Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

ФБГОУ ВПО СПбГАВМ

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Реферат по микробиологии на тему

«Диплококковая инфекция. Лабораторная диагностика, профилактика, лечение»

Санкт-Петербург 2014

Введение

Пневмококки (синоним: Pneumococcus Talamon - Frankel, Streptococcus lanceolatus Pasteur, Micrococcus pneumoniae, Diplococcus pneumoniae Frankel, Streptococcus pneumoniae) - выделяемые при пневмонии человека ланцетообразные диплококки. Открыты в 1881 г. Пастером и независимо от него Штернбергом в США. Этиологическое отношение пневмококков к пневмонии человека установили Френкель и Вейксельбаум в 1884 г. Пневмококки, выделенные из организма человека или животного,- овальные или ланцетообразные кокки, располагаются парами; окрашиваются положительно по Граму, величиной около 1 мк.

Морфология и культурально-биохимические свойства

Пневмококки - это диплококки, у которых стороны клеток, обращенные друг к другу, уплощены, а противоположные стороны вытянуты, поэтому они имеют ланцетовидную форму, напоминающую пламя свечи. Размер пневмококков 0,75-0,5 × 0,5-1 мкм, располагаются они парами. В жидких питательных средах часто образуют короткие цепочки, приобретая сходство со стрептококками. Превмококки неподвижны, не имеют спор, в организме образуют капсулу, окружающую оба кокка. В капсуле содержится термоустойчивое вещество антифагин (защищающий пневмококк от фагоцитоза и действия антител). При росте на искусственных питательных средах пневмококки утрачивают капсулу. Пневмококки грамположительны (рис.1). В старых культурах встречаются грамотрицательные бактерии.

 



Рис.1. Окраска по Граму

Пневмококки - факультативные анаэробы. Растут при температуре 36-37° С и рН среды 7,2-7,4. Они требовательны к средам, так как не могут синтезировать многие аминокислоты, поэтому растут только на средах с добавлением нативного белка (крови или сыворотки). На агаре с сывороткой образуют мелкие, нежные, довольно прозрачные колонии. На агаре с кровью вырастают влажные колонии зеленовато-серого цвета, окруженные зеленой зоной(рис.2), что является результатом перехода гемоглобина в метгемоглобин. 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.



Рис.2. Зеленая зона А-гемолиза на кровяном агаре

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

Факторы патогенности. Пневмококки продуцируют гиалуронидазу, фибринолизин и др.

Токсинообразование. Пневмококки образуют эндотоксин, гемолизин, лейкоцидин. Вирулентность пневмококков связана также с наличием в капсуле антифагина.

Антигенная структура и классификация. В цитоплазме пневмококков имеется общий для всей группы протеиновый антиген, а в капсуле - полисахаридный антиген. По полисахаридному антигену все пневмококки разделяют на 84 серовара. Среди патогенных для человека наиболее часто встречаются I, II, III серовары.

Устойчивость к факторам окружающей среды. Пневмококки относятся к группе нестойких микроорганизмов. Температура 60° С губит их через 3-5 мин. К низким температурам и высушиванию они довольно устойчивы. В высушенной мокроте сохраняют жизнеспособность до 2 мес. На питательной среде они сохраняются не более 5-6 дней. Поэтому при культивировании необходимо делать пересевы через каждые 2-3 дня. Обычные растворы дезинфицирующих веществ: 3% фенол, сулема в разведении 1:1000 губят их через несколько минут.

Особенно чувствительны пневмококки к оптохину, который убивает их в разведении 1:100000.

Пути передачи. Воздушно-капельный путь, может быть воздушно-пылевой.

Входные ворота. Слизистая оболочка верхних дыхательных путей, глаз и уха.

Патогенность. Наиболее чувствительны к пневмококкам белые мыши и кролики. Подкожное введение небольших доз культуры вызывает гибель мышей от септицемии в течение 12-36 ч. При заражении слабовирулентными культурами развиваются длительно протекающие хронические заболевания.

Наиболее вирулентны свежие культуры пневмококка, выделенные из трупов молодняка, павшего от диплококковой инфекции (при токсикосептической форме). Токсины специфичны, то есть, нейтрализуются только противодиплококковой сывороткой.

Эпизоотология

Диплококковая (пневмококковая инфекция) - заразная болезнь различных видов животных, которую вызывает Streptococcus pneumoniae . Наиболее восприимчив молодняк, у которого различают септическую легочную, суставную и смешанную формы болезни. При хроническом течении развиваются пневмония, бронхопневмония или артриты. У взрослых животных возможно проявление в виде гнойно-катарального эндометрита, гнойно-катарального или фибринозного мастита с острым или хроническим течением.

