

ТЕМА 12

Введение в частную микробиологию. Микробиологическая диагностика стафилококковых и стрептококковых инфекций. Микробиологическая диагностика инфекций, вызываемых патогенными нейссериями и условно-патогенными бактериями (роды *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*)

Частная медицинская микробиология

- * Медицинская микробиология - изучает особенности патогенных для человека микроорганизмов и патогенез болезней , вызванных данными микроорганизмами.
- * Частная микробиология изучает в отдельности свойства микроорганизмов. Подразделяется на:
 - * **Бактериология**
 - * **Вирусология**
 - * **Микология**
 - * **Протозоология**

Стафилококки :

Классификация :

Семейство : *Micrococcaceae*

Род : *Staphylococcus*

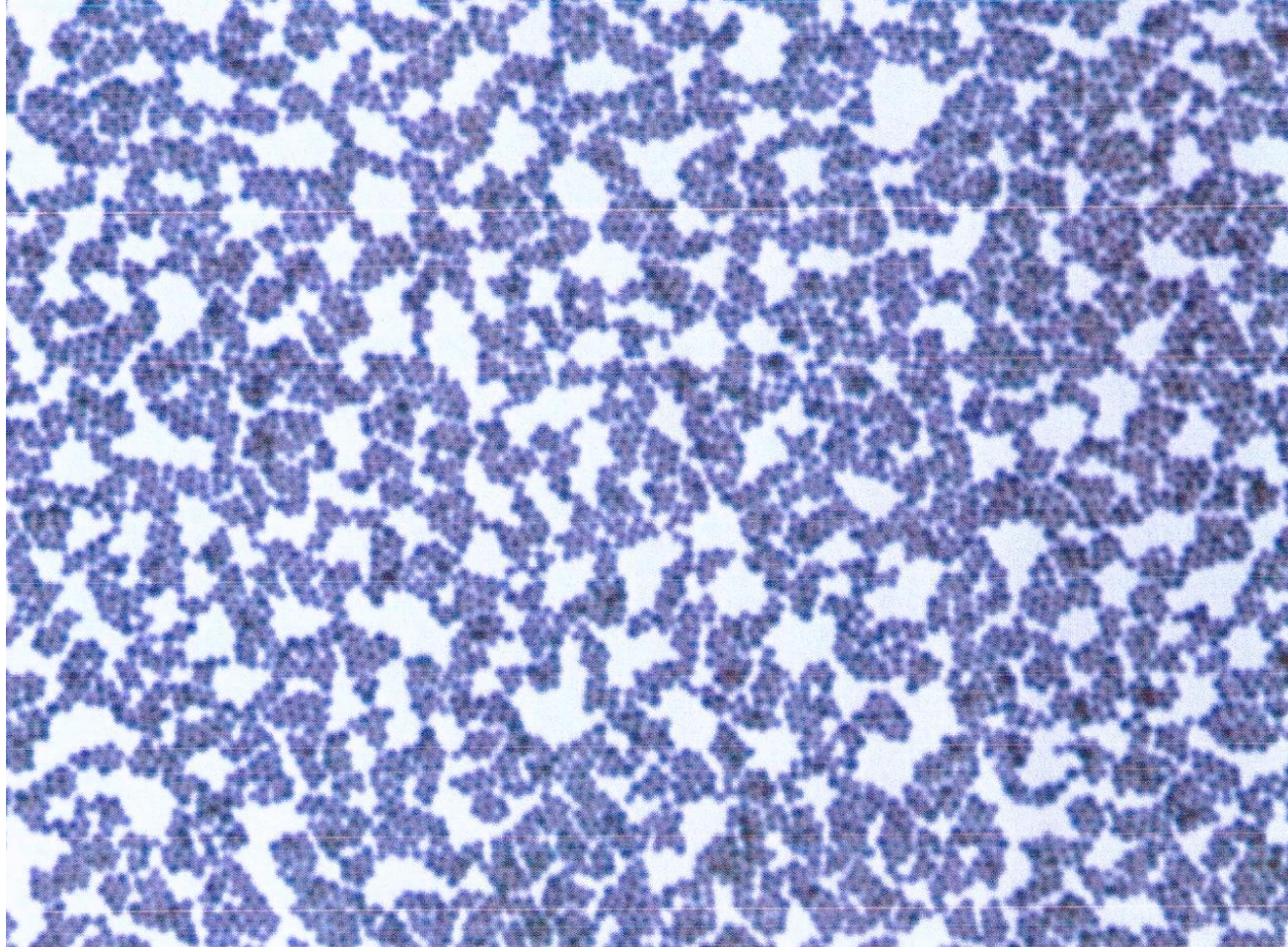
Вид : *S.aureus*, *S.epidermidis*,
S.saprophyticus

Морфобиологические особенности:

Род *Staphylococcus* — грамположительные , неподвижные бактерии сферической формы диаметром 1 мкм .Спор не образуют , могут образовывать микрокапсулу. Свойство образовывать скопления , напоминающие «гроздья винограда» в результате деления во взаимно перпендикулярных плоскостях .

Staphylococcus aureus

(мазок из чистой культуры , окраска по Граму, x100)



Морфобиологические свойства :

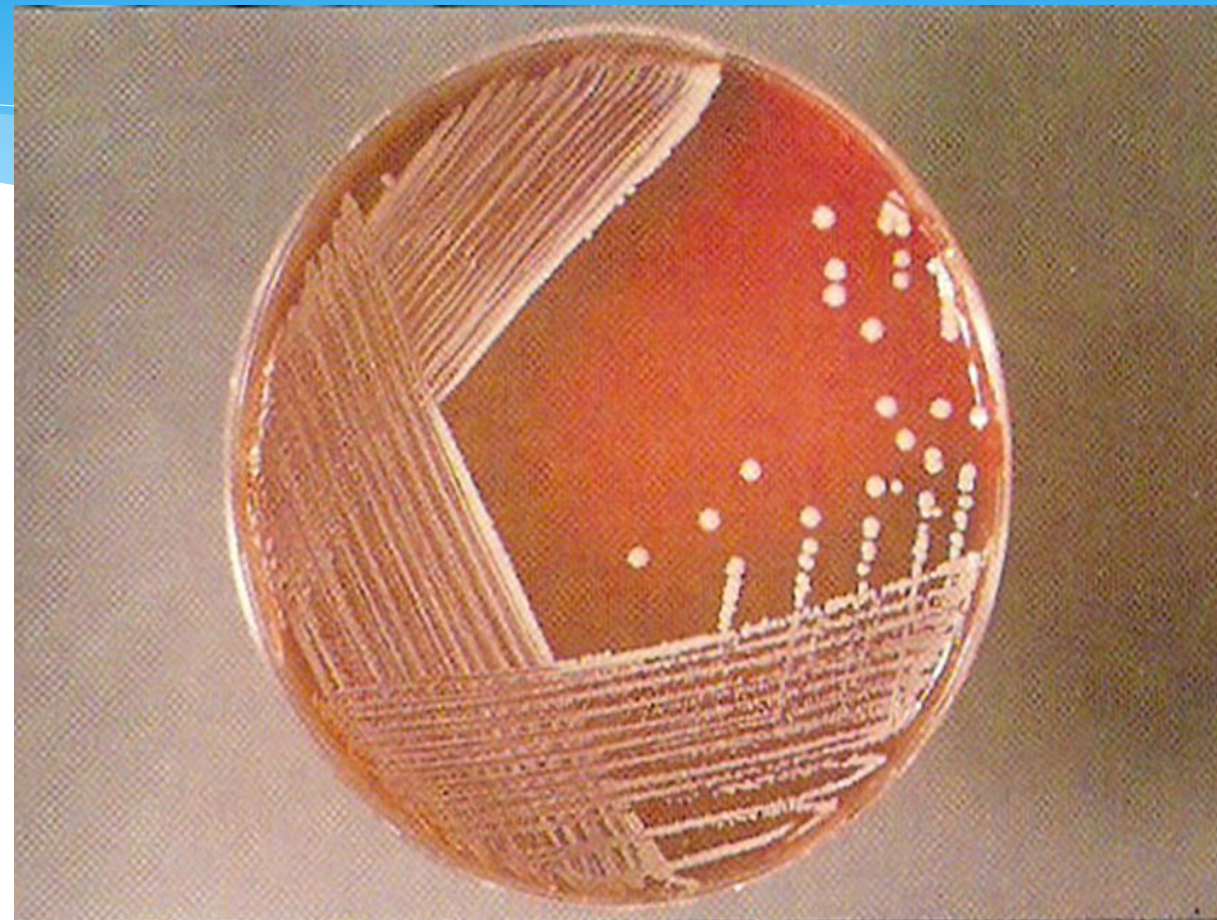
На плотных питательных средах - образуют круглые, гладкие, выпуклые, блестящие колонии; *Staphylococcus aureus* вырабатывает золотистый пигмент, окрашивающий *колонии в желтый цвет*.

На жидких питательных средах - дают диффузное помутнение, а затем рыхлый осадок.

Культуральные свойства:
(на кровяном агаре вызывают гемолиз)



Staphylococcus aureus
(гемолитические колонии, зоны бета-гемолиза)



Staphylococcus epidermidis
(негемолитические колонии)

Род Staphylococcus

Антигенные свойства

микрокапсула -

пептидогликан -

тейхоевая кислота - обладает видоспецифичностью:

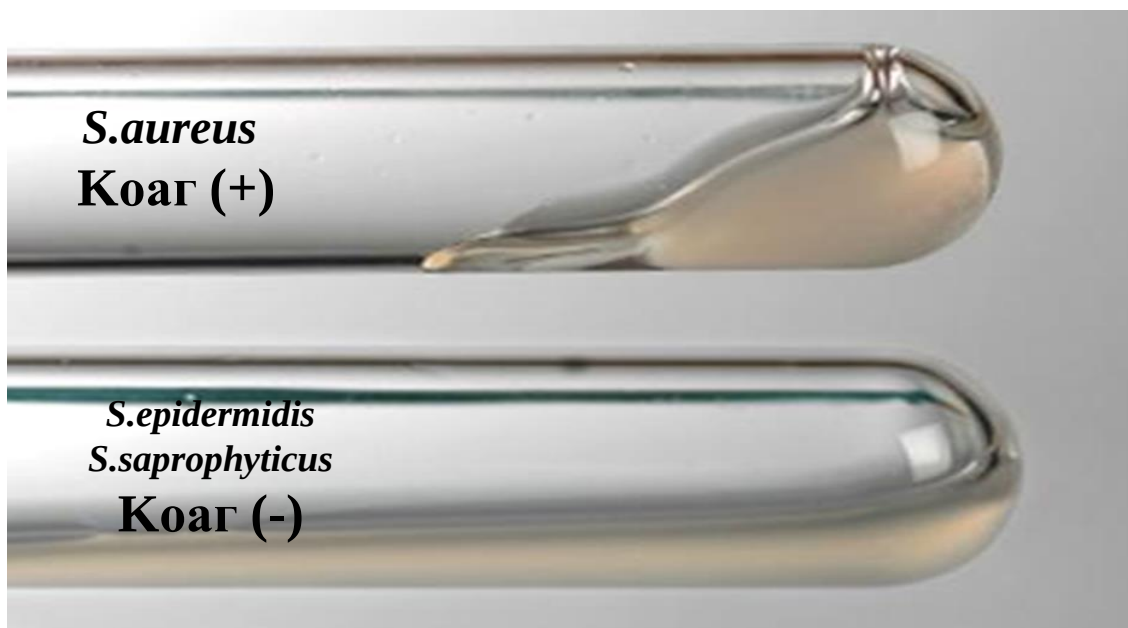
- *S.aureus - рибиттейхоевая кислота*
- *S.epidermidis - глицеринтейхоевая кислота*
- *S.saprophyticus – рибит-глицеринтейхоевая к.*

Биохимические свойства стафилококков

(внутривидовые дифференциальные признаки)

Признак	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
β-гемолитическая активность	+	-	-
Восстановление нитратов	+	+	-
Ферментация маннита в анаэробных условиях	+	-	-
Ферментация маннита в аэробных условиях	+	-	+
Коагулаза	+	-	-
Гиалуронидаза	+	±	-
Фибринолизин	±	±	-
Щелочная фосфатаза	+	+	-
ДНКаза	+	-	-

Род *Staphylococcus* (биохимические свойства)



ДНКаза (-)
S. epidermidis

ДНКаза (+)
S. aureus

Staphylococcus aureus

(определение лецитиназной активности на желточно-солевом агаре)

Лецитиназа *S. aureus* вызывает образование радужного венчика (непрозрачная зона) вокруг колоний на питательной среде.



