диагностический признак. Также может произойти поражение нервной системы, половой системы и органа зрения.

Клинические проявления бруцеллеза:

Clinical features:



Complications:



Микробиологическая диагностика:

(материалы исследования)

- кровь
- пунктат костного мозга
- моча
- испражнения
- молоко и молочные продукты
- кусочки органов

Микробиологическая диагностика

- **Бактериологический метод** – инокуляция исследуемого материала в определенные питательные среды , чистую культуру возбудителя получают через 3-4 недели инкубации.
- Возбудителей выделяют из крови (**гемокультура**), пунктата костного мозга (**миелокультура**), мочи (**уринокультура**).
- Для дифференцировки полученной культуры используют способность к образованию сероводорода , чувствительность к бактериостатическому действию анилиновых красителей .

Микробиологическая диагностика:

- *Серологический метод* - основной диагностический метод при бруцеллезе .
- Уже на 1-й неделе заболевания в сыворотке крови больного появляется IgM , достигая максимального титра к 3-й неделе и обнаруживается при хронической форме бруцеллеза.
- На 3-й неделе заболевания появляются IgG и IgA, достигая максимального титра к 6-8-й неделе, которые обнаруживаются при хроническом течении бруцеллеза .

Микробиологическая диагностика:

(серологический метод)

- Реакция Хедельсона (ориентировочная , микроагглютинация на стекле) позволяет определять антитела в сыворотке крови больного.
- С помощью реакции Райта (развернутая агглютинация) определяют титр антител. Высокий титр антител (выше 1:80) отмечается при остром бруцеллезе .
- Реакция Кумбса ставится для определения неполных блокирующих антител .
- Иммуноферментный анализ позволяет определять антитела IgA, IgG, IgM .

Микробиологическая диагностика:

- *Биологический метод основан на заражении (подкожно) лабораторных животных – белых мышей и морских свинок.*
- *Аллергическая проба (проба Бюрне) применяют для выявления гиперчувствительности замедленного типа к бруцеллам. Больному в средней трети предплечья вводят внутрикожно 0,1 мл (протеиновый экстракт из культуры бруцелл). Положительной реакцией считают инфильтрат , покраснение размером 4-6 см, которые возникают через 24-48 часов .*

Профилактика :

- Людям, занимающимся животноводством , вакцинацию проводят по эпидемическим показаниям с использованием живой бруцеллезной вакцины.
- Вакцина является реактогенной и не обладает высоким защитным эффектом.

Лечение :

- Бруцеллы чувствительны к тетрациклину и стрептомицину.
- При хронической форме бруцеллеза применяется специфическая иммунотерапия убитой лечебной бруцеллезной вакциной или бруцеллина .

Род *Bacillus*

- Относятся роду *Bacillus* семейства *Bacillaceae*
- Род *Bacillus* включает 48 видов. Некоторые виды , в том числе *B.cereus* и *B.subtilis* – сапрофиты , широко распространенные в природе , и отличаются подвижностью.
- *B.cereus* , как типичный представитель рода *Bacillus* , при попадании в пищевые продукты образуют энтеротоксин и вызывают пищевые отравления.
- Некоторые виды вызывают у лиц с иммунодефицитом оппортунистические инфекции.
- Возбудителем сибирской язвы является патогенный для человека вид *Bacillus anthracis* .

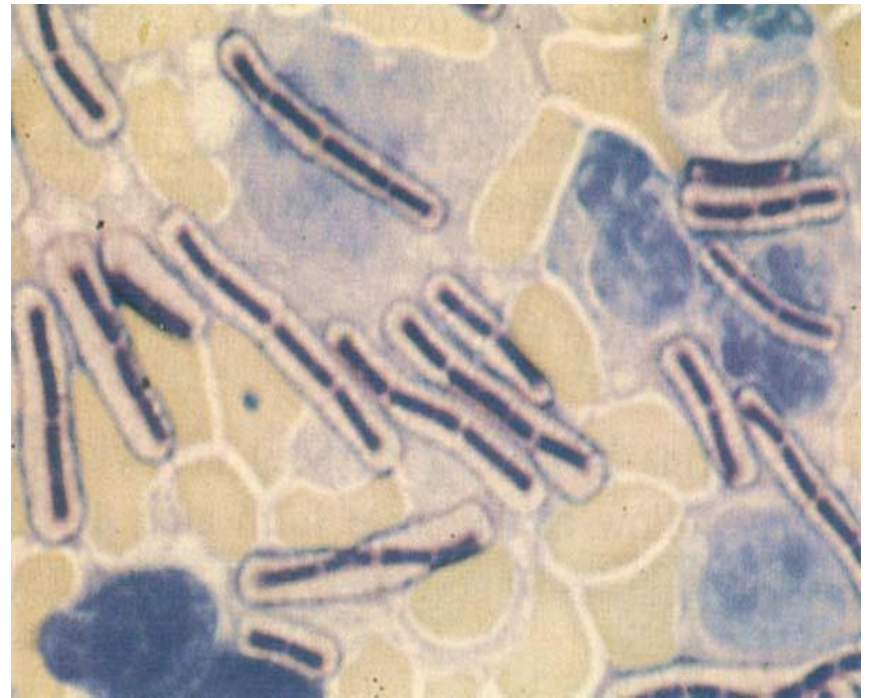
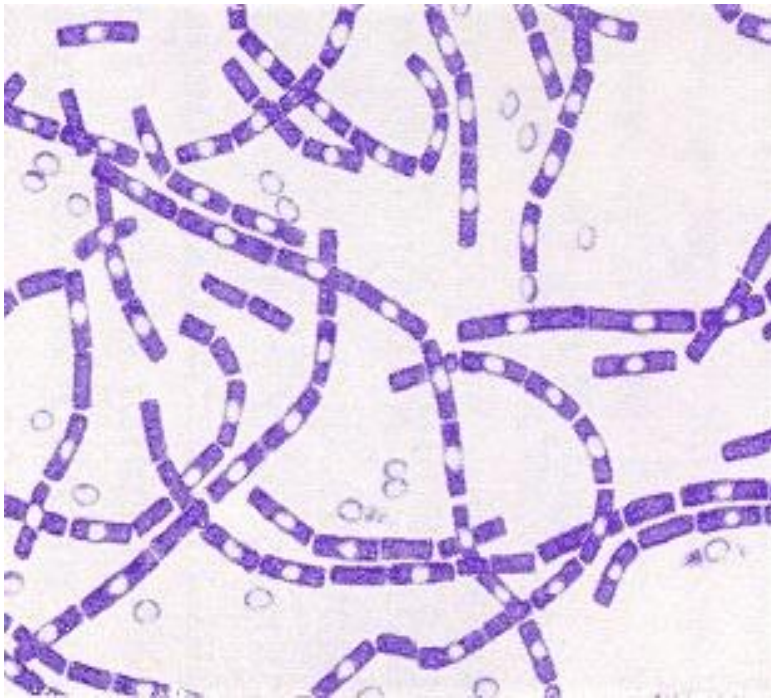
Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis*

- *B. anthracis* представляет собой бактерию размером 1х3-4 мкм, усеченной формы, крупную, грамположительную, цеповидную (стрептобацилла), неподвижную, палочковидную бактерию. Имеет капсулу. Имеет центрально расположенную спору.
- *B. anthracis* является аэробной или факультативно анаэробной бактерией.
- К питательным средам не требователен, выращивается на простых питательных средах.
- На плотных питательных средах (мясно-пептонный агар) образует шероховатые зубчатые колонии диаметром 2-3 мм (R-колонии). Нитевидные выступы по краям придают колониям форму, напоминающую под увеличительным стеклом «львиную гриву» или «голову медузы».
- Не вызывает гемолиза в кровяном агаре.

Возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis*

- образует сферопласты в культуре, выращенной на среде с добавлением пенициллина.
- Сферопласты располагаются в мазке в виде цепочки, напоминающей под микроскопом ожерелье (проба «жемчужное ожерелье»).
- Растет в жидкой среде, образуя хлопьевидный осадок без помутнения.
- *B. anthracis* обладает высокой биохимической активностью. Расщепляет глюкозу, лактозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу, крахмал и инулин до кислоты. Протеолитическая активность: разлагает молоко, образуя индол и сероводород. Превращает нитраты в нитриты. При прививке бактериологической иглой расплавляет столбик желатина, принимая форму, напоминающую перевернутую елку.