Диплококковая инфекция телят, ягнят и поросят встречается в виде энзоотических вспышек повсеместно и наносит хозяйствам значительный экономический ущерб.

Диплококковой инфекцией заболевают животные разных видов с первых суток жизни до 2-6 мес, а также взрослые животные после родов. Наиболее восприимчивы животные в возрасте от 15 сут до 2,5 мес. Источник возбудителя инфекции - больные и переболевшие животные, бактерионосители. Заражение происходит алиментарным и аэрогеннымпутём, чаще через инфицированное молоко матери. Факторами передачивозбудителя могут быть молочная посуда, загрязнённая подстилка, предметы ухода и руки ухаживающего персонала. Предрасполагает к заболеванию ослабление резистентности. Вспышки диплококковой инфекции возникают главным образом в зимние и весенние месяцы. После переболевания формируется иммунитет продолжительностью до 1 года.

Патогенез. Вирулентные диплококки, попав в организм, быстро проникают в кровь и подавляют фагоцитоз, вызывают септицемию. Эндотоксины возбудителя повреждают стенки кровеносных сосудов, в результате чего на их серозных покровах и слизистых оболочках возникают множественные кровоизлияния. Инкубационный период болезни длится 1- 5 дней. Протекает она сверхостро, остро, подостро и хронически. При сверхострой форме животные внезапно отказываются от молока, у них наступает угнетение, появляются мышечная дрожь, лихорадка (40-42 °С). Больной молодняк быстро слабеет, у него отмечаются хрипящее дыхание, выделение из носа пенистой жидкости (отек легких), аритмичный пульс.

Смерть наступает через несколько часов. Острое течение вызывает угнетение, лихорадку (41-42°С), учащение пульса и дыхания, гиперемию коньюктивы, слезотечение, гнойное выделение из носа. Животные погибают через 1-2 дня. При подостром течении болезни к описанным явлениям присоединяется воспаление суставов. У ягнят и поросят часто начинается понос. Животные худеют. На 2-3-й день многие из них погибают. Хроническое течение процесса обычно наблюдается у молодняка более старшего возраста (1-4 месяца). При этом у них отмечаются перемежающаяся лихорадка, периодические поносы, кашель, хрипы, очаги притупления в легких. Животные худеют.



Рис. 3. Артрит у коровы

У человека пневмококки могут вызвать гнойно-воспалительные заболевания разной локализации. Специфическими для пневмококков являются:

) крупозная пневмония;

) ползучая язва роговицы;

) отит.

Наиболее частым заболеванием является крупозная пневмония, захватывающая одну, реже две или три доли легкого. Заболевание протекает остро, сопровождается высокой температурой, кашлем. Заканчивается обычно критически.

пневмококковый инфекция биохимический инкубационный

Патологоанатомические изменения

При септической и септико-токсической формах диплококковой инфекции на вскрытии обнаруживают множественные кровоизлияния во внутренних органах, геморрагии, экссудат в подкожной клетчатке, сердечной сумке; печень увеличена, переполнена кровью; селезёнка плотной консистенции, увеличена, вишнёвого цвета. При лёгочной форме присоединяется геморрагическое воспаление лёгких с множественными кровоизлияниями, при кишечной - геморрагический гастроэнтероколит, при суставной - артриты с изъязвлением суставных поверхностей.

Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции

Материал для исследования: трупы молодняка, органы, трубчатая кость, суставы, головной мозг, кровь из сердца, выделения из половых органов, молоко, мокрота, гной, спинномозговая жидкость.

Бактериоскопическое исследование. Из изучаемого материала (кроме крови) готовят два мазка, один из которых окрашивают по Граму, а другой (для обнаружения капсул) - по Бурри или по Козловскому: микроорганизмы и каплю туши, нанесенные на поверхность стекла, смешивают круговыми движениями для получения обычного мазка. Тушь предварительно разводят изотоническим раствором натрия хлорида в соотношении 1:4. Мазок высушивают на воздухе, не фиксируют и окрашивают в течение 2-3 мин формолгенциановым фиолетовым (10 мл 40 % формалина и 1,5 г генциано-вого фиолетового). Вместо формолгенцианового фиолетового можно применять 0,33 % водный раствор фуксина и 3 % щелочной раствор метиленового синего. При микроскопии на черно-сером фоне видны неокрашенные капсулы, в которых располагаются клетки бактерий фиолетового цвета. Пневмококки расположены попарно, клетки их имеют вытянутую форму в виде пламени свечи и окружены капсулой . Таким образом, на основании микроскопии можно судить о наличии возбудителя. Однако более достоверные данные получают при бактериологическом исследовании.