Факторы патогенности *Staphylococcus aureus*

➤ КЛЕТОЧНЫЕ КОМПОНЕНТЫ :

микрокапсула

компоненты клеточной стенки

➤ ферменты :

лецитиназа

коагулаза

фибринолизин

гиалуронидаза

каталаза

бета-лактамаза

➤ ТОКСИНЫ :

гемолизин (alfa-,beta-,delta-gamma-)

лейкоцидин

эксфолиатины

токсин синдрома токсического шока (TSST-1)

энтеротоксины

Инфекции, вызванные стафилококками:



Болезни кожи

пиодермии
фурункул
карбункул
фолликулит
сикозы
ячмень(инфекции век)
импетиго
пемфигус
панариций
гидраденит
раневые инфекции
Болезнь Риттера



Гнойно-воспалительные процессы

абсцессы
флебит

остеомиелит
менингит
эндокардит
стоматит
энтерит
перитонит
конъюнктивит
уретрит
отит

артрит
пневмония
ангина
сепсис
плеврит
пиелит

цистит

мастит
эндокардит



Пищевые отравления

вызывают
стафилококки,
выделяющие
энтеротоксины



Синдром токсического шока

вызывается
штаммами
S.aureus,
синтезирующими
TSST-1-токсин

Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций:



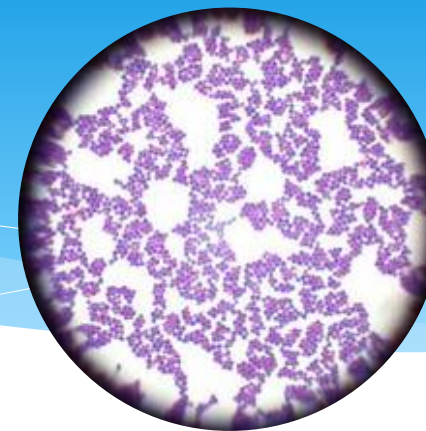
➤ *Микроскопический*

- приготовление мазка из патологического материала
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму
- стафилококки в мазке могут располагаться поодиночке, парами, тетрадами и в виде коротких цепочек

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- первичная инокуляция патологического материала в питательные среды
- инкубация при температуре 37°C в течение 18-24 часов
- идентификация выделенной культуры по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам
- определение чувствительности к антибиотикам

Бактериологический метод:



- Гемолиз на кровяном агаре
- Каталазный тест
- Лецитиназный тест
- Плазмокоагулазный тест и др .



Окончательный ответ:
выделение *Staphylococcus aureus*



Результаты определения
чувствительности к
антибиотикам

Streptokokki (klassifikaüiä)

Semeystvo Streptococcaceae vklöçает

- * Streptococcus
- * Enterococcus
- * Aerococcus
- * Leuconostoc
- * Pediococcus
- * Lactococcus



Streptococcus

Streptokokki (klassifikaüiä)

Классификация по культуральным свойствам :

- * Строгие анаэробы (Род *Peptostreptococcus*)
- * Аэроб
- * Факультативные анаэробы

Классификация по гемолитической активности на кровяном агаре:

- * альфа-гемолитические стрептококки - (расщепление гемоглобина в метгемоглобин)
- * бета-гемолитические стрептококки - (полный гемолиз эритроцитов)
- * гамма- гемолитические стрептококки - (негемолитические стрептококки , визуально не видимый гемолиз)



Streptokokki (klassifikaüiä)

Классификация по антигенной структуре (по Р.Ленсфилд):

- * основана на наличии **C-полисахаридов** в клеточной стенке аэробных стрептококков . В соответствии с этим выделяют 20 серогрупп – А, В, С, D, Е, F, G, H, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V .
- * в патологии человека основная роль принадлежит бета-гемолитическим стрептококкам серогруппы **A** - *Streptococcus pyogenes* .

Таксономия:

Семейство: *Streptococcaceae*

Род: *Streptococcus*

Вид: *Str.pyogenes*, *Str.pneumoniae*,
Str.viridans, *Str.agalactiae*

Морфо-биологические свойства:

Род *Streptococcus* — грамположительные бактерии сферической формы, диаметром 1 мкм, неподвижны, спор не образуют. В мазках из чистой культуры могут располагаться попарно или цепочками



***Streptococcus pyogenes* –антигенная структура**

- * **Видоспецифический антиген** - нуклеопротеид, расположенный в цитоплазме
- * **Группоспецифические антигены** - полисахариды клеточной стенки.
- * **Типоспецифические антигены (M -,T-, R-)** - белковые антигены наружного слоя клеточной стенки.

Streptococcus pyogenes – культуральные свойства:

S. pyogenes – требовательны к питательным средам

Растут на сложных питательных средах с добавлением крови, сыворотки, асцитической жидкости, углеводов.

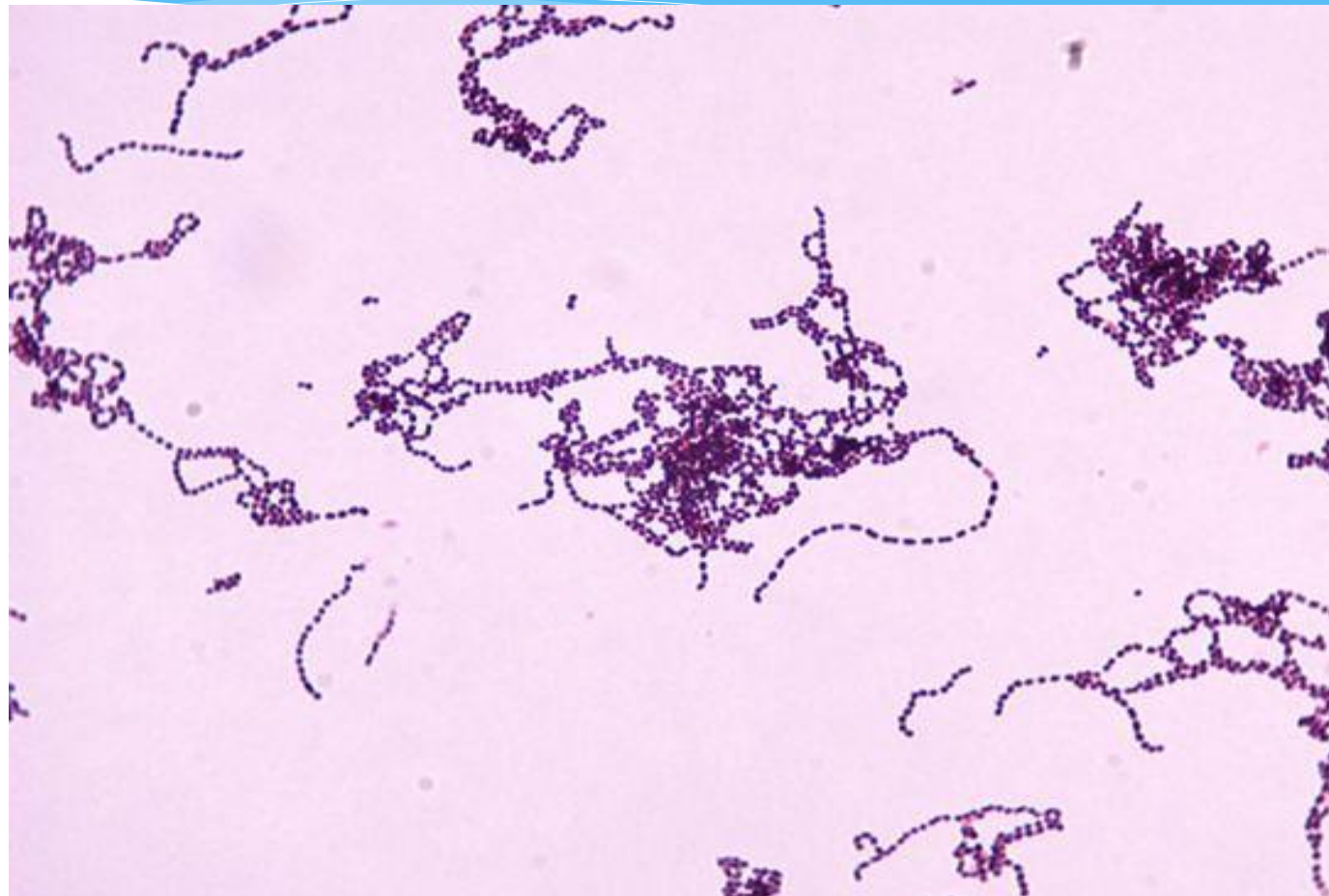
При росте на плотных питательных средах образуют мелкие, плоские, сероватые, мутные колонии диаметром около 1 мм (S-колонии). На жидких средах дают помутнение и небольшой хлопьевидный осадок.

На кровяном агаре вызывают *бета-гемолиз*.



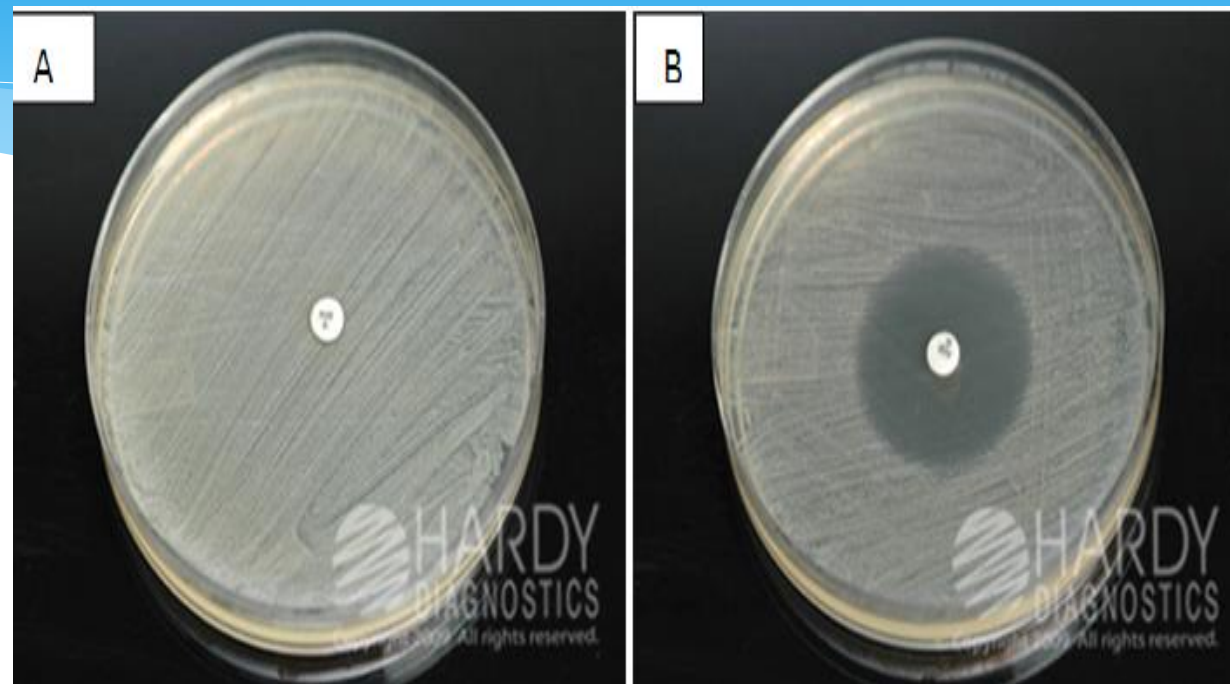
Streptococcus pyogenes

(в мазке из чистой культуры, окраска по Граму)



Биохимические свойства стрептококков :

Признак	<i>S.pyogenes</i>
Гемолитическая активность	бета-гемолиз
Каталаза	-
Глюкоза	+
Лактоза	+
Сахароза	+
Мальтоза	+
Маннит	+
Инулин	-
Сбраживают молоко	+
Разжижают желатин	-
Образуют индол	-



Бацитрациновый тест

Стрептококки группы В устойчивы
Стрептококки группы А чувствительны

Streptococcus pyogenes (факторы патогенности)

Токсины :

■ Компоненты клеточной стенки:

микрокапсула

липотейхоевая кислота

М-протеин

■ Ферменты патогенности:

гиалуронидаза

дезоксирибонуклеаза (ДНК-аза)

никотинадениндинуклеотидаза(НАД-аза)

стрептокиназа

С5а -пептидаза

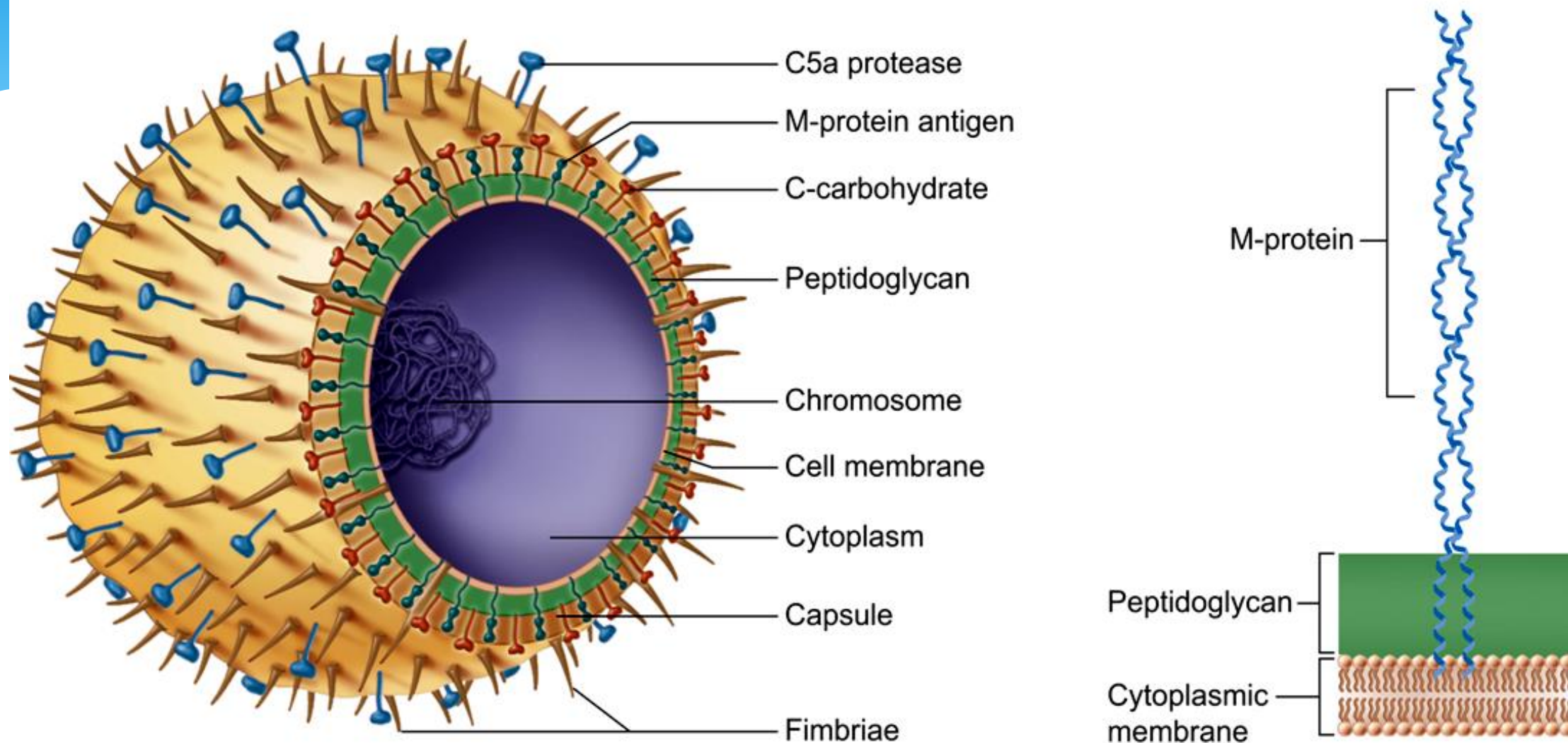
Стрептолизин -О - белок, проявляет иммуногенные свойства, чувствителен к кислороду, вызывает гемолиз в глубине кровяного агара, имеет диагностическое значение (антистрептолизин-О - ASO)

Стрептолизин-S - не обладает антигенностью, устойчив к кислороду, вызывает поверхностный гемолиз на кровяном агаре

Пирогенный (эритрогенин) токсин - играет важную роль в патогенезе скарлатины .