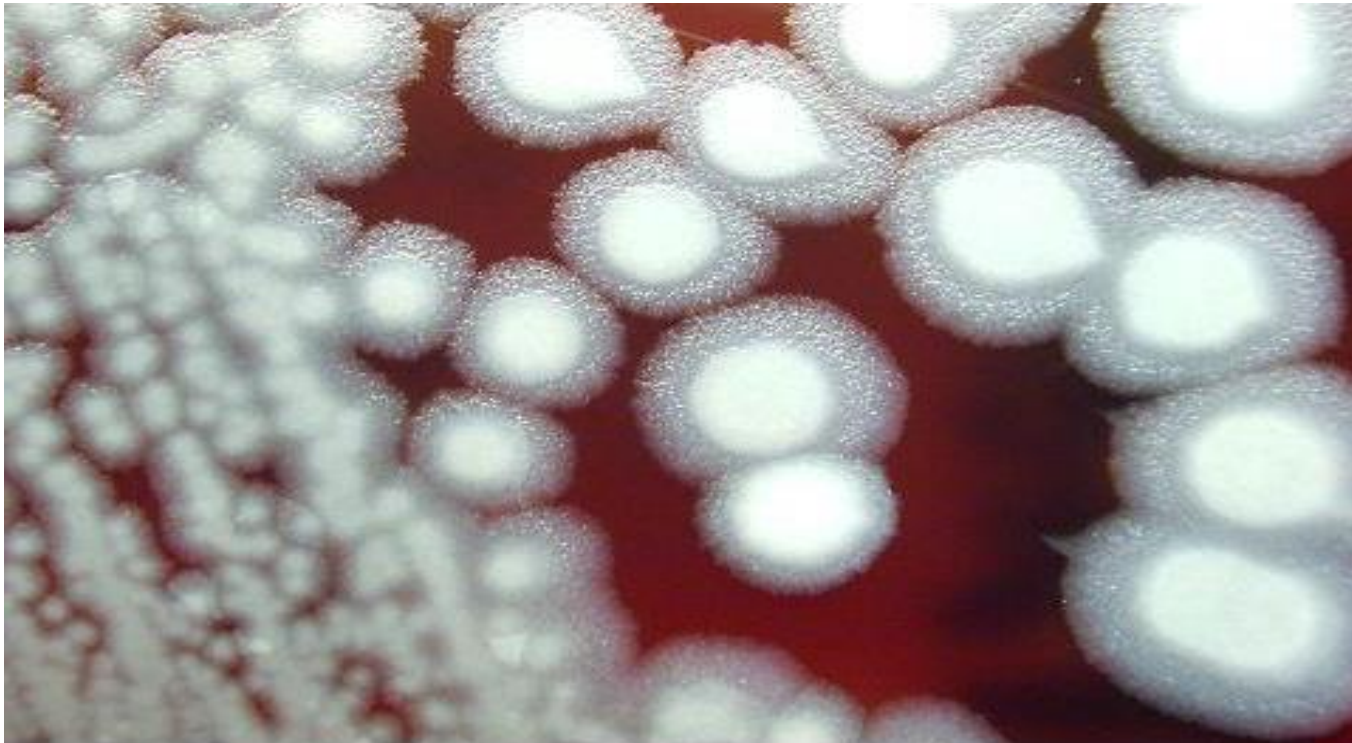
Bacillus anthracis – возбудитель сибирской язвы



в мазке, окрашенном по Граму

Культуральные свойства:

Аэроб , или факультативный анаэроб . Хорошо растет на обычных питательных средах . На твердых питательных средах образует шероховатые с неровными краями R-колонии. Под лупой колонии напоминают *«львиную гриву»*, или *«голову медузы»*.



(kolonii na krovʹanom agarʹe)

*Дифференциация бактерий рода **Bacillus** :*

Признак	B.anthraxis	B.cereus	B.subtilis	B.mesentericus	B.megaterium
Капсула	+	-	-	-	-
Подвижность	-	+	+	+	+
Гемолиз	-	+	-	±	-
Патогенность	+	-	-	-	-

Устойчивость к факторам внешней среды:

- Вегетативная форма во внешней среде неустойчива. при температуре 100 С погибает мгновенно, при температуре 60 С – через 30 мин.
- обычные концентрации дезинфицирующих растворов убивают вегетативные формы в течение нескольких минут.
- Споры достаточно устойчивы и сохраняются в окружающей среде десятилетиями — до 10 лет в воде, до 30 лет в почве и более. Они устойчивы к кипячению и в течение 5-10 мин., автоклавированию - 20 минут.
- 1% раствор формалина и 10% натриевая щелочь убивают споры через 2 часа. Растворы хлорамина и перекиси водорода обладают спороцидным действием.

Антигенные свойства

- Содержит термостабильный полисахаридный соматический антиген , состоящий из D-галактозы и N-ацетилглюкозамина клеточной стенки . Против этого антигена антитела не обладают протективным действием. Он длительно сохраняется в культурах и трупном материале . На обнаружении его основана реакция термопреципитации по Асколи .
- *Капсульный антиген* белкового происхождения, представлен полипептидом, в состав которого входит D-глутаминовая кислота. Антитела к капсульным антигенам не обладают протективным действием.

Факторы патогенности :

- *Белковый токсин (антракс токсин)* – состоит из трех компонентов: протективный антиген , летальный и отечный факторы. По отдельности эти компоненты не способны проявлять токсическое действие :
- *Протективный антиген не обладает токсическим действием*, он формирует поры в мембранах клеток человека, что позволяет отечному и летальному факторам проникнуть в клетку.
- *Летальный фактор* проявляет цитотоксический эффект.
- *Отечный фактор* проявляет эффект аденилатциклазы, повышает концентрацию внутриклеточной цАМФ и вызывает развитие отеков различных тканей.