Рис. 4. Пневмококки в мазке из мокроты

Бактериологическое исследование. Для выделения чистой культуры 5-10 мл крови сеют в сывороточный бульон (1 часть сыворотки и 3 части МПБ, рН 7,2-7,4) или в сахарный бульон, или в специальную среду, 100 мл которой содержат 1,8-2,0 мл агар-агара, 70-75 мл гидролизата по Хоттингеру или гидролизата казеина (1,8-2,0 г/л аминного азота), 20-25 мл гидролизата бычьих сердец (1,40-1,60 г/л аминного азота), 4- 5 мл дефибринированной крови лошади, 0,5-0,7 мл экстракта пекарских дрожжей. После 18-24-часовой инкубации в термостате производят пересев в чашку с 10 % кровянымагаром. Спинномозговую жидкость центрифугируют и осадок сеют на кровяной агар. Колонии пневмококка напоминают колонии стрептококка: мелкие, почти плоские, непрозрачные, с ореолом зеленого цвета, реже гемолиза. Характерно вдавление в центре колонии.



Рис. 5. Пневмококки в чистой культуре с бульона

Непосредственный посев материала на питательные среды (мокрота, гной) обычно не дает положительного результата, так как в присутствии сапрофитов, особенно гнилостных микроорганизмов, рост пневмококков подавляется. Поэтому гной и мокроту предварительно обрабатывают - выбирают комочки, растирают их в фарфоровой ступке, добавляя 1 мл изотонического раствора натрия хлорида, и вводят внутрибрюшинно белым мышам. Мыши очень чувствительны к пневмококку, они погибают от пневмококковой септицемии через 18- 72 ч. Труп мыши вскрывают, кровь из сердца, кусочки внутренних органов и перитонеальную жидкость сеют в чашку с кровяным агаром и в пробирку с сывороточным бульоном.



На основании морфологических и культуральных свойств трудно дифференцировать пневмококки от зеленящих стрептококков. Для этого применяют реакцию растворения пневмококков желчью: 1 мл бульонной культуры вносят в стерильную пробирку и добавляют 0,5 мл бычьей желчи. Через 10-15 мин пребывания в термостате происходит полный лизис пневмококков. Контролем является пробирка с бульонной культурой пневмококка без желчи. Зеленящий стрептококк, колонии которого похожи на колонии пневмококка, не лизируется желчью. При наличии лизиса производят посев в среде «пестрого» ряда. В отличие от стрептококка, пневмококк расщепляет инулин с образованием кислоты и образует аммиак из аргинина.

На основании проведенного исследования можно окончательно определить вид выделенного микроорганизма. Учитывается ланцетовидная форма диплококков, наличие капсулы в нативном материале, высокая вирулентность для белых мышей, растворение желчью и расщепление инулина.

Профилактика и меры борьбы

Профилактика и меры 6орьбы основаны на повышении резистентности организма путём соблюдения зоогигиенических и вететеринарно-санитарных правил ухода и содержания беременных животных и новорождённого молодняка. В неблагополучных хозяйствах коровы, больные маститом и эндометритом, не должны иметь контакта с молодняком, их молоко телятам не спаивают. С профилактической целью новорождённым телятам на 2-е сутки вводят антидиплококковую сыворотку в профилактической дозе, а на 8-е сут. вакцинируют формолвакциной противдиплококковой септицемии телят, ягнят и поросят. Стельным коровам и нетелям за 1-2 месяца до отёла внутримышечно дважды с 7-суточным промежутком вводят по 30 мл вакцины. Ягнят и поросят вакцинируют с 10-суточного возраста дважды с 7-дневным интервалом. Поросят и супоросных маток можно иммунизировать поливалентной формолвакциной против паратифа, пастереллёза и диплококковой инфекции.

Для предупреждения заболевания важное значение имеет полноценное кормление животных, поддержание нормального санитарного режима в помещениях для молодняка и их систематическая профилактическая дезинфекция. Маток с маститами, эндометритами изолируют и лечат, молоко, полученное от них, уничтожают. Помещения подвергают механической очистке и дезинфекций 2%-м раствором карболовой кислоты.

Лечение

Больных животных лечат антидиплококковой сывороткой в сочетании с антибиотиками и сульфаниламидными препаратами.

Биопрепараты

Для специфической профилактики диплококковой инфекции используют полужидкую формолвакцину, противодиплококковую сыворотку, поливалентную формолквасцовую вакцину против сальмонеллеза, пастереллеза и диплококкоза поросят.

Применяют пенициллин, биомицин, тетрациклин, окситетрациклин, полимиксин М, которые являются эффективными средствами против диплококков как при острых септических случаях, так и при подострых, хронических и осложненных пневмонией.