Streptococcus pyogenes

(локализация М-протеина и других факторов патогенности)



Эпидемиология стрептококковых инфекций:

Источник инфекции: больные люди и бактерионосители

Механизм и пути заражения: воздушно-капельный, воздушно-пылевой, пищевой, контактный.

Streptokokkove infeküii:

Острые стрептококковые инфекции:

скарлатина

рожа

ангина

импетиго

сепсис

Острый гломерулонефрит

Острый и подострый бактериальный

эндокардит

Хронические стрептококковые инфекции:

ревматизм

хронический тонзиллит

Гнойные инфекции - (ангина, тонзиллит, абсцес , импетиго и др.)

Негнойные инфекции - (скарлатина, рожа, ревматизм , острый гломерулонефрит)

Негнойные инфекции стрептококковой этиологии:

Рожа
«erysipelas»



Импетиго



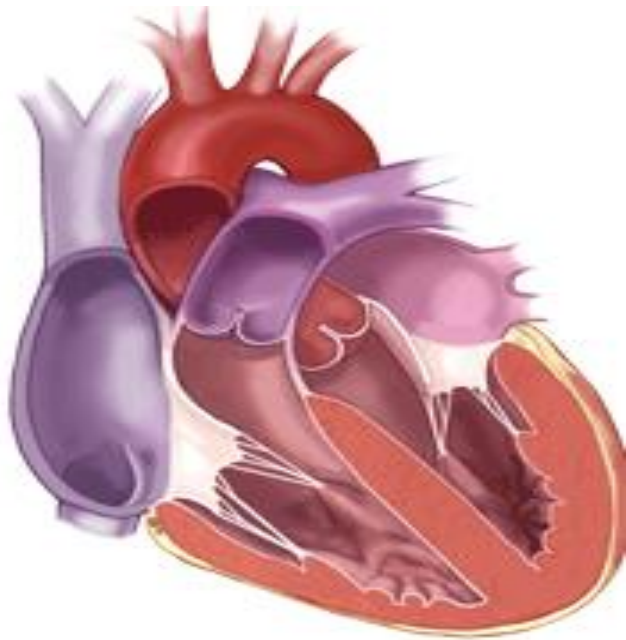
Негнойные инфекции :

Skarlatina

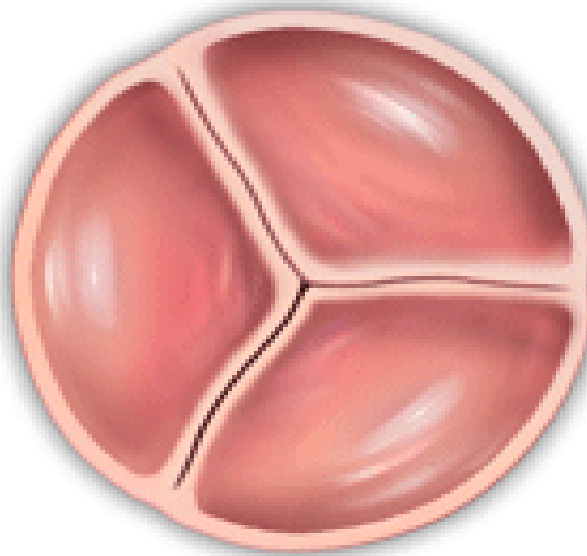


Негнойные инфекции стрептококковой этиологии:

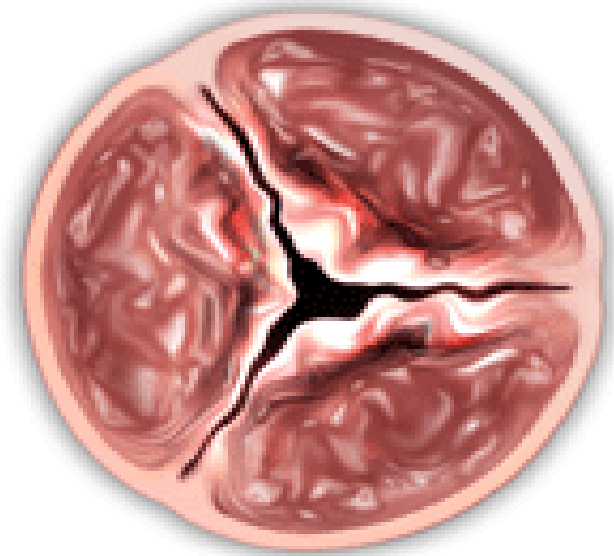
поражение клапанов сердца бета-гемолитическими стрептококками
серогруппы А (*S.pyogenes*) при ревматизме



Сокращение сердца в норме



Клапаны сердца в норме

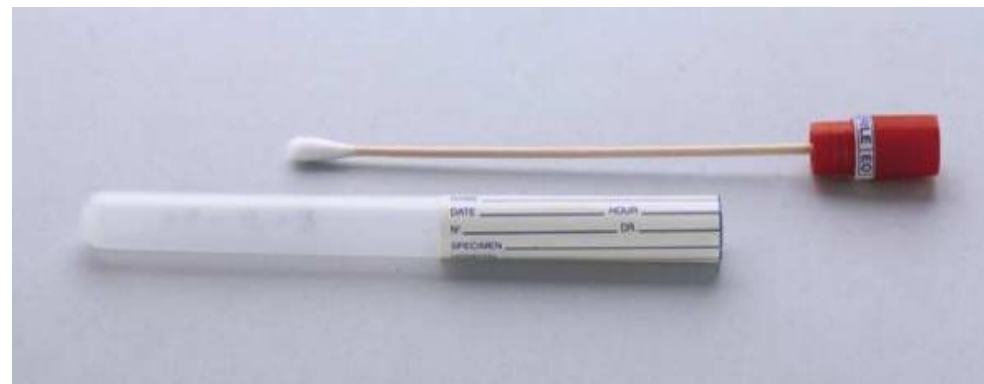


Клапаны сердца с дефектом

Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций:

Материалы для исследования:

- кровь
- гной
- отделяемое из ран
- спинномозговая жидкость (ликвор)
- мокрота
- слизь из носа и зева
- рвотные массы
- испражнения
- моча



Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций:

Гнойно-воспалительные инфекции

Негнойные инфекции

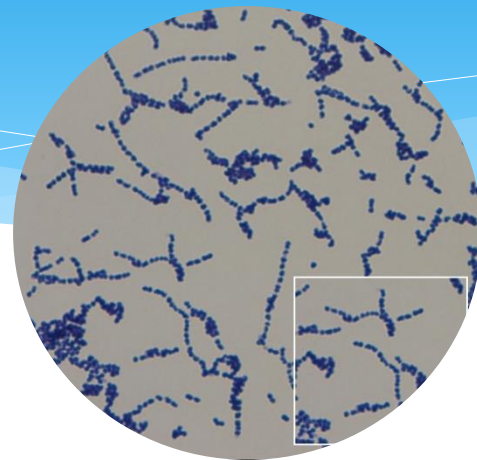
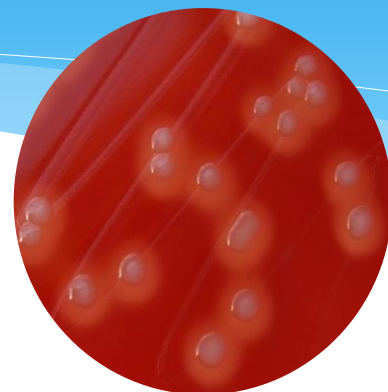
Бактериологический (культуральный) метод

Серологический метод

- посев исследуемого материала на специальные питательные среды
- инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- Выделение чистой культуры и идентификация по морфологическим, культуральным, гемолитическим и биохимическим свойствам
- *Реакция Ленсфилд (реакция преципитации в жидкой среде для определения серогруппы)*
- Определение чувствительности на антибиотики

- РСК (реакция связывания комплемента — определение антител в сыворотке к стрептококковым антигенам)
- Реакция нейтрализации -(определение стрептококковых антител к токсинам-стрептолизину О или стрептодорназе)

Бактериологический метод исследования:



Streptococcus pneumoniae

(ланцетовидные диплококки в мазке из мокроты,
окрашенном по Граму)



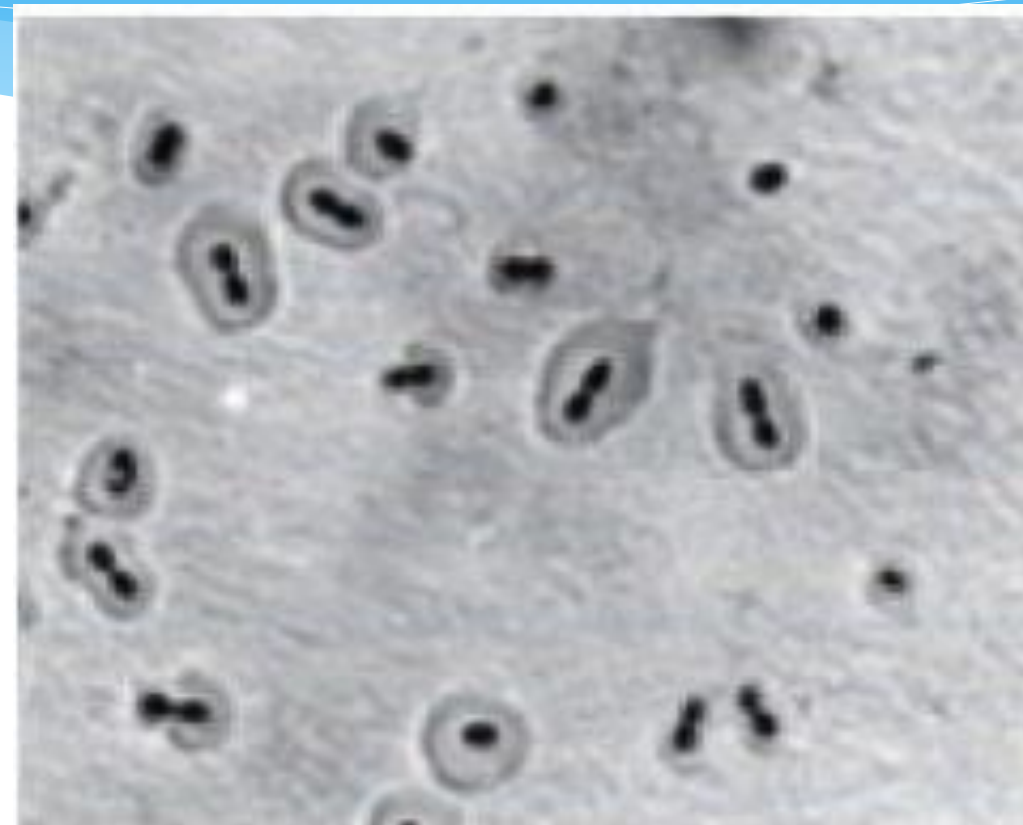
Streptococcus pneumoniae – культуральные свойства:

На сывороточных средах образуют мелкие, нежные и прозрачные колонии около 1 мм в диаметре ; иногда они могут быть плоскими с центральным углублением . На кровяном агаре колонии окружает зона гемолиза в виде зеленоватой обесцвеченной зоны (**альфа-гемолиз**). В бульоне с глюкозой дают равномерное помутнение и небольшой хлопьевидный осадок.