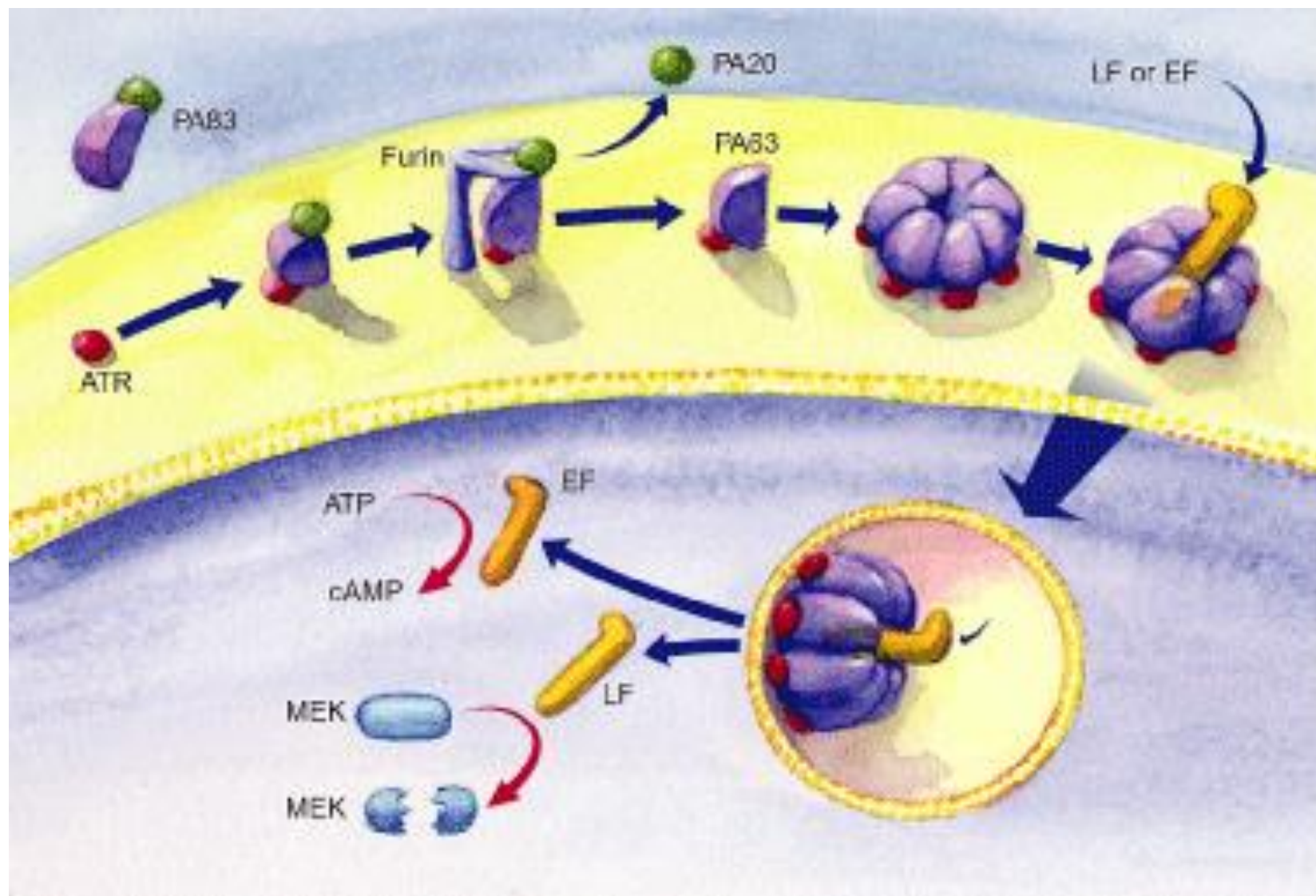
Источник инфекции и пути передачи

- Источником инфекции являются больные животные, в частности крупный рогатый скот, а также овцы, козы, лошади, олени, буйволы, верблюды и свиньи.
- *Основные клинические признаки болезни у животных* — судороги и диарея с примесью крови.
- Человек заражается чаще всего контактным путем, реже — алиментарно, аэрогенно и другими путями, при уходе за больными животными, убое, переработке животного сырья, употреблении мяса и других животноводческих продуктов.
- Больной человек не является источником инфекции.

Патогенез и клинические проявления сибирской язвы:

- *B.anthraxis* проникает через поврежденную кожу, слизистые оболочки дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Продолжительность инкубационного периода составляет 2-6 суток.
- Возбудитель из входных ворот заносится макрофагами в регионарные лимфатические узлы, в которых развивается воспаление без серьезных нарушений барьерной функции, в силу чего генерализация процесса не наступает или наступает в относительно поздние сроки.
- Диссеминация при всех клинических формах заболевания сопровождается бактериемией и менингитом.
- Генерализованные формы в 100% случаев заканчиваются летально.

Механизм действия токсина V.anthraxis



Клинические формы сибирской язвы:

- **Кожная форма** встречается часто (приблизительно 95% случаев)
На месте внедрения возбудителя в кожу развивается **сибиреязвенный карбункул** — очаг геморрагически-некротического воспаления глубоких слоев дермы на границе с подкожной клетчаткой, сопровождающийся отеком и деструкцией тканей.
- **Легочная форма** (5% случаев)
- **Желудочно-кишечная форма** (встречается крайне редко)
- **Септическая форма** — возможна диссеминация, сопровождающаяся бактериемией и менингитом .

Карбункул сибирской язвы



Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- Соблюдение всех мер безопасности при работе с особо опасными инфекциями.
- Материалы исследования — содержимое карбункула, мокрота, испражнения, кровь и моча. По эпидемиологическим показаниям исследуют различные объекты внешней среды, а также и животные.

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- *Микроскопический метод.* В мазках , приготовленных из содержимого карбункула и крови мертвых животных, окрашенных по Граму обнаруживают крупные грамположительные бациллы , расположенные цепочками.
- Люминесцентная микроскопия применяется для выявления сибиреязвенных бацилл в мазке , обработанных люминесцентной сывороткой .
- *Бактериологический метод.* Проводят посев исследуемого материала на простые питательные среды для выделения чистой культуры с последующей ее идентификацией .

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- *Биологическая проба* – пробы с исследуемым материалом или выделенной чистой культурой ставят на белых мышах и морских свинках в целях обнаружения возбудителя.
- *Серологический метод* – для выявления специфических антител в сыворотке крови больного используют реакцию латекс агглютинации и РПГА. В последнее время для определения антител к летальному токсину и фактору , вызывающему отек используют РИФ.
- *Кожные аллергические пробы с антраксином.*

Микробиологическая диагностика сибирской язвы:

- **Ставят реакцию термопреципитации по Асколи** на наличие в исследуемом материале (шкуры , органы павшего животного , разложившийся или мумифицированный труп животного, кожа и изделия из нее) **сибиреязвенного термостабильного полисахаридного антигена.**

Профилактика включает неспецифические профилактические мероприятия

- *Неспецифические профилактические мероприятия* сводятся к санитарно-ветеринарным мероприятиям .
- Изоляция больных и подозрительных животных, санитарный надзор за предприятиями, занятыми переработкой животного сырья, обеззараживание мест содержания больных животных и др. мероприятия.

Специфическая профилактика:

- В США и Англии производят бесклеточную вакцину из авирулентных штаммов возбудителя, адсорбированных на гидроксиде алюминия. В состав вакцины входят все компоненты токсина возбудителя сибирской язвы.
- Иммунизацию проводят по эпидемическим показаниям лицам группы высокого риска 3 раза через каждые две недели. Затем проводят ревакцинацию через 6, 12 и 18 месяцев. Далее проводят иммунизацию раз в год.

Химическая профилактика:

- Наряду с вакцинацией проводится химическая профилактика с целью предотвращения массового заражения и применением ципрофлоксацина или доксициклина в течение 4 недель .
- Химическая профилактика проводится невакцинированным лицам в течение 8 недель.

Лечение

- В последнее время при лечении сибирской язвы назначают в основном ципрофлоксацин .
- Используют также комбинации пенициллина G с гентамицином и стрептомицином.

Род Listeria

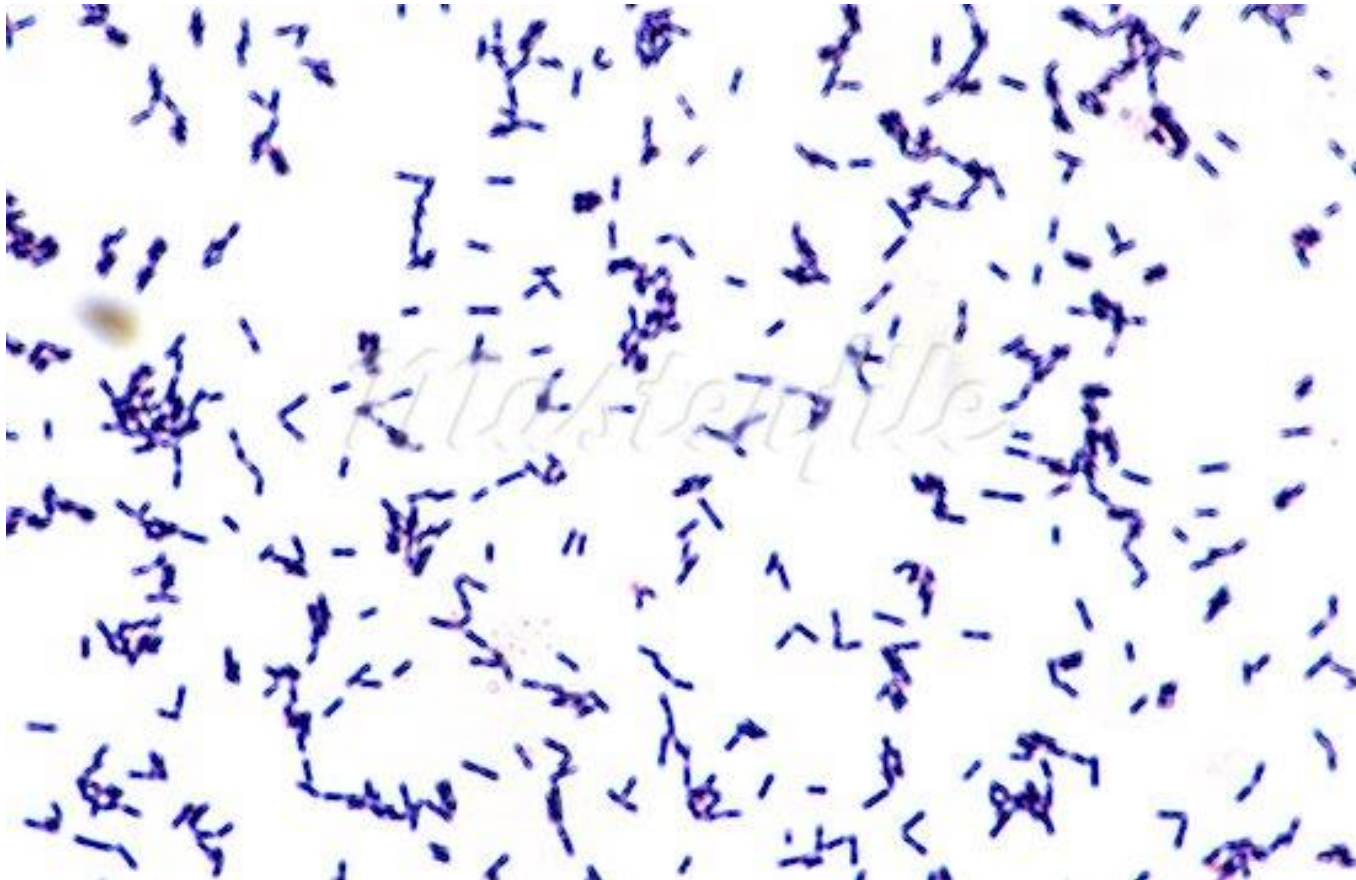
Листерии, вызывающие у человека листериоз, получили название в честь английского хирурга Д. Листера .

Род *Listeria* включает в себя несколько видов . В патологии человека наибольшее значение имеет вид *L.monocytogenes*. Характерный признак заболевания — выраженный моноклеоз у экспериментальных животных, что обусловило видовое название возбудителя.

Род Listeria (морфо-биологические свойства)

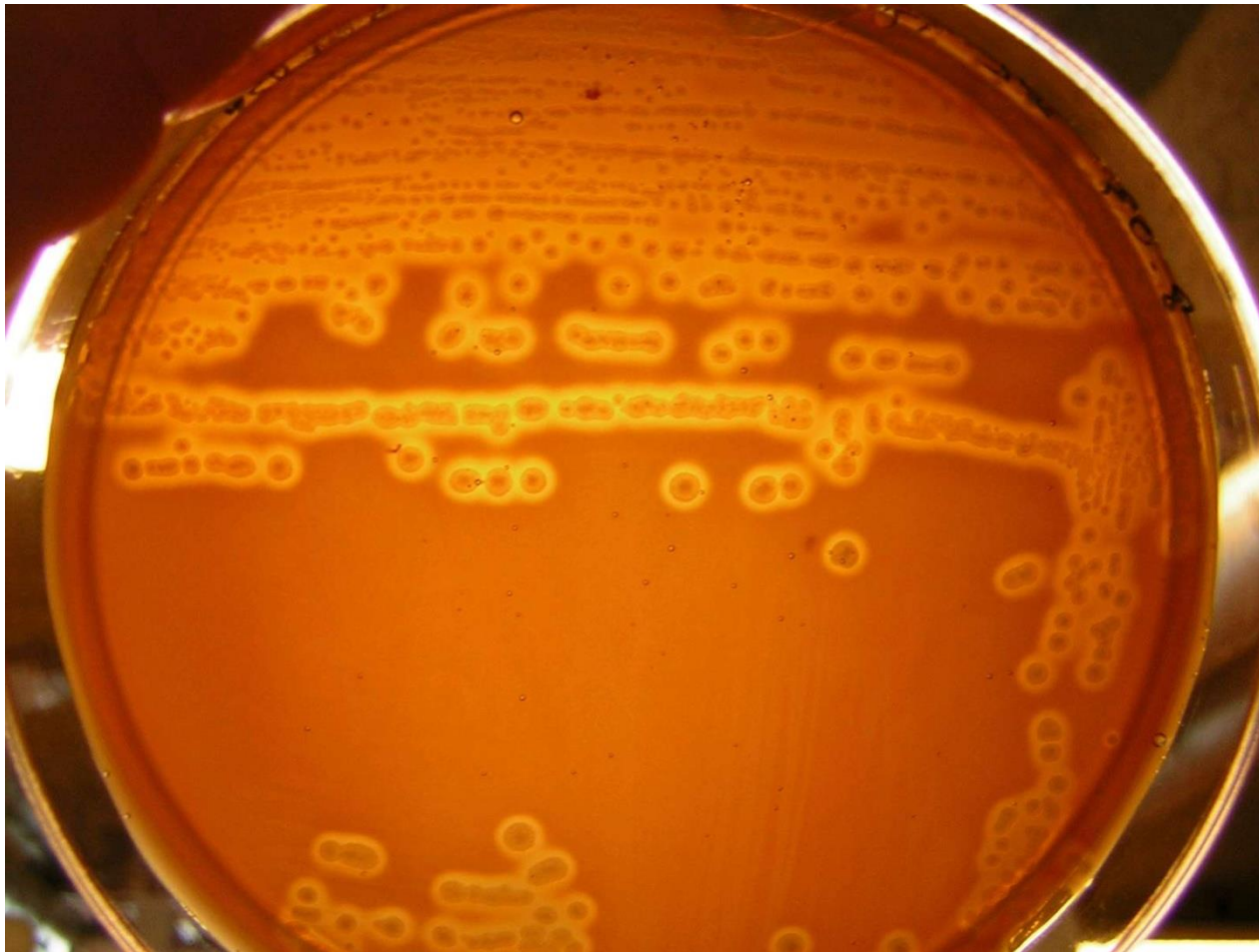
- *Listeria monocytogenes* представляет собой небольшую грамположительную неспорообразующую бактерию размером 1-2х0,5 мкм. Имеет перитрихально расположенные жгутики, при 22-28°C - подвижна, культивирование при 37°C приводит к потере подвижности, а также жгутиков.
- Является факультативным анаэробом, легко растет на простых питательных средах. На кровяном агаре образует мелкие полупрозрачные колонии, окруженные зоной гемолиза.
- Культура имеет запах сыра или творога (в результате накопления промежуточных продуктов углеводного обмена).
- *L. monocytogenes* расщепляет глюкозу и ряд углеводов с образованием кислоты.
- Каталазоположительна.
- Не образует сероводород и индол, не растворяет желатин, не расщепляет маннит и крахмал.

Listeria monocytogenes



Listeria monocytogenes

(культура на кровяном агаре)



Экология и устойчивость к факторам внешней среды:

- *L. monocytogenes* широко распространена в окружающей среде, в почве, воде в свободном виде или в симбиозе с примитивными микроорганизмами, в некультивируемой форме, вызывая образование эндемичных очагов листериоза.
- Многие дикие животные, главным образом грызуны, а также домашние животные (крупные и мелкие рогатые, свиньи, собаки, кошки и др.) и птицы заражаются листериозом преимущественно через воду или корма. У жвачных животных (например, овец) листерии вызывают бактериемию, или менингоэнцефалит, а у мелких животных, например, кроликов и кур, септицемию, сопровождающуюся очаговыми абсцессами в печени и сердечной мышце. У животных листериоз протекает на фоне моноцитоза, они выделяют листерии во внешнюю среду с фекалиями и мочой.
- *L. monocytogenes* длительное время живет и размножается в мясе и молоке животных при температуре 4-60°C. Может сохраниться в кормах для животных до 3 лет. При закипании 3-5 мин. разрушается внутри, чувствителен к действию дезинфицирующих средств.

Источник инфекции и пути заражения:

- **Алиментарный путь**
- **Контактный путь**
- **Трансплацентарное заражение**
- **Заражение во время родов**

Источник инфекции и пути заражения :

- Человек заражается в основном через продукты питания, зараженные овощи, сырое молоко, сыр и другие молочные продукты, недостаточно термически обработанное мясо, а также воду.
- При уходе за больными животными, при контакте и вдыхании загрязненной пыли также отмечаются случаи воздушно-пылевого заражения. Случаев передачи от человека к человеку не выявлено.
- Однако возможно трансплацентарное заражение плода от больной матери и во время родов. Чувствительность людей не так высока. Заболевание в основном возникает на фоне иммунодефицита.