Streptococcus pneumoniae

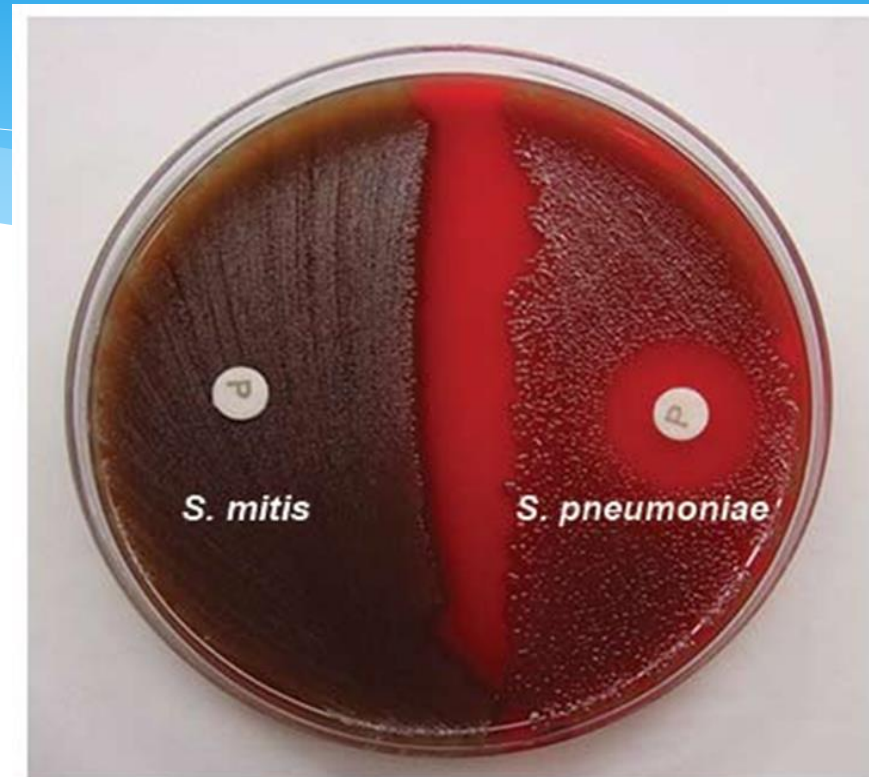
Реакция «**Quelling**» - реакция выявления капсул пневмококков , основанная на их набухании в присутствии специфических агглютинирующих АТ .



реакция «Quelling»

Ферментативная активность стрептококков:

Признак	<i>S.pneumoniae</i>
Гемолитическая активность	альфа-гемолиз
Каталаза	-
Глюкоза	+
Лактоза	+
Сахароза	+
Мальтоза	+
Маннит	+
Инулин	+
Сбраживание молока	-
Гидролиз желатина	-
Образование индола	-



ОПТОХИНОВЫЙ тест

S.mitis - устойчив

S.pneumoniae - чувствителен

Отличительные признаки пневмококков от других стрептококков:

- * Колонии пневмококков не сливаются между собой
- * Образуют альфа-гемолиз
- * Способность ферментировать инулин
- * Лизируются под действием желчи и желчных кислот
- * Чувствительность к оптохину

Streptococcus pneumoniae

(факторы патогенности)

➤ *Компоненты клетки :*
капсула
клеточная стенка (С-
субстанция)

➤ *Ферменты
агрессии :*
гиалуронидаза
нейраминидаза

➤ *Токсины :*
гемолизин
лейкоцидин

Эпидемиология пневмококковых инфекций :

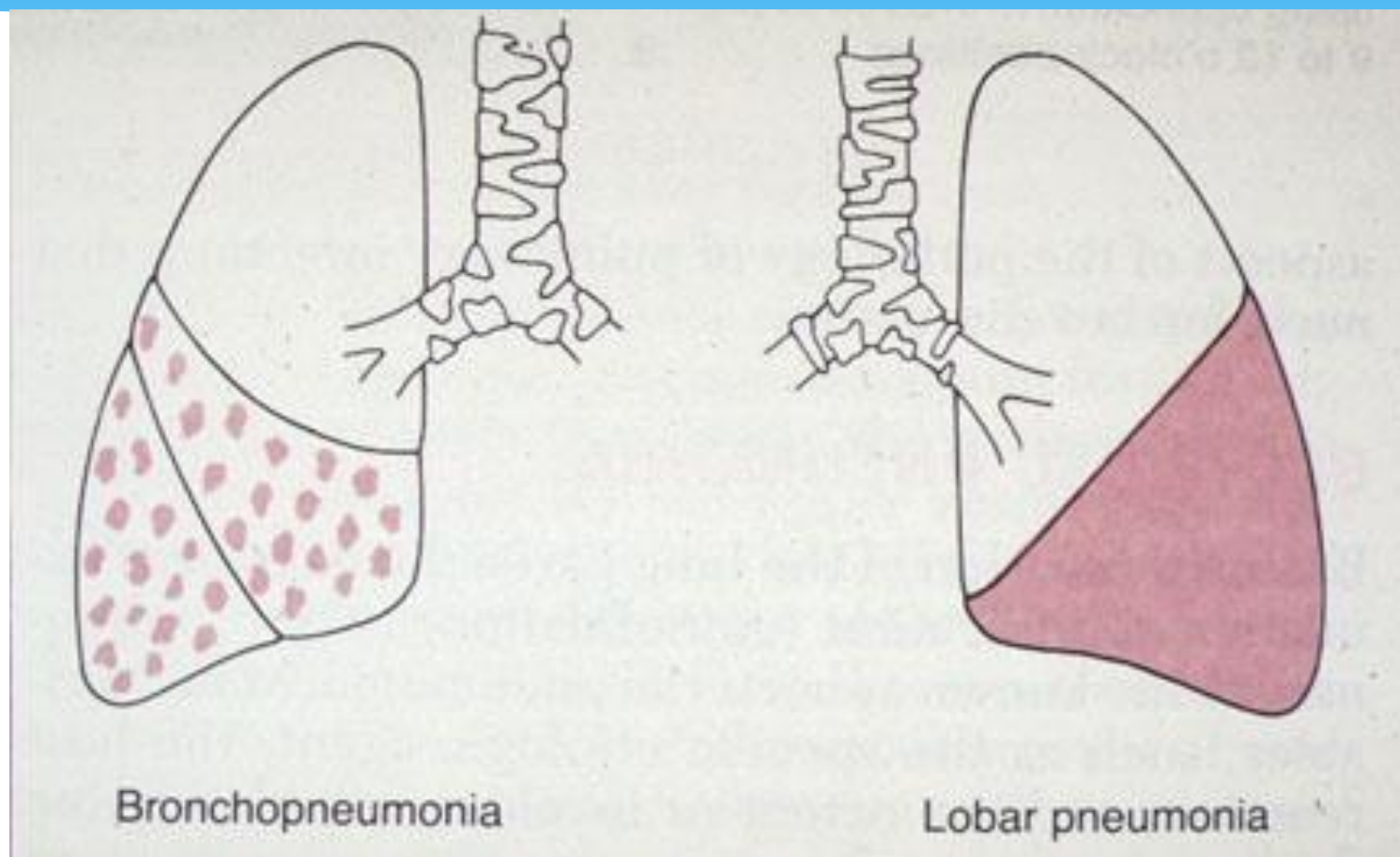
Источник инфекции: больные люди и бактерионосители

Пути передачи: воздушно-капельный, воздушно-пылевой

Клинические формы пневмококковых инфекций:

- крупозная пневмония (лобарная пневмония)
- бронхопневмония (очаговая пневмония)
- ползучая язва роговицы
- гнойный отит
- менингит (основные возбудители менингитов у детей младшего возраста - *S. pneumoniae* и *H. influenzae*)

Клинические формы пневмококковых инфекций: (долевые поражения легких)



Микробиологическая диагностика пневмококковых инфекций:

материалы исследования:

- * кровь
- * гной
- * раневой материал
- * ликвор
- * мокрота
- * мазок со слизистой носа и зева
- * моча



Микробиологическая диагностика пневмококковых инфекций:

➤ *бактериоскопический метод:*

- * обнаружение ланцетовидных диплококков

➤ *бактериологический (культуральный) метод:*

- * инокуляция патологического материала на питательные среды
- * инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * получение чистой культуры , идентификация по морфологическим , культуральным , гемолитическим и биохимическим свойствам
- * определение чувствительности к антибиотикам

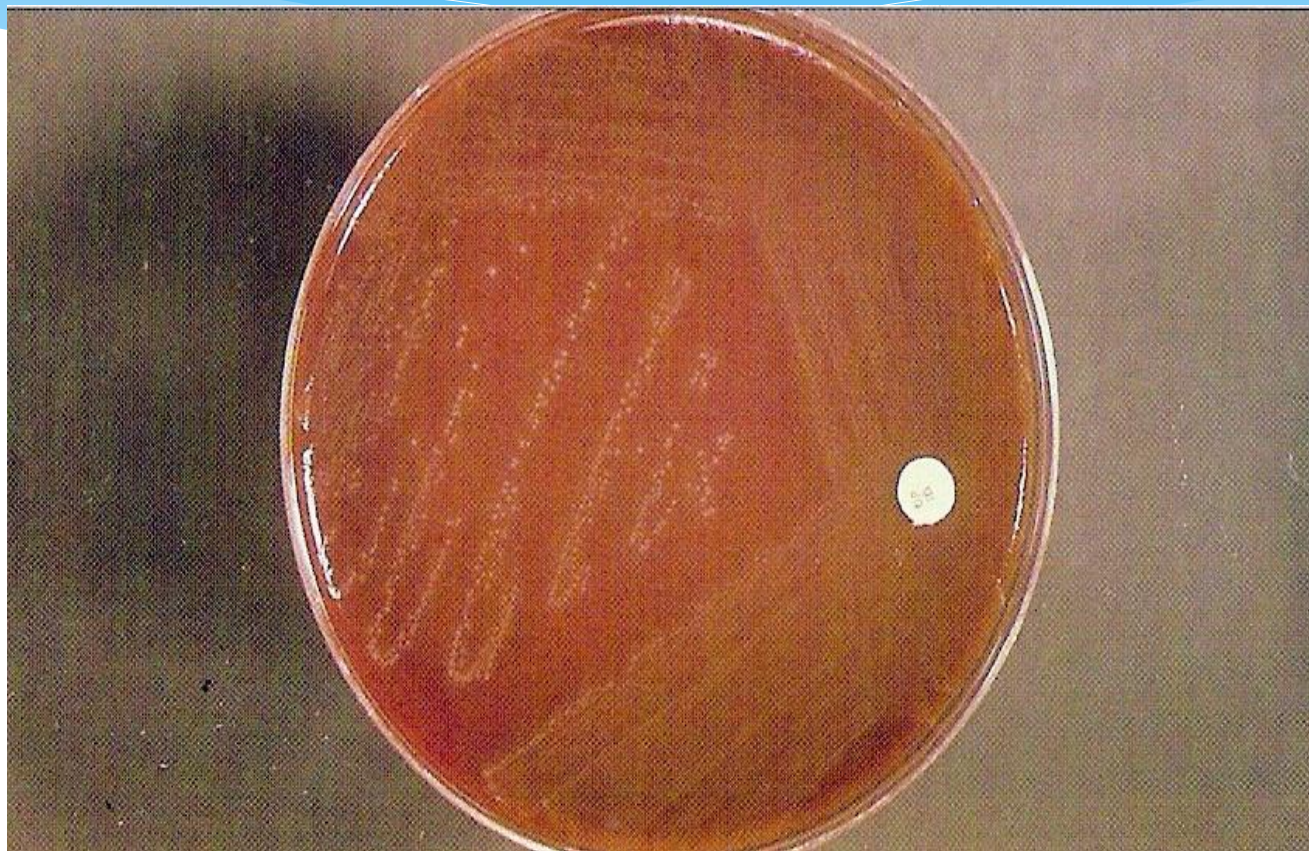
➤ *биологический метод:*

- * Внутривентриально заражают белых мышей

Группа *Streptococcus viridans*

(культура на кровяном агаре)

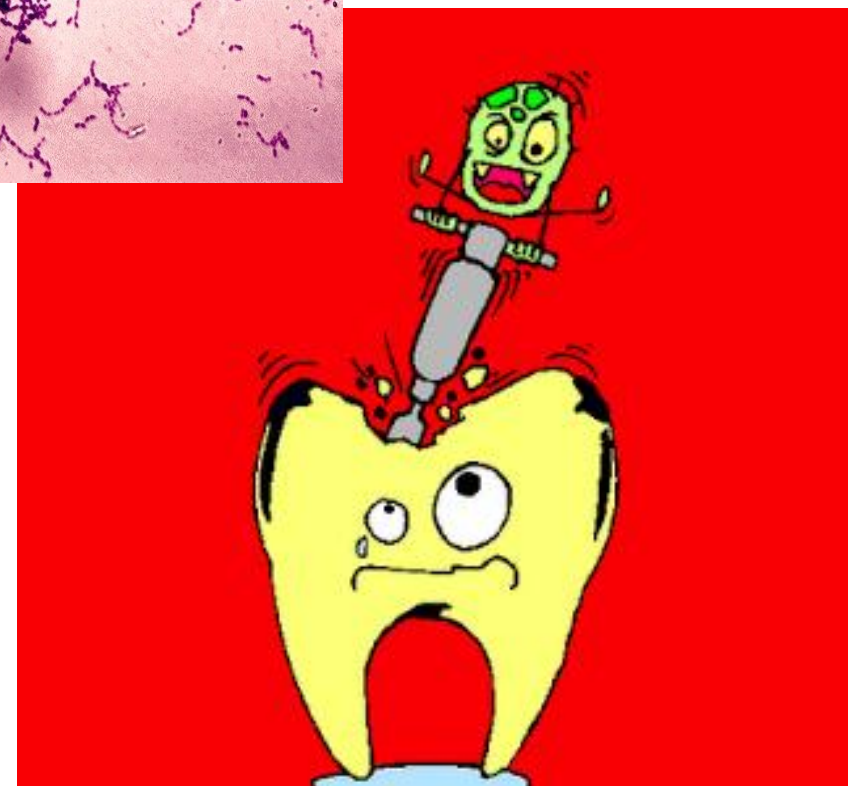
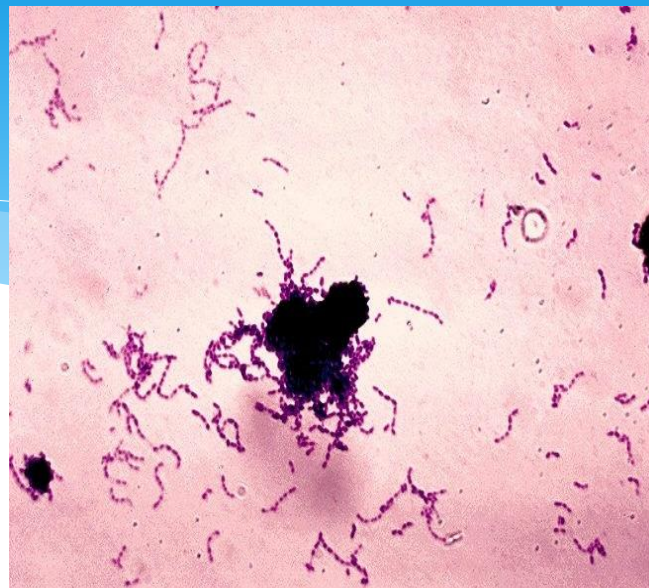
S.mitis, S.mutans, S.salivaris, S.sanguis – альфа-гемолитические стрептококки группы *Streptococcus viridans*. Эти стрептококки относятся к нормальной микрофлоре человека, в основном являются представителями нормофлоры верхних дыхательных путей и слизистой оболочки ротовой полости.



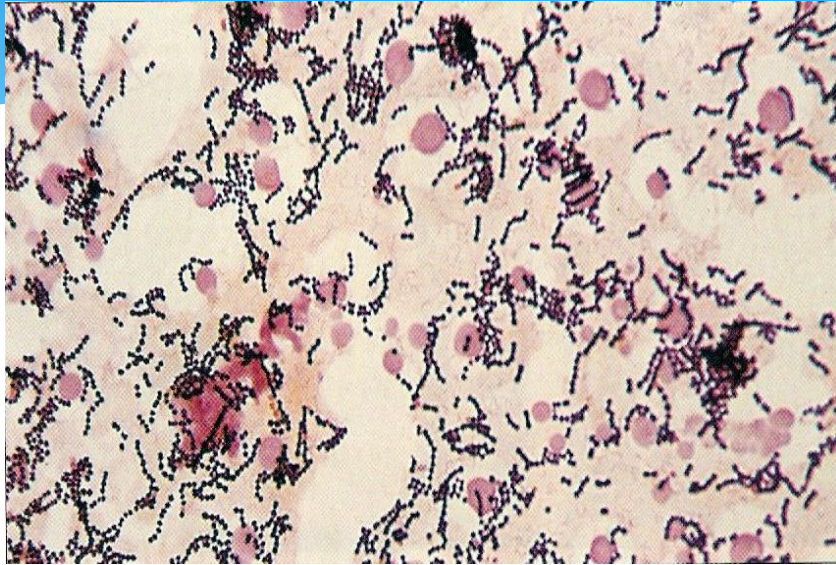
Streptococcus mutans

Кариес зубов вызывают стрептококки группы вириданс обитающие в ротовой полости.

На поверхности зубной эмали образуются налеты (бляшки), состоящие из желатинообразного осадка высокомолекулярных углеводов - глюканов, на которых адгезируются кислотообразующие бактерии. Глюканы в основном, синтезируются *S.mutans*. Расщепление углеводов, входящих в состав бляшек стрептококками и лактобактериями приводит к выделению кислоты ($\text{pH} < 5$). Высокие концентрации кислоты способствуют деминерализации зубной эмали и развитию кариеса.



Стрептококки группы В - *Streptococcus agalactiae*



Возбудитель неонатального сепсиса и менингита.

Основные параметры идентификации :

Грамположительные, неподвижные кокки. Спор и капсул не образуют. Хорошо растут на кровяном и шоколадном агаре, слабо - на простых питательных средах. На жидких средах образуют осадок. Обладают слабой бета-гемолитической активностью.

Основной параметр идентификации - **CAMP-** (Christie, Atkins, Munch-Peterson) тест, основанный на феномене усиления гемолитического действия *S.aureus* в присутствии гемолизинов других бактерий .

Enterococcus faecalis

Грамположительные диплококки сферической или овальной формы размером 2мкм, располагающиеся парами или короткими цепочками. Спор и капсул не образуют. Некоторые виды обладают подвижностью. Могут расти на простых питательных средах, на кровяном агаре образуют неполный гемолиз. В отличие от зеленеющих стрептококков энтерококки могут расти при повышенной концентрации соли (6.5% NaCl).

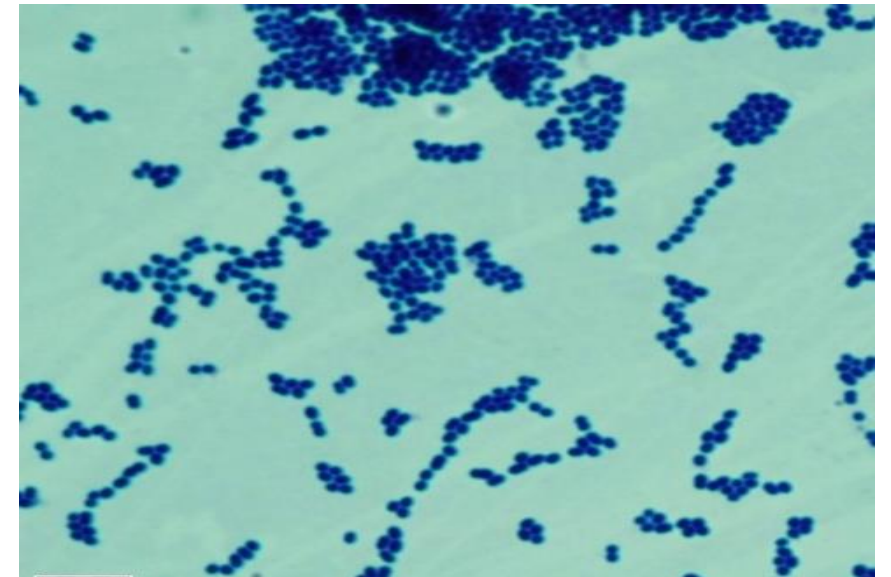
Факторы патогенности — компоненты клеточной стенки, ферменты агрессии и токсины.

Условно-патогенные бактерии, вызывают оппортунистические инфекции.

Основные дифференциальные признаки — рост на среде с добавлением желчных солей и расщепление эскулина.



E. faecalis
(Культура на кровяном агаре)



E. faecalis
(в мазке)

Классификация грамотрицательных кокков :

Семейство: *Neisseriaceae*

Род: *Neisseria*

Вид: *N.meningitidis*, *N.gonorrhoeae* (патогенные)

N.lactamica, *N.sicca*, *N.subflava*, *N.cinerea*, *N.mucoza*,

(представители нормофлоры верхних дыхательных путей , условно-патогенные)

Морфобиологические особенности:

Neisseria meningitidis – грамотрицательные диплококки бобовидной формы размером 0.6-1.0 мкм, вогнутые поверхности которых соприкасаются друг с другом. Неподвижны, спор не образуют. Клинические изоляты образуют капсулу, которая утрачивается при росте на питательных средах.



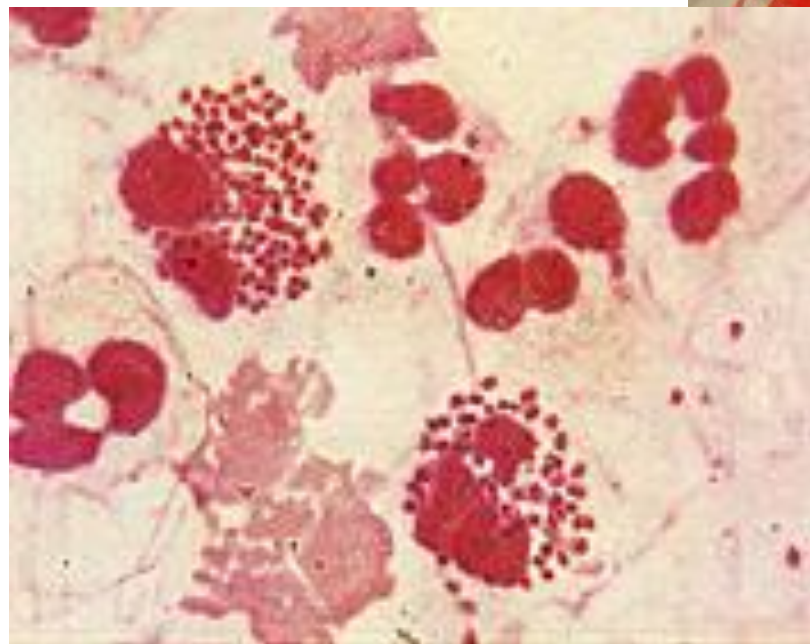
Род *Neisseria*

(в мазке диплококки бобовидной формы)



Культуральные свойства *Neisseria meningitidis*

в мазке, приготовленном из
цереброспинальной жидкости больных
менингитом



N.meningitidis
(негемолитические колонии
на кровяном агаре)



Neisseria meningitidis

Факторы патогенности:

- * капсула
- * пили
- * ЭНДОТОКСИН
- * IgA-протеаза

Эпидемиология:

Источник инфекции – больной человек или бактерионоситель

Механизм передачи- аэрогенный, путь – воздушно-капельный

Менингококцемия (геморрагические высыпания-экзантема)



© Eduardo Fajardo, MD

Методы микробиологической диагностики менингококковых инфекций

Материалы для исследования:

- * *ликвор* - спинномозговая жидкость (жидкость мутная , при пункции вследствие высокого давления вытекает струей)
- кровь
- носоглоточная слизь
- пунктат из элементов сыпи

Методы микробиологической диагностики:

➤ *Микроскопический*

- * Микроскопия окрашенного по Граму мазка из ликвора (внутри лейкоцитов видны грамотрицательные диплококки бобовидной формы)

➤ *Бактериологический (культуральный)*

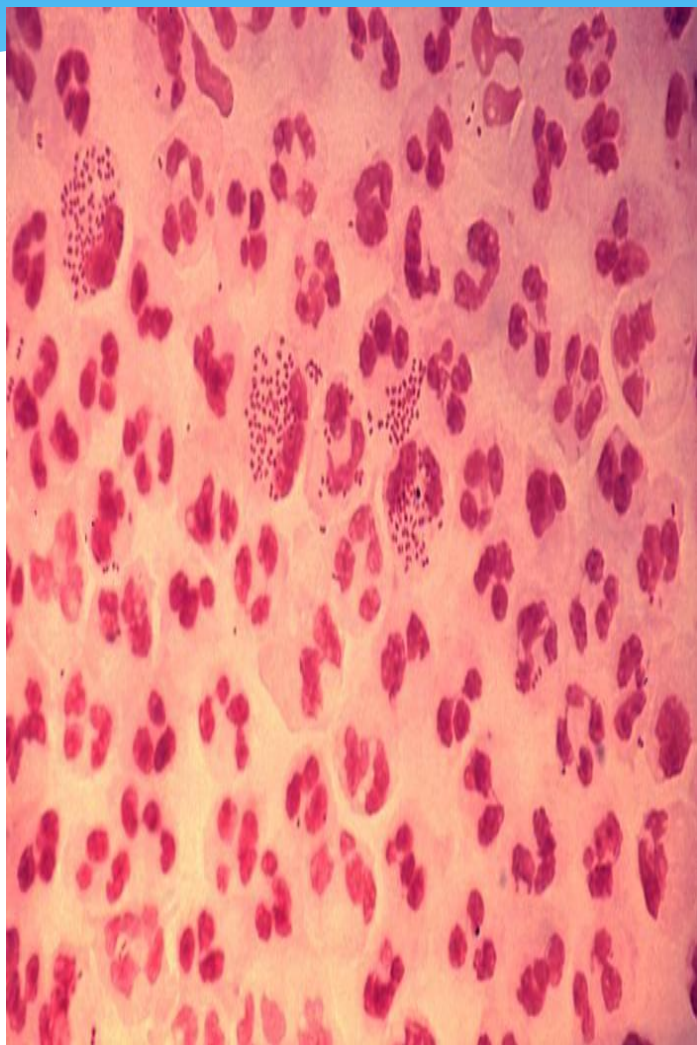
- Посев исследуемого материала на питательные среды (кровяной и сывороточный)
- Инкубация при температуре 37°C с повышенным содержанием углекислого газа в течение 18-24 часов
- Идентификация выделенной культуры по морфо-биологическим свойствам
- Определение чувствительности к антибиотикам

* *Серологический*

- * Реакции преципитации и иммуноферментного анализа с ликвором
- * Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и ИФА с сывороткой