Источник инфекции и пути заражения:

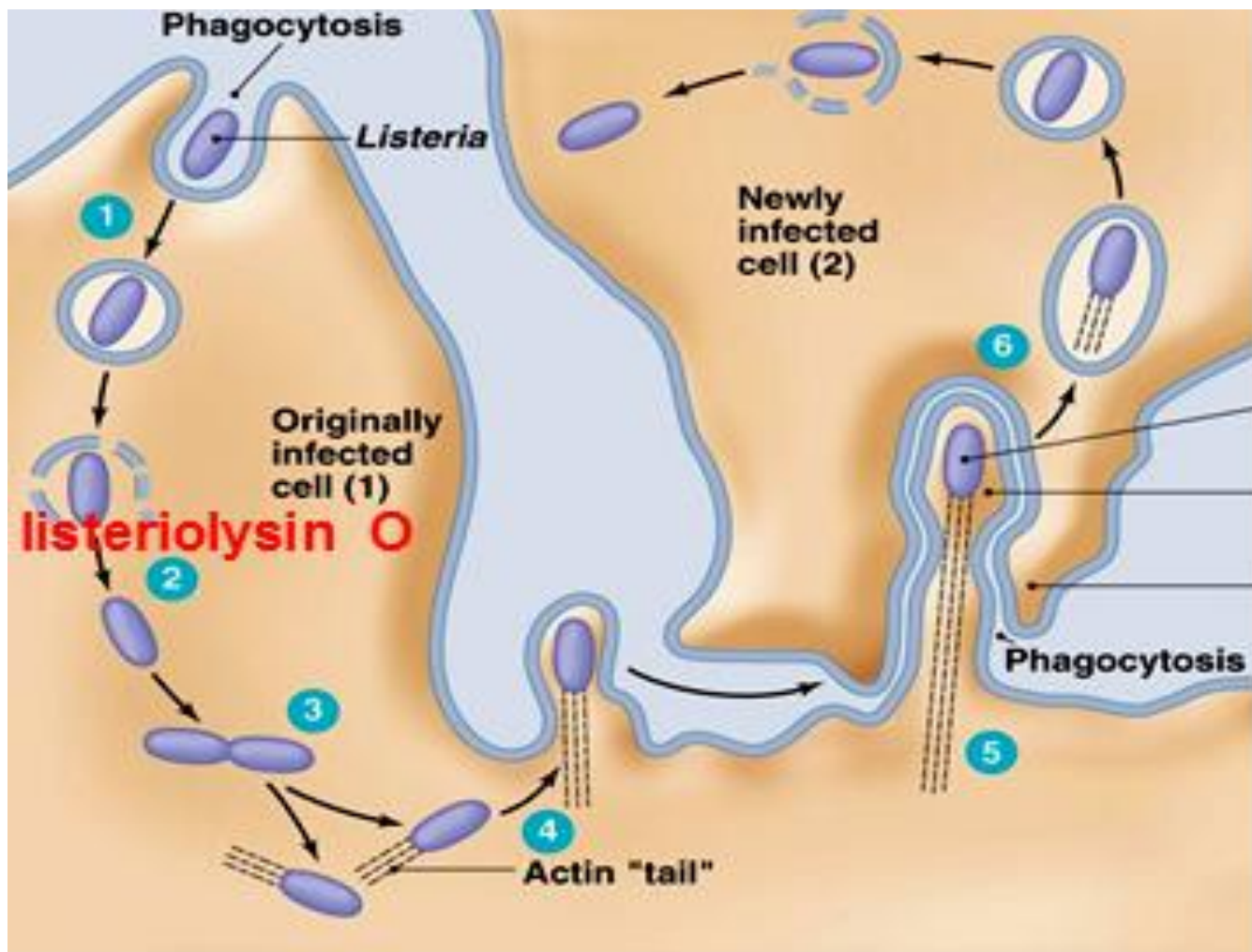
- В зависимости от пути заражения входными дверями инфекции могут быть участки микротравм слизистых оболочек дыхательных путей и глаз, а также кожи.
- Однако *L. monocytogenes* попадает в организм преимущественно алиментарным путем - через слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта, преимущественно в результате приема сыра и растительных пищевых продуктов.

Факторы патогенности:

- *интерналин* – обеспечивает проникновение бактерий в клетки (поглощение фагоцитами).
- *листериолизин О* – повреждает мембраны фаголизосом и обеспечивает миграцию бактерий в цитоплазму макрофагов и эпителиальных клеток .
- *ActA* – полимеризует актин инфицированных клеток, облегчая процесс распространения
- *Филоподы* – удлинённые выросты, с помощью которых листерии транспортируются из одной клетки в другую.

Listeria monocytogenes

(механизм проникновения из одной клетки в другую)



Клинические проявления листериоза:

- **Оппортунистические инфекции**
- **У лиц с нормальным иммунным статусом заболевание может протекать в виде легкого недомогания, респираторного заболевания или ангины.**
- **У иммунодефицитных лиц – менингит и сепсис**
- **У беременных женщин – перинатальный листериоз.**

Перинатальный листериоз имеет 2 формы:

- **септико-гранулематозная (внутриутробное заражение)**
- **менингиты(заражение плода во время родов)**

Микробиологическая диагностика:

- **Бактериологический метод** – материалом для исследования при бактериологическом методе служат ликвор, кровь, пунктат лимфоузлов, слизь из носоглотки, отделяемое влагалища, околоплодные воды, плацента, трупный материал, из которых выделяют чистую культуру возбудителя. Перед посевом патологический материал следует хранить в течение нескольких дней при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.
- **Серологический метод** – ставят РА с листериозным диагностикумом для выявления антител. Реакция специфична и положительна со второй недели с последующим нарастанием титра антител.
- **Молекулярно-генетический метод -ПЦР**

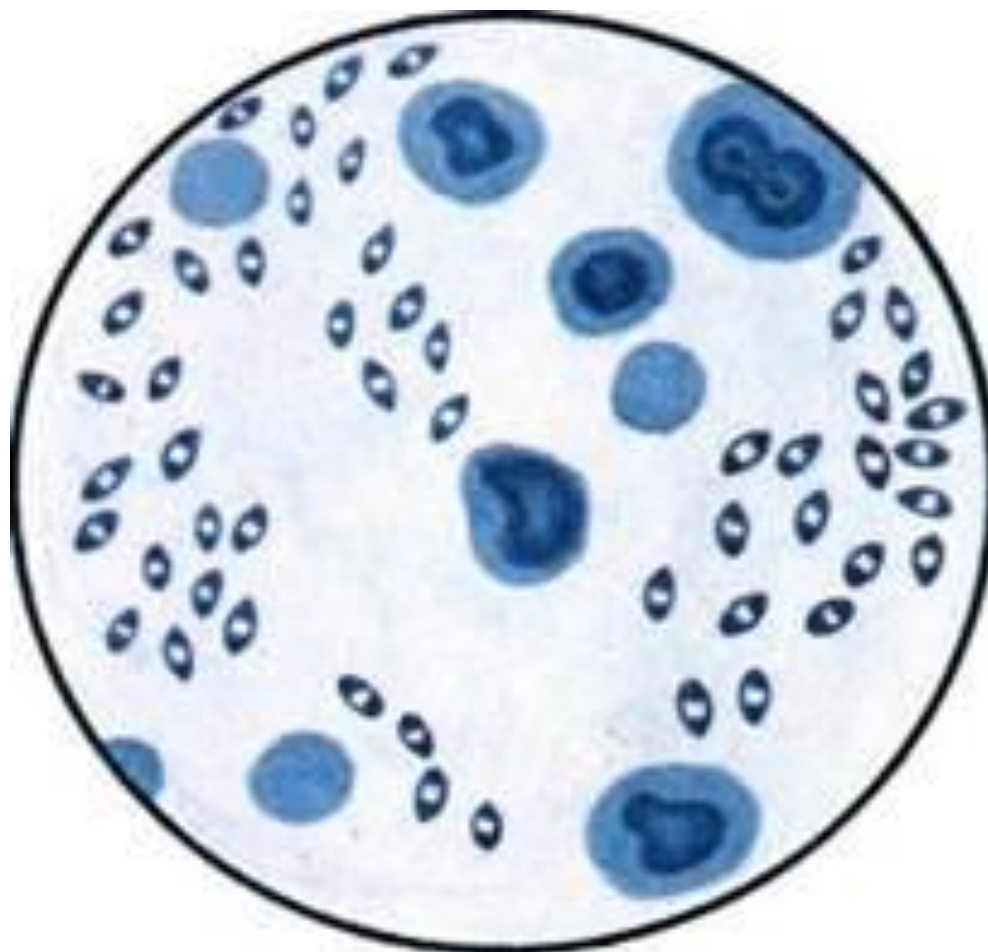
Лечение:

- *L.monocytogenes* не чувствительны к цефалоспорином и фторхинолонам.
- Положительный результат достигается при использовании ампициллина или эритромицина или триметоприм-сульфаметоксазола внутривенно.
- Часто применяемая комбинация антибиотиков ампициллин +гентамицин не оказывает должного эффекта поскольку гентамицин не способен проникать в клетки хозяина и повреждать листерии.