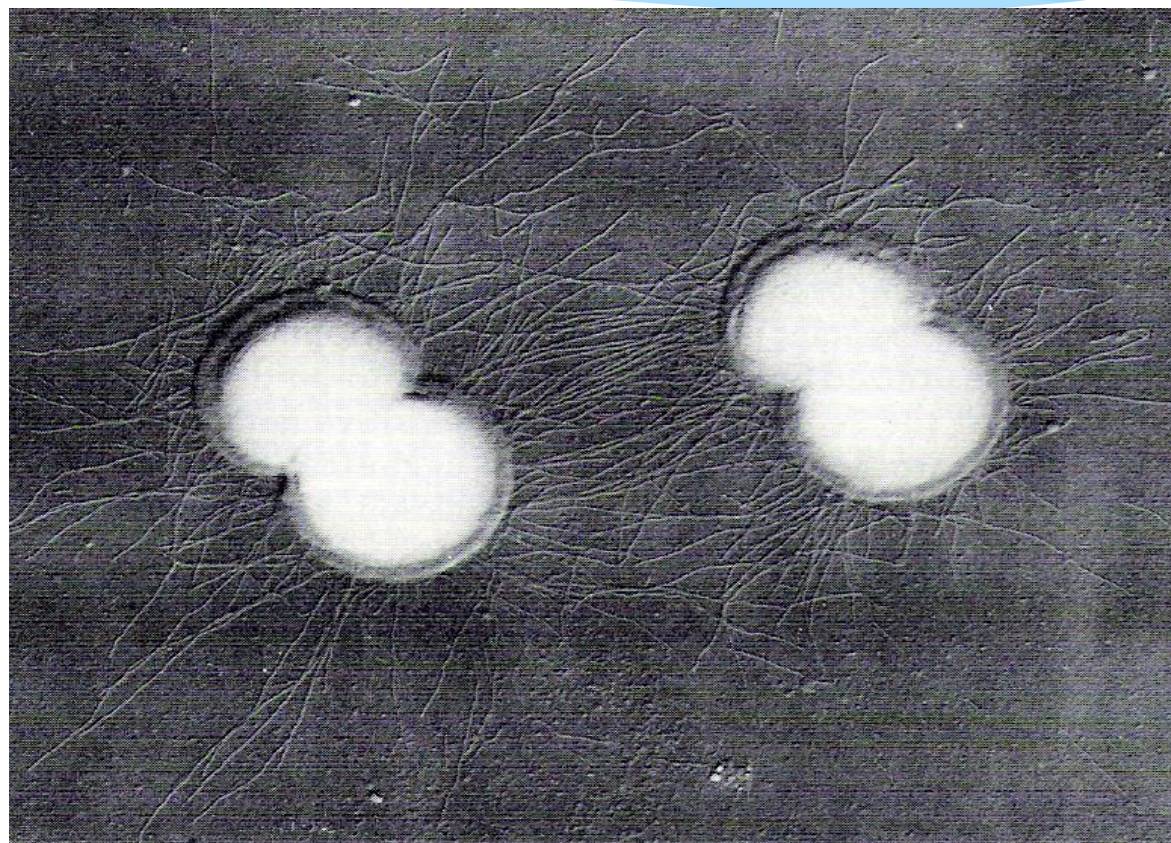
Neisseria gonorrhoeae

(в мазке из гнойного отделяемого больного гонореей)



Neisseria gonorrhoeae

(электронная микроскопия)



Биохимические свойства

Признак	N.gonorrhoeae
Глюкоза	+ (до кислоты)
Аммиак	-
Индол	-
Сероводород	-
Оксидаза	+
Каталаза	+
Нитраты	-



N.gonorrhoeae каталаза(+)



N.gonorrhoeae оксидаза (+)

Neisseria gonorrhoeae

Факторы патогенности:

- капсула
- * пили
- * липоолигосахарид (ЛОС)
- * белки наружной мембраны (*Por-*, *Opa-протеины*)
- * IgA -протеаза

Эпидемиология:

Источник инфекции-больной человек

Механизм и путь передачи: контактный (половой)

Вызываемые заболевания:

- гонорея
- бленнорея («*oftalmia neonatorum*»)
- Генерализованные инфекции и экстрагенитальные осложнения (бактериемия , артрит и др)

Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи:

Материал для исследования берут стерильным ватным тампоном из:

- * уретры
- * влагалища
- * шейки матки
- * КОНЪЮНКТИВЫ
- * прямой кишки
- * зева

Также возможно исследование осадка мочи

Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи :

Микроскопический (при острой гонорее)

Микроскопия мазка , приготовленного из исследуемого материала (взятого тампоном из влагалища и уретры) и окрашенного по Граму (видны грамотрицательные внутриклеточные диплококки бобовидной формы)

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- Посев исследуемого материала на питательные среды (с добавлением сыворотки или асцитической жидкости)
- Инкубация при температуре 37°C с повышенным содержанием углекислого газа в течение 18-24 часов
- Выделенную культуру идентифицируют по морфо-биологическим свойствам
- Определение чувствительности к антибиотикам

➤ *Серологический (при хронической гонорее)*

* *Иммуноферментный метод (ИФА)*

➤ *Молекулярно-генетический метод*

* *Полимеразная цепная реакция (ПЦР)*

Цель занятия:

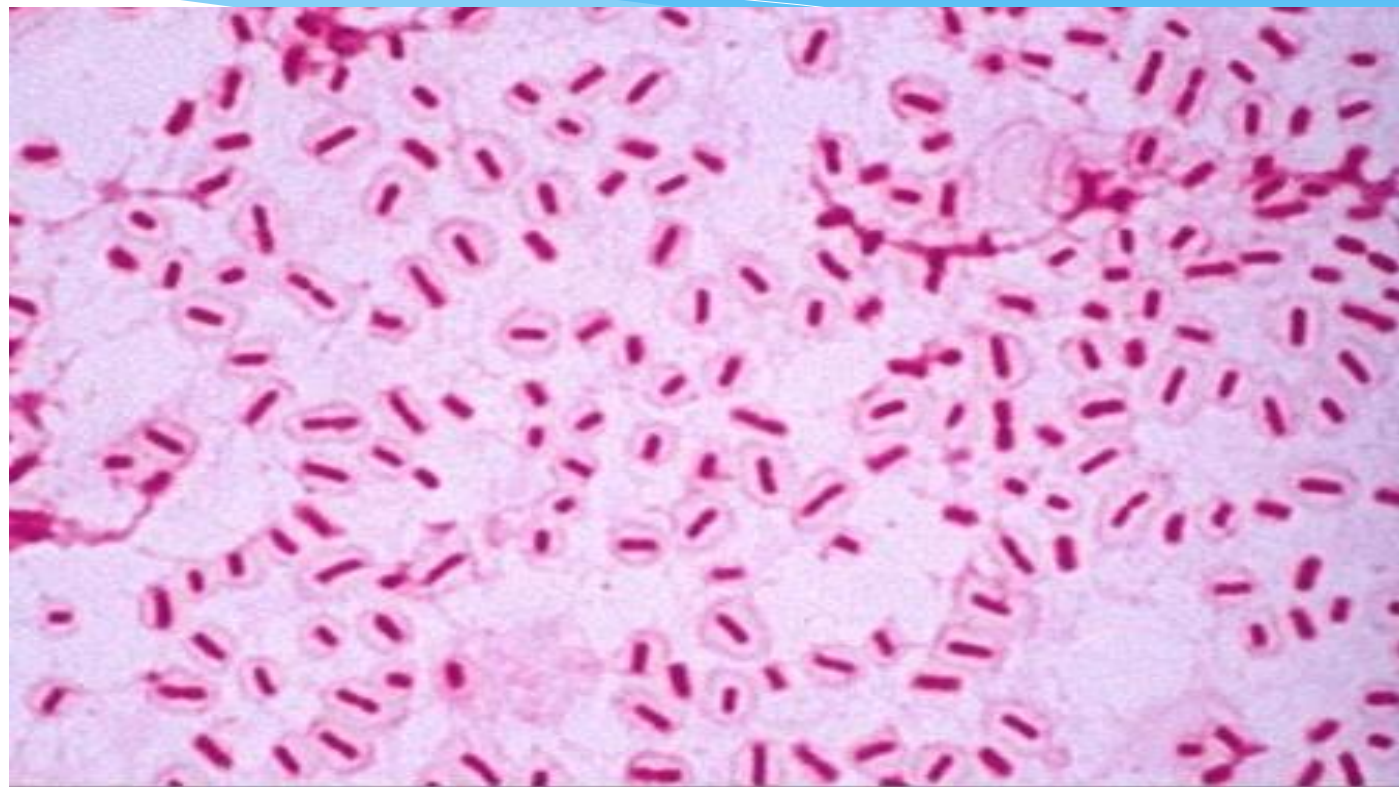
- * Ознакомить студентов с основными особенностями гнойно-воспалительных заболеваний , вызываемых некоторыми условно-патогенными бактериями (клебсиелла , протей и синегнойная палочка), микробиологической диагностикой, принципами лечения и профилактики этих заболеваний.

Rod Klebsiella

- * В патологии человека основная роль принадлежит видам *K.oxytoca* и *K.pneumoniae*
- * *K.pneumoniae* по биохимическим свойствам подразделяется на 3 подвида: *K.subsp.pneumoniae*, *K.subsp.ozaenae*, *K.subsp.rhinoscleromatis*

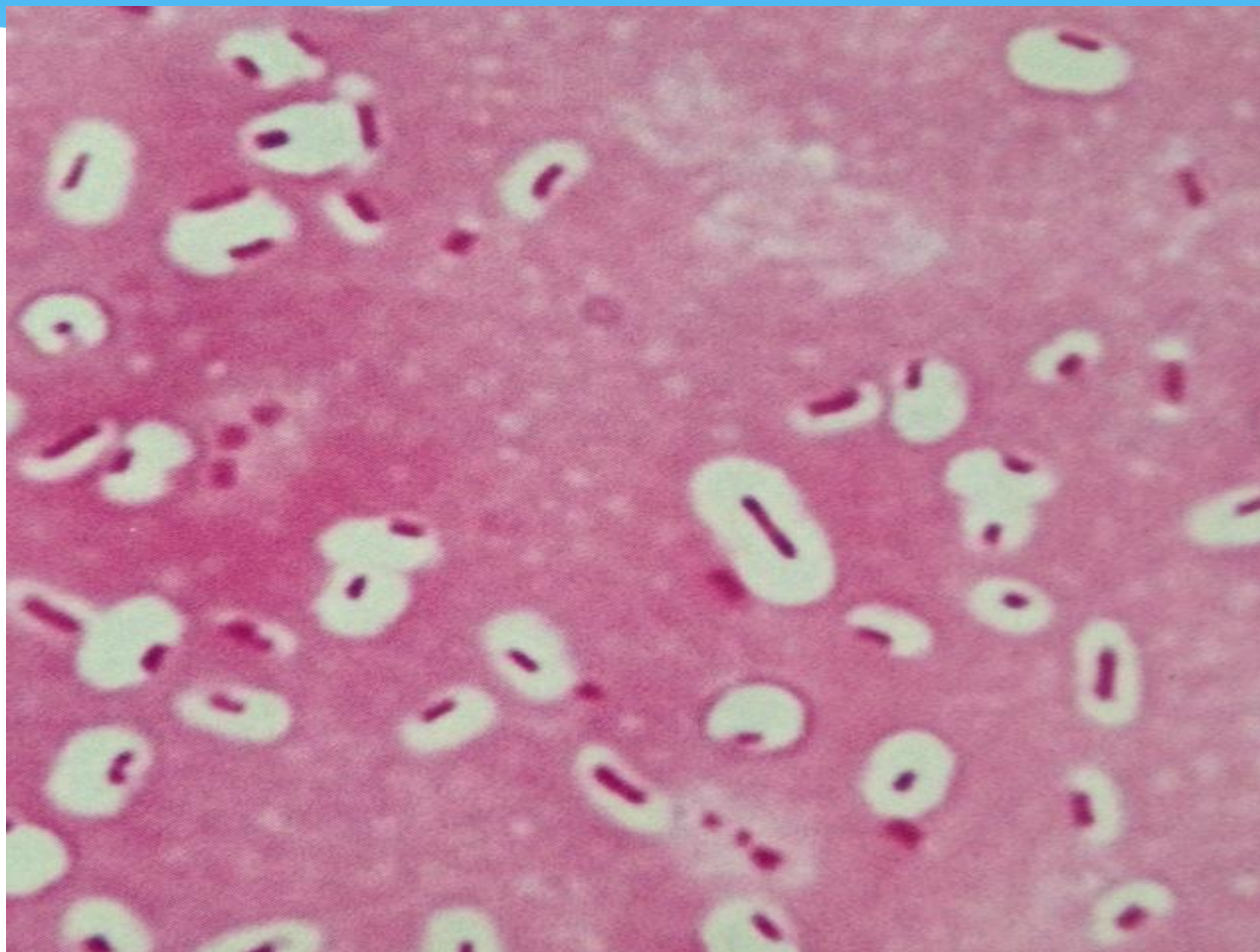
Klebsiella

мазок из чистой культуры (окраска по Граму)



Klebsiella

Окраска по Бурри-Гинсу



Klebsiella

kolonii



Klebsiella

sliziste kolonii

Gndo, Ploskireva, MakKonki, Levina

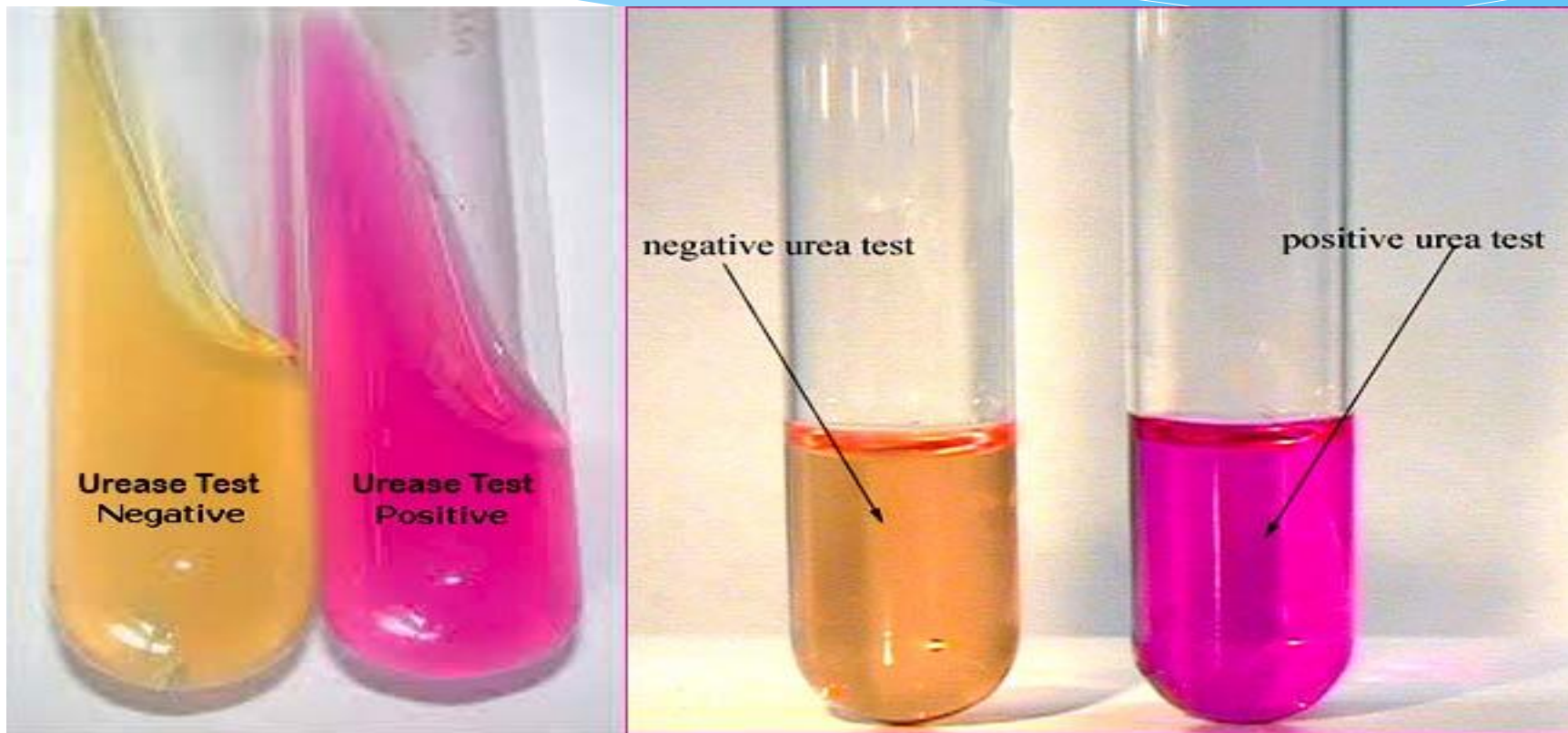


Биохимическая дифференциация бактерий рода *Klebsiella*

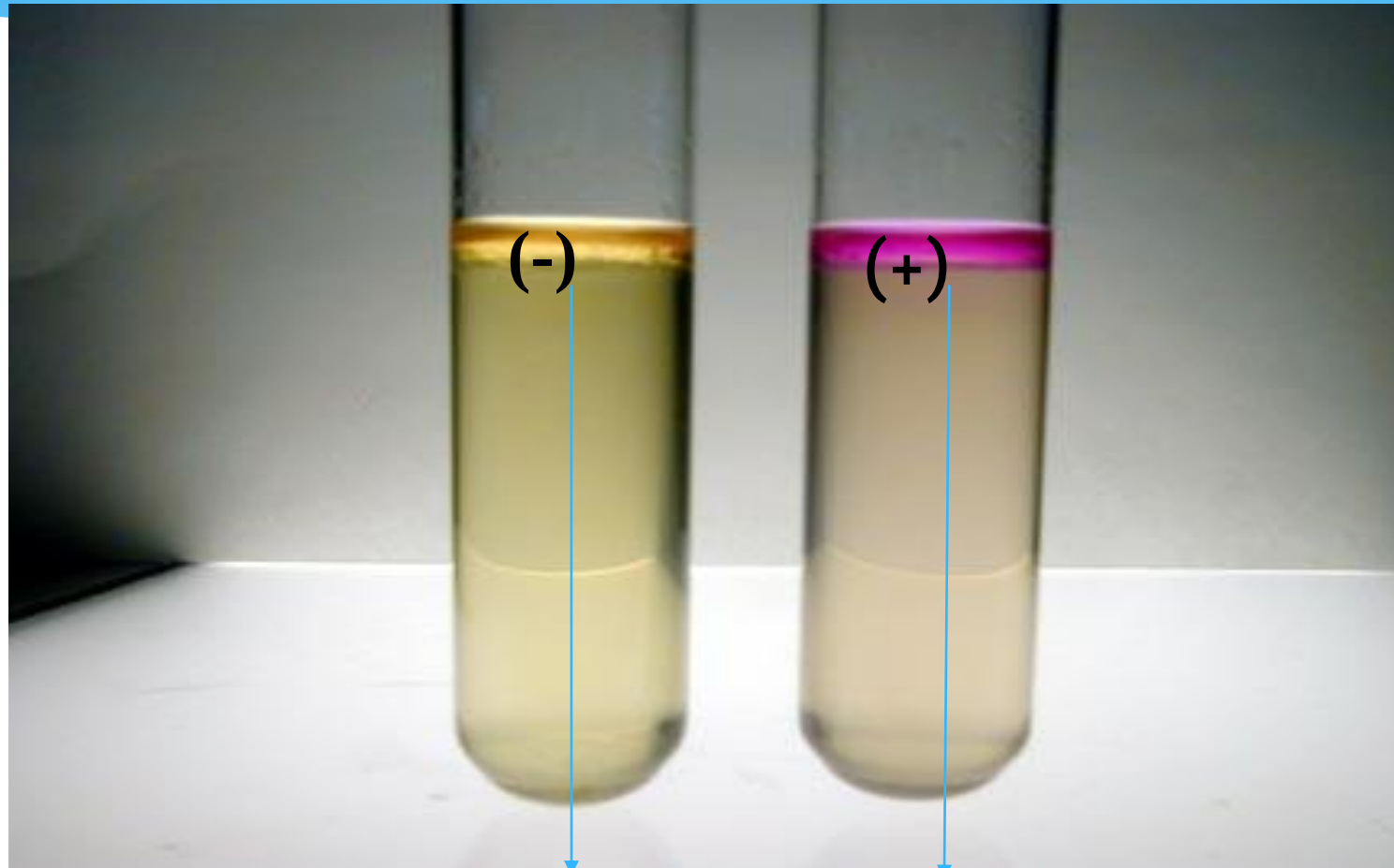
признаки	K.oxytoca	K.pneumoniae spp. ozenae	K.pneumoniae spp. pneumoniae	K.Pneumoniae spp.rhinocleromatis
Индолообразование	+	-	-	-
Реакция с метил-ротом	+/-	+	-	-
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	-	+	-
Утилизация цитрата	+	+/-	+	-
Утилизация малоната	+	+/-	+	-
Расщепление мочевины	+	+/-	+	-
Лизидекарбоксилаза	+	+/-	+	-
Расщепление лактозы	+	+/-	+	-

*Идентификация бактерий рода *Klebsiella**

(polocitelĭny ureazny test)



Внутривидовая дифференциация бактерий рода *Klebsiella* (тест на Индол)



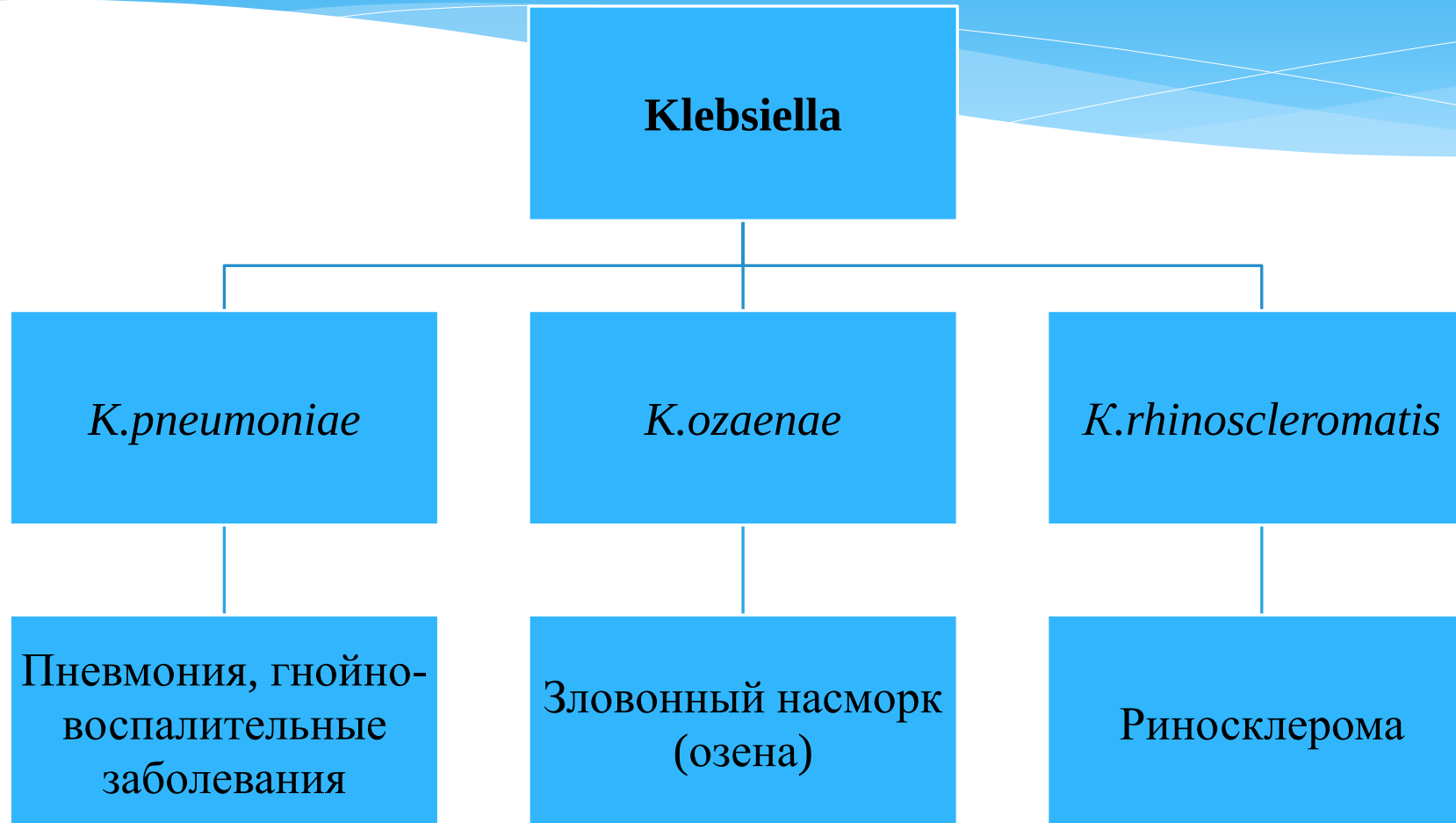
K.pneumoniae ssp.

K.oxytoca

*Факторы патогенности бактерий рода *Klebsiella**

- * капсула;
- * пили;
- * энтеротоксины,
- * эндотоксин (ЛПС),
- * ДНК-аза, нейраминидаза, фосфатаза

K.pneumonia (вызываемые заболевания)



Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * мокрота
- * моча
- * испражнения
- * кровь
- * гной

Микробиологическая диагностика

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- * Посев исследуемого материала на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам
- * Определение чувствительности к антибиотикам

➤ *Гистологический*

- * При озе и риносклероме

Rod Proteus

- * *Представители рода Proteus* – грамотрицательные палочки, капсулу и споры не образуют, подвижны.
- * *Род Proteus* включает 4 вида. В патологии человека наибольшее значение играют два вида: *P.vulgaris* и *P.mirabilis*

Rod Proteus

(культура на кровяном агаре и мазок из чистой культуры)



подвижные Н-колонии *P.vulgaris*



Rod Proteus

(identifikaüie i differenüiaüie na aqare Kliqlera)



Род *Proteus* - факторы патогенности:

- * Пили
- * Фермент протеаза
- * Фермент уреаза
- * Феномен « роения »
- * Гемолизин
- * Гемагглютинин

Rolĝ v patoloĝii ĉeloveka bakteriy roda Proteus

- * Протеи относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Вызывают инфекции мочевыводящих путей (мочекаменная болезнь) и гнойную раневую инфекцию, в том числе сепсис.
- * Заболевания могут протекать как эндоинфекция, а также быть результатом внутрибольничной инфекции.

Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * мокрота
- * моча
- * испражнения
- * кровь
- * гной

Микробиологическая диагностика

Методы исследования :

➤ Бактериологический (культуральный)

- * Посев на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды*
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа*
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам*
- * Определение чувствительности к антибиотикам*

Род Pseudomonas

(taksonomiä)

- * Сравнительно недавно некоторые бактерии рода *Pseudomonas* были отнесены к роду *Burkholderia*
- * Представитель рода *Pseudomonas* *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – возбудитель многих гнойно-воспалительных заболеваний
- * Представители рода *Burkholderia*: *Burkholderia (Pseudomonas) mallei* – возбудитель сапа и *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei* – возбудитель мелиоидоза.