Род *Yersinia*

- Возбудитель чумы – *Yersinia pestis*.
- Возбудителем кишечного иерсиниоза является *Yersinia enterocolitica*.
- Возбудителем ложного туберкулеза (псевдотуберкулеза) является *Yersinia pseudotuberculosis*.
- Все представители рода *Yersinia* являются грамотрицательными палочковидными овоидными бактериями с размерами 1-2х0,4-0,7 мкм. Не образуют спор. Виды *Y.pseudotuberculosis* и *Y.enterocolitica* подвижны.

Возбудитель чумы- *Yersinia pestis*



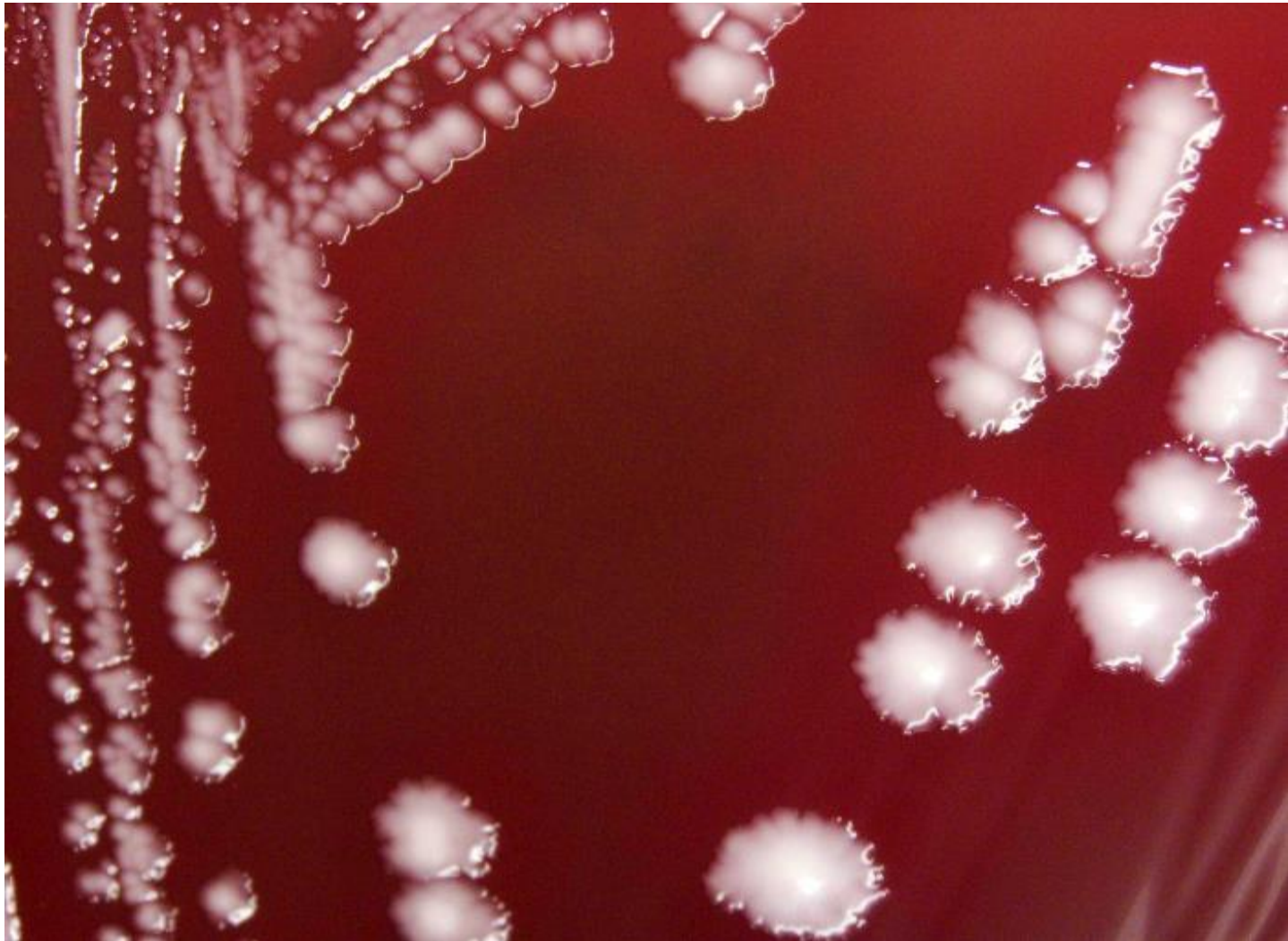
Yersinia pestis

(морфобиологические свойства)

- Грамотрицательная палочковидная бактерия размером 1-2х0,4-0,7 мкм, неподвижна, спор не образует, овальной формы. Образует нежную капсулу. Полиморфна. Поскольку цитоплазма распределена неравномерно, она окрашивается интенсивнее на концах. Это называется биполярным окрашиванием.
- Факультативный анаэроб, растет на обычной питательной среде. Селективными средами являются казеиновая среда и гидролизат тромба.
- В плотной питательной среде образует шероховатые колонии. Вирулентные бактерии через 48 часов инкубации образуют колонии в R-форме, напоминающие кружевные платочки., а слабовирулентные – гладкие S-колонии.
- При выращивании на жидкой питательной среде на поверхности бульона образует пленку, внутри образуя хлопья. Позже от поверхности бульона внутрь прослеживаются нити, напоминающие сталактиты.
- Обладает слабой биохимической активностью. Ферментирует декстрин, не расщепляет рамнозу и сахарозу, не растворяет желатин, не разлагает карбамид, не образует индол.

Yersinia pestis

(колонии на кровяном агаре)



Дифференциация на виды внутри рода *Yersinia*

Показатель	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>
Подвижность	-	+	+
Продукция индола	-	±	-
Гидролиз желатины	-	-	-
Реакция Фогеса – Проскауэра	-	±	-
Рамноза	-	-	+
Сахароза	-	+	-
Декстрин	+	-	-
Эскулин	+	±	-
Уреаза	-	+	+
Лизиндекарбоксилаза	-	-	-
Орнитидиндекарбоксилаза	-	+	-

Антигенная структура и факторы патогенности:

- Чумная палочка обладает комплексом антигенов, многие из которых относятся к факторам патогенности.
- **О-антиген (эндотоксин)** - токсичный для человека и животных .
- **Фракция I (F1-antigen)** –капсульный антиген, **защищает** бактерии от фагоцитоза, не оказывает токсического действия, **не** проявляет иммуногенные свойства.
- **Фракция II (F2-antigen)**, антагонист адренергических рецепторов, представлен белковоподобным веществом, локализованным внутриклеточно. Вызывает шок и смерть лабораторных животных: LD50 для мышей менее 1 мг (также токсичен для крыс). Мышиный токсин” обладает способностью ингибировать дыхательную активность митохондрий, понижая активность НАДФ-редуктазы.

Антигенная структура и факторы патогенности:

- **V/W (Vi)-антиген** состоит из белка (V-фракции) и липопотеина (W-фракции). Он проявляет антифагоцитарные свойства и способствует внутриклеточному размножению бактерий. Штаммы, содержащие только V/W-Ag, вирулентны для мышей.
- **Активатор плазминогена** — протеаза, активирующая лизис фибриновых сгустков, препятствующих диссеминированию возбудителя, и инактивирующая C3b и C5a компоненты комплемента.
- Кроме этого, *Y.pestis* синтезирует ферменты агрессии, такие как плазмокоагулаза, гемолизин, лецитиназа, гиалуронидаза и РНК-аза.

Xarici mühit amillərinə davamlılığı:

- очень чувствителен к воздействию высокой температуры и высыхания. При 100С погибает мгновенно, при 80С - 5 мин. Прямые солнечные лучи убивают за 2-3 минуты.
- Устойчивы к низким температурам. Сохраняются при 0 С - 6 месяцев, в замороженных трупах и блохах - до 1 года.
- Обычные концентрации дезинфицирующих растворов убивают их в течение 5-10 минут. *Y.pestis* особенно чувствителен к действию раствора HgCl_2 и фенола.

Источник инфекции и пути передачи:

- Источник инфекции – больные животные, в частности грызуны.
- Эпидемии чумы среди людей обычно следуют за эпизоотиями среди животных.
- Восприимчивость людей к чуме очень высокая. Индекс контагиозности приближается к единице.

Пути передачи:

- *Трансмиссивный путь(через укусы инфицированных блох)*
- *Контактный путь(при разделке шкур и мяса зараженных животных)*
- *Алиментарный путь(продукты, обсемененные чумными микробами)*
- *Воздушно-капельный путь(от больных легочной формой чумы)*

Патогенез и клинические проявления чумы:

- *Кожная форма чумы*
- *Бубонная форма чумы*
- *Кожно-бубонная форма*
- *Вторичные бубоны*
- *Первично-септическая форма*
- *Вторично-септическая форма*
- *Первично-легочная форма*
- *Вторично-легочная форма*
- *Кишечная форма*

Патогенез и клинические проявления чумы:

- Патогенез и клинические признаки заболевания зависят от путей заражения. Возбудители попадают в организм в основном трансмиссивно, либо контактно, через кожные покровы. В редких случаях (3-4%) наблюдают местный воспалительный процесс в виде пустулы и карбункула в месте проникновения возбудителя (кожная форма чумы). Чаще всего возбудители не вызывают воспалительных изменений кожи и с током лимфы распространяются в регионарные лимфатические узлы (преимущественно подмышечные и паховые). В лимфатических узлах развивается серозно-геморрагическое воспаление, которое иногда увеличивается до размеров куриного яйца и становится болезненным. Увеличенный лимфатический узел напоминает горошину и называется бубоном (бубонная форма чумы). В ряде случаев бубонная форма заболевания наблюдается совместно с кожной формой заболевания (кожно-бубонная форма). Нарушение барьерной функции лимфатических узлов приводит к генерализации процесса. Возбудители могут распространяться гематогенно в периферические лимфатические узлы и образовывать вторичные бубоны, а также может протекать вторичная септическая форма с развитием септически-пиемических очагов во внутренних органах. Гематогенное поступление возбудителей чумы в легкие приводит к развитию вторично-легочной формы болезни.

Бубонная форма чумы



Патогенез и клинические проявления чумы :

- *Первично-легочная форма* чумы развивается при воздушно-капельном заражении. Чумная пневмония сопровождается обильной серозно-геморрагической мокротой (объем мокроты может достигать нескольких литров), содержащей большое количество возбудителей. При отсутствии лечения обычно приводит к смерти.
- Кишечная форма болезни развивается при заражении алиментарным путем.
- После инфицирования быстрая генерализация процесса без местной симптоматики приводит к развитию первично-септической формы.

Септическая форма чумы



Микробиологическая диагностика:

- **Все мероприятия проводят в специализированных лабораториях.** В зависимости от клинической формы материалами для исследования являются пунктаты бубонов, мокрота, кровь, моча, рвотные массы, испражнения, трупный материал и др.
- **Методы исследования:** микроскопический, бактериологический, биологический и серологический.
- **Микроскопический метод:** микроскопия мазков окрашенных по Граму, Гимзе и метиленовым синим.
- В качестве экспресс-диагностики используют реакцию иммунофлюоресценции (РИФ).

Микробиологическая диагностика:

- **Бактериологический метод.** Патологический материал засевают на питательные среды; идентификацию выделенных культур проводят на основании морфологических, культуральных, биохимических свойств и чувствительности к бактериофагу.
- **Серологический метод(ИФА)**
- Биологическая проба проводится заражением морских свинок и крыс .
- **Молекулярно-генетический метод(ПЦР)**

Профилактика:

- *Неспецифическая профилактика* направлена на предупреждение заражения людей и возникновения эпизоотий в природных очагах.
- В случае выявления чумы проводятся карантинные мероприятия. Для лиц, состоявших в контакте с больными, назначают профилактическое лечение тетрациклином.
- *Для специфической профилактики* используют вакцины из убитых формалином микроорганизмов. Активную иммунизацию проводят лицам, находящимся в эндемических очагах и работающими с возбудителем.

Лечение:

Для лечения больных чумой используют стрептомицин. Альтернативным препаратом является тетрациклин, который можно использовать в комбинации стрептомицином.

Y.enterocolitica

Морфо-биологические свойства:

Y.enterocolitica – грамотрицательные палочки , размером 1.8-2.7х0.3-0.7мкм , подвижные, спор и капсул не образуют . Факультативные анаэробы , хорошо растут на обычных питательных средах . На мясо-пептонном агаре образуют мелкие блестящие колонии в виде капелек росы. Глюкозу и сахарозу ферментируют до кислоты, не расщепляют рамнозу, продуцируют уреазу.

Антигенная структура - обладает О-, Н-антигенами

Факторы патогенности - продуцируют энтеротоксин

Патогенез и клинические проявления кишечного йерсиниоза

- Кишечный йерсиниоз –инфекционное заболевание с поражением кишечника и развитием мезентериального лимфаденита . Основной симптом – гастроэнтерит
- Поражение суставов – полиартриты .
- *Этиологический агент анкилозирующего спондилита*

Y.pseudotuberculosis

Морфо-биологические свойства:

Y.pseudotuberculosis – грамотрицательные подвижные бактерии размером 0.8-2x0.4-0.6 мкм не образуют спор, образуют капсулу. Факультативный анаэроб, хорошо растет на простых питательных средах. На плотных питательных средах при температуре 28°C образует колонии в S-форме, при температуре 37°C - колонии в R-форме. На жидких средах образует пленку. Биохимически неактивен: ферментируют рамнозу, продуцируют уреазу, не ферментируют сахарозу.

Антигенная структура - обладает О-, Н-антигенами.

Факторы патогенности - эндотоксин (ЛПС).

Патогенез и клинические проявления псевдотуберкулеза:

- *Y.pseudotuberculosis* – инвазировав слизистую кишечника транскитозом через М-белки, попадает в мезентериальные лимфатические узлы, вызывая мезентериальный лимфаденит.
- Клинические симптомы – боли в эпигастральной области, симптомы раздражения брюшины, которые имитируют симптомы острого аппендицита.

Микробиологическая диагностика:

- **Материалы исследования – испражнения, кровь**
- **Бактериологический метод.** Патологический материал засевают на питательные среды (МПА, Эндо, Мак Конки). После выделения чистой культуры проводят идентификацию на основании морфологических, культуральных, биохимических свойств.

Серологический метод – РПГА или ИФА

Возбудитель туляремии

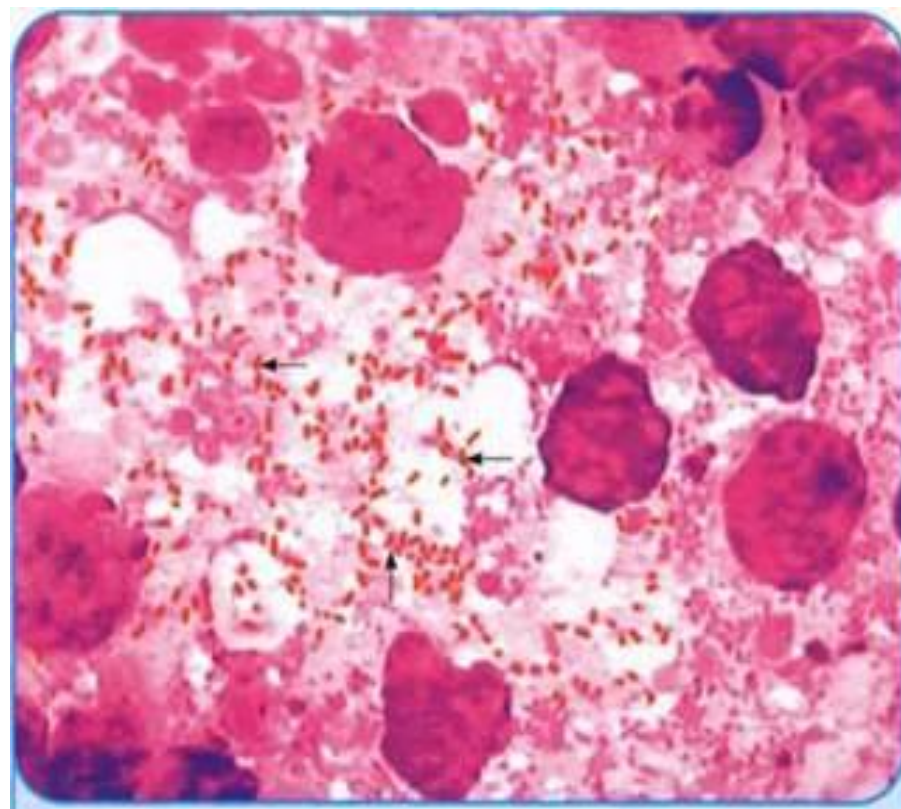
Морфо-биологические свойства:

Francisella tularensis —

мелкие грамотрицательные коккобациллы размером 0,3-0,6х0,1-0,2мкм.

Им свойственен полиморфизм: могут иметь сферическую, нитевидную и др. формы, проходящие через бактериальные фильтры.

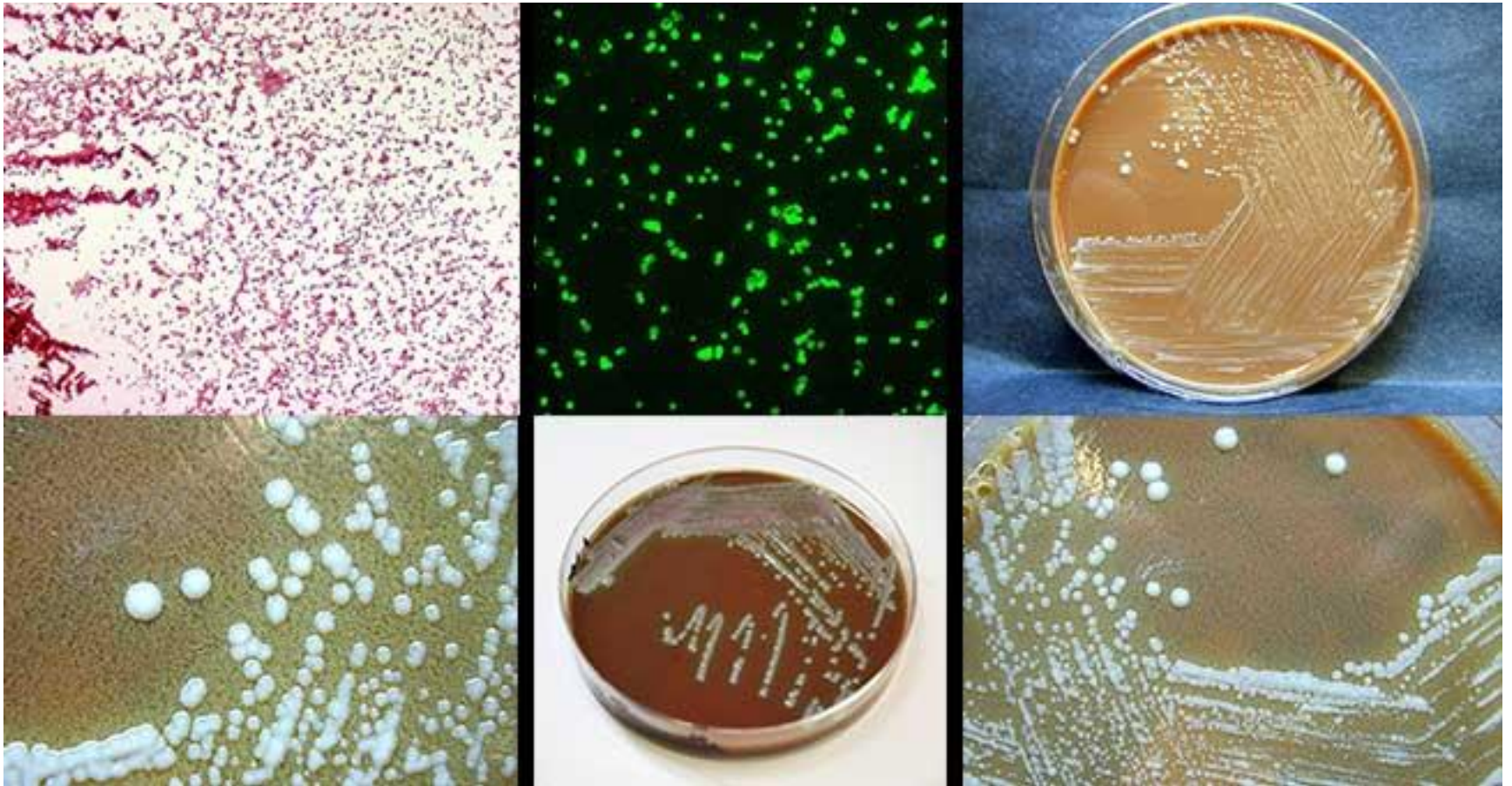
Спор не образуют, неподвижны, могут образовывать нежную капсулу.



Francisella tularensis

- Факультативный анаэроб . На простых питательных средах не растет . Культивируются на желточных средах(среда Мак-Коя) или на средах с добавлением крови и цистеина(среда Френсиса) при температуре 37-38⁰С .
- *На плотных питательных средах в течение* 4-14 дней образует мелкие колонии молочно-белого цвета диаметром 1-3мм .
- Вирулентные штаммы образуют S-колонии . При культивировании на искусственных питательных средах вирулентные S-формы превращаются в авирулентные и неиммуногенные R-формы.
- Возбудитель туляремии хорошо культивируется в желточном мешке куриного эмбриона.

Francisella tularensis



Устойчивость к факторам внешней среды:

- Не устойчивы к воздействию высокой температуры, разрушаются мгновенно при 100 С и через 20 минут при 60 С.
- Может сохраниться 5-6 месяцев при низких температурах и во влажных условиях. Разрушается за 10-15 минут под действием обычных концентраций дезинфицирующих средств.

Чувствительность животных

- Возбудитель туляремии является патогеном примерно для 150 видов позвоночных и 100 видов беспозвоночных.
- В природных условиях резервуарами возбудителей являются дикие животные, преимущественно мелкие грызуны и кролики, а также домашние животные - овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

Источник инфекции и пути заражения:

- Туляремия – природно-очаговое заболевание . Источником инфекции в естественных условиях являются главным образом мелкие грызуны(полевые мыши , водяные крысы, ондатры и др.) и зайцы . На территории природных очагов туляремией могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот.

Патогенез заболевания:

- Возбудитель туляремии - *F.tularensis* попадает в организм человека через кожу, слизистые оболочки глаз, дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта.
- После проникновения в организм возбудитель распространяется с током лимфы. Несмотря на активное поглощение бактерий фагоцитами, полного уничтожения не происходит, что создает предпосылки для депонирования бактерий в лимфатических узлах. Часть возбудителей погибает, что сопровождается выделением эндотоксина, действующего на лимфатические узлы с развитием первичных очагов и формированием туляремийных бубонов.

Патогенез заболевания:

- При туляремии также, как и при чуме развиваются первичные (депонирование возбудителя в лимфоузлах) и вторичные бубоны (генерализованная форма). Периодически из сформированных первичных очагов возбудитель проникает в лимфо- и кровоток, что приводит к распространению бактерий в печень, селезенку, легкие, костный мозг и другие органы, образуя вторичные очаги.

Клинические проявления бубонной формы туляремии:

(бубонная, язвенно-бубонная, глазо--бубонная и др.)



Микробиологическая диагностика:

- **Бактериологический метод** – хотя выделить возбудитель из патологического материала (кровь, пунктат из бубона, отделяемое конъюнктивы, налет из зева, мокрота и др.) возможно, бактериологический метод в диагностике туляремии редко дает положительные результаты.
- **Серологический метод – РА.** В качестве диагностикума используют суспензию убитых формалином бактерий. Положительный результат реакции при разведении сыворотки 1:160 и больше выявляют у лиц, болеющих туляремией и перенесших инфекцию.
- **Аллергическая проба** – ставят накожную или внутрикожную пробу с использованием взвеси бактерий, убитых нагреванием (тулярин). За положительный результат принимают инфильтрат диаметром не менее 5 мм.

Лечение:

- Стрептомицин
- Гентамицин
- Тетрациклин

F.tularensis не чувствительны бета-лактамным препаратам!

Профилактика:

- **Неспецифическая профилактика** (борьба с грызунами)
- **Специфическая профилактика.** Вакцинацию проводят лицам, относящимся к группе риска с использованием живой ослабленной туляремийной вакцины.