Pseudomonas aeruginosa –

грамотрицательные, подвижные палочки, спор не образуют



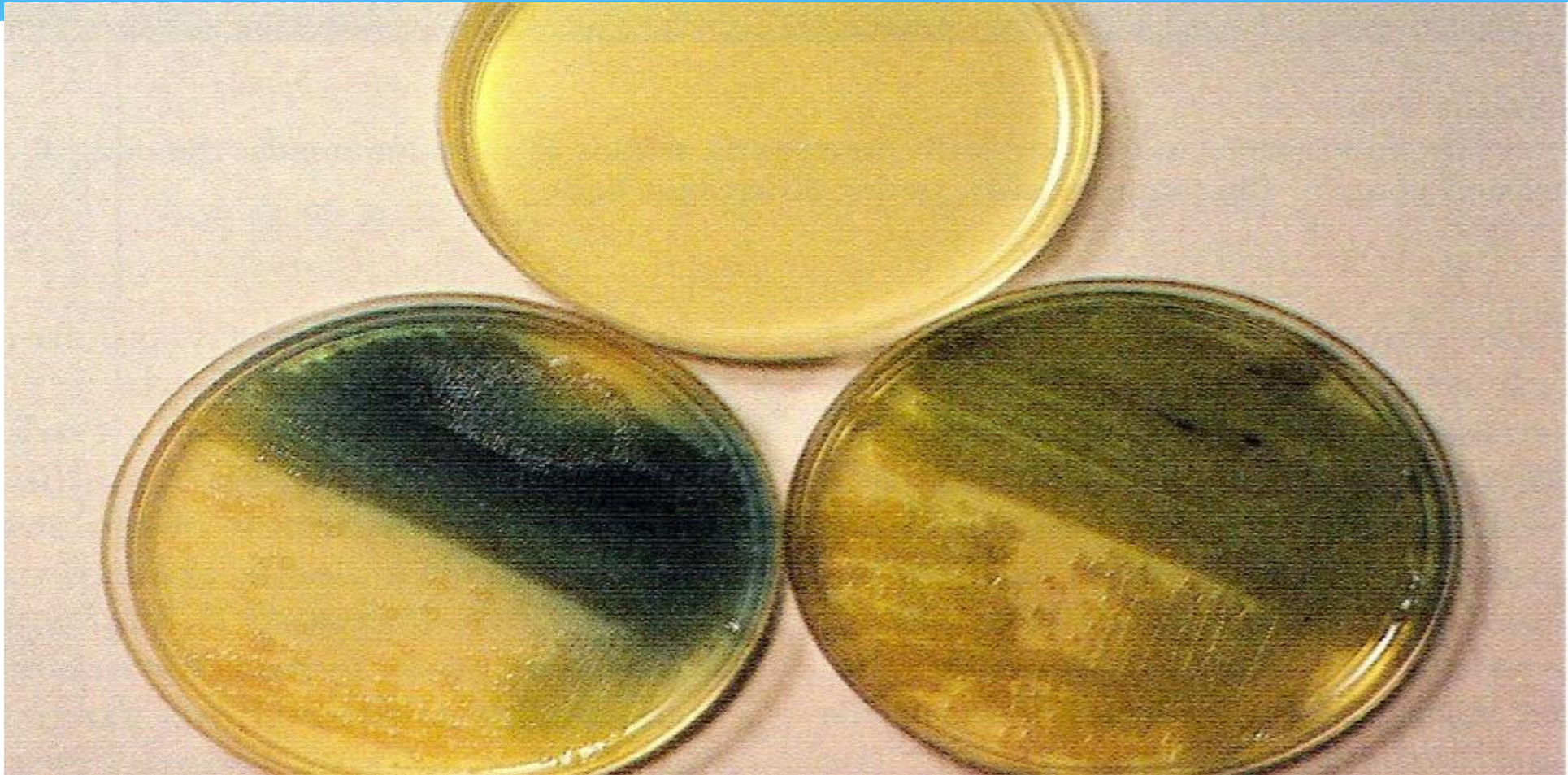
Pseudomonas aeruginosa

(рост на питательных средах)

- * На кровяном агаре: β -гемолиз
- * На средах Эндо и Мак-Конки : лактозонегативные колонии (не ферментируют лактозу)
- * На мясопептонном агаре: мутные колонии с запахом жасмина

Pseudomonas aeruginosa

культуры



Pseudomonas aeruginosa

(факторы патогенности)

- * Пили
- * Экстрацеллюлярная слизь

Токсины:

- * ЛПС
- * Экзотоксин А
- * Экзотоксин S
- * Лейкоцидин
- * Энтеротоксин

Ферменты агрессии:

- * Гемолизин
- * Нейраминидаза
- * Протеаза
- * Эластаза

Роль *Pseudomonas aeruginosa* в патологии человека

- Ожоговая болезнь
- Гнойные инфекции хирургических ран
- Кератит
- Отит
- Муковисцидоз
- Инфекции мочевыводящих путей
- Септикопиемия («*ecthyma gangrenosum*»)

Proāvleniā sineqnoynoy infekūii na ocoqovoy poverxnosti



*Септикопиемия, вызванная *Pseudomonas aeruginosa* («ecthyma gangrenosum»)*



Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * Кровь (при сепсисе)
- * Гной и раневое отделяемое
- * Моча
- * Мокрота

Микробиологическая диагностика

Методы исследования :

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- * Посев исследуемого материала на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам
- * Определение чувствительности к антибиотикам

Классификация грамотрицательных кокков :

Семейство: *Neisseriaceae*

Род: *Neisseria*

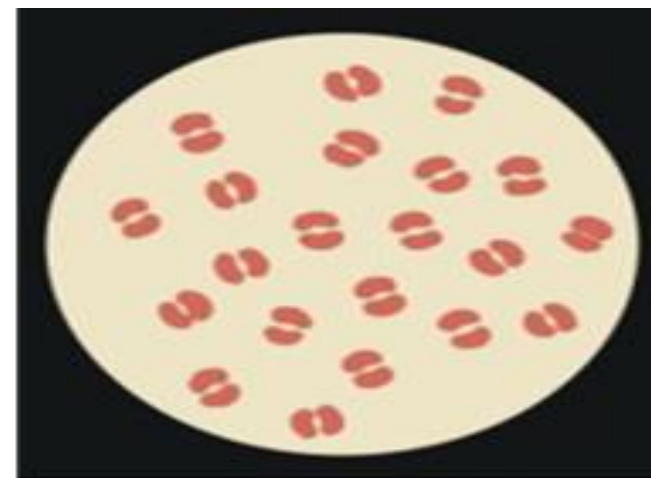
Вид: *N.meningitidis*, *N.gonorrhoeae* (патогенные)

N.lactamica, *N.sicca*, *N.subflava*, *N.cinerea*, *N.mucosa*,
нормофлоры верхних дыхательных путей , условно-патогенные)

(представители

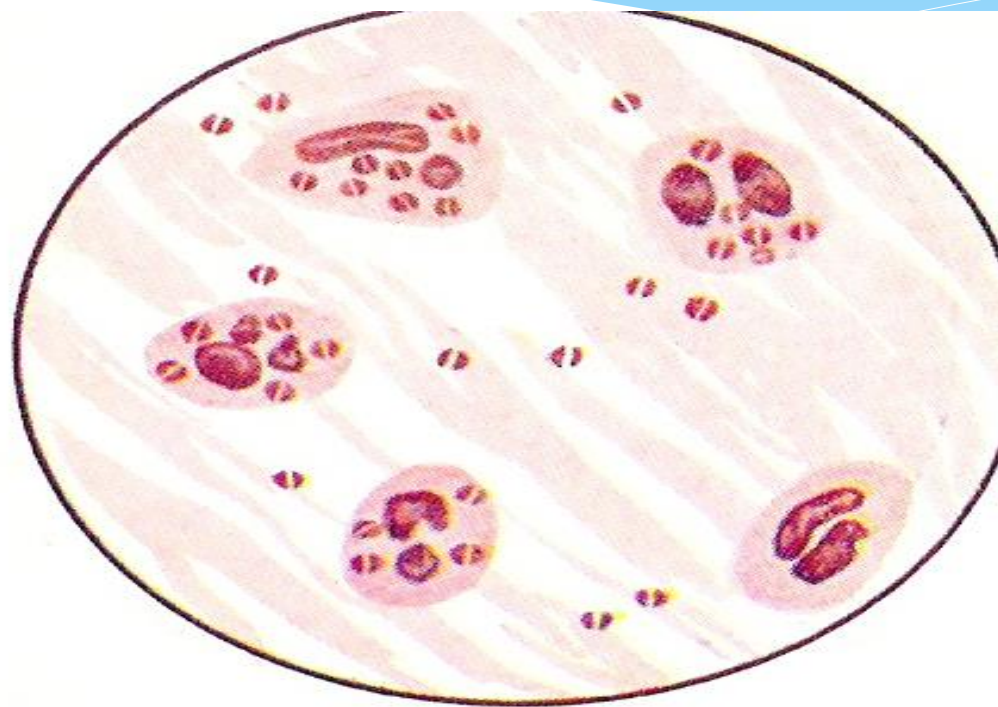
Морфобиологические особенности:

Neisseria meningitidis –



Род Neisseria

(в мазке диплококки бобовидной формы)



Антигенная структура Neisseria meningitidis

По **капсульным** антигенам различают 13 серогрупп менингококков. Наибольшее значение в патологии человека имеют серогруппы А, В, С, Y и W135 .

Менингококки серогруппы А характеризуются высокой вирулентностью, которая связана с их высокой инвазивной активностью.

Культуральные свойства Neisseria meningitidis

Растут на плотных питательных средах с добавлением нативных белков (сыворотка, кровь, яичный белок), образуют нежные полупрозрачные округлые мелкие колонии диаметром 2-3 мм . На кровяном агаре не дают гемолиза. Капнофилы.

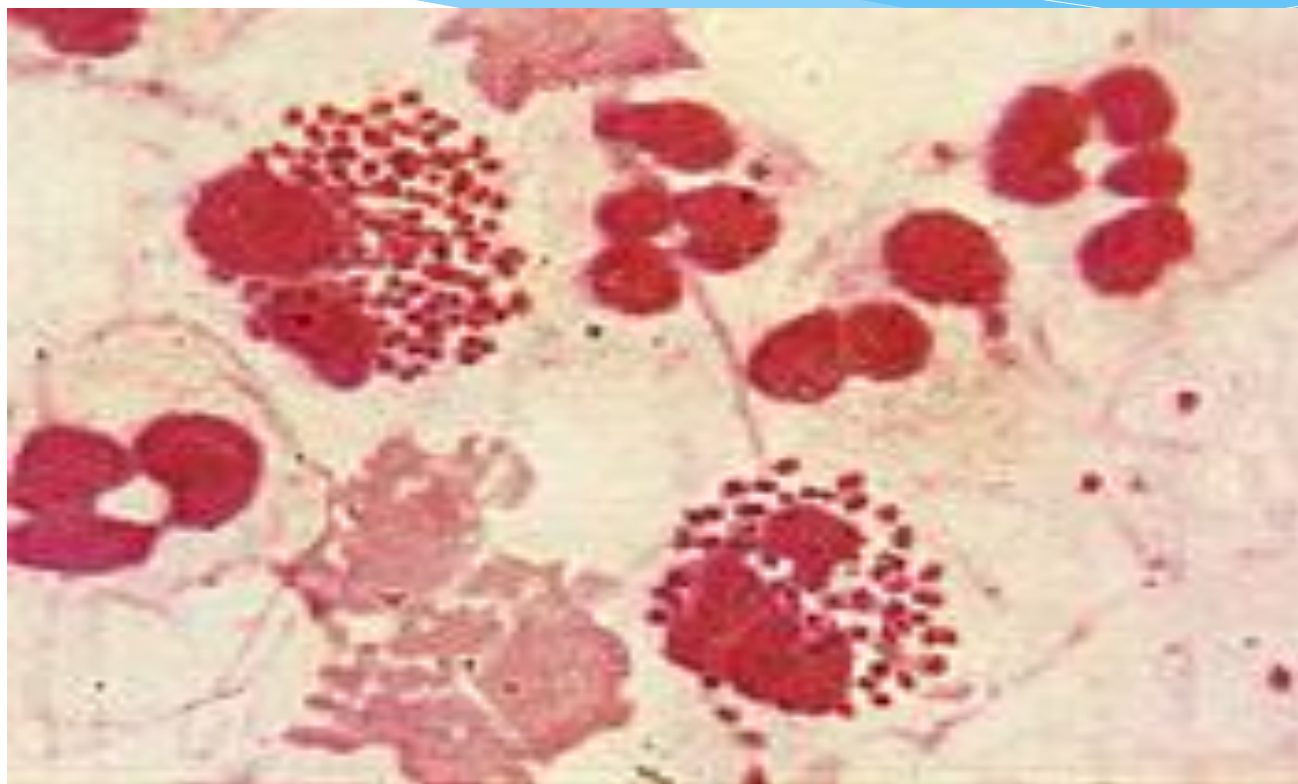
На жидких питательных средах (сывороточном бульоне) образуют помутнение и небольшой осадок



N.meningitidis
(негемолитические колонии на
кровяном агаре)

Neisseria meningitidis

mazke prigotovlennom iz čerebrospinal'noy cirkosti bol'noy meningitom



N.meningitidis
Биохимическая активность

<i>Свойства</i>	<i>N.meningitidis</i>
Глюкоза	+ (до кислоты)
Мальтоза	+ (до кислоты)
Желатин	-
Индол	-
Сероводород	-
Нитраты	-
Оксидаза	+
Каталаза	+

Neisseria meningitidis

Факторы патогенности:

- * капсула
- * пили
- * ЭНДОТОКСИН
- * IgA-протеаза

Эпидемиология:

Источник инфекции – больной человек или бактерионоситель

Механизм передачи- аэрогенный, путь – воздушно-капельный

Менингококковые инфекции:

- менингококконосительство
- острый назофарингит
- менингококцемия
- эпидемический цереброспинальный менингит

Клинические симптомы эпидемического цереброспинального менингита:

- * высокая лихорадка
- * головная боль
- * ригидность мышц шеи
- * рвота
- * высыпания

Менингококцемия

(геморрагические высыпания-экзантема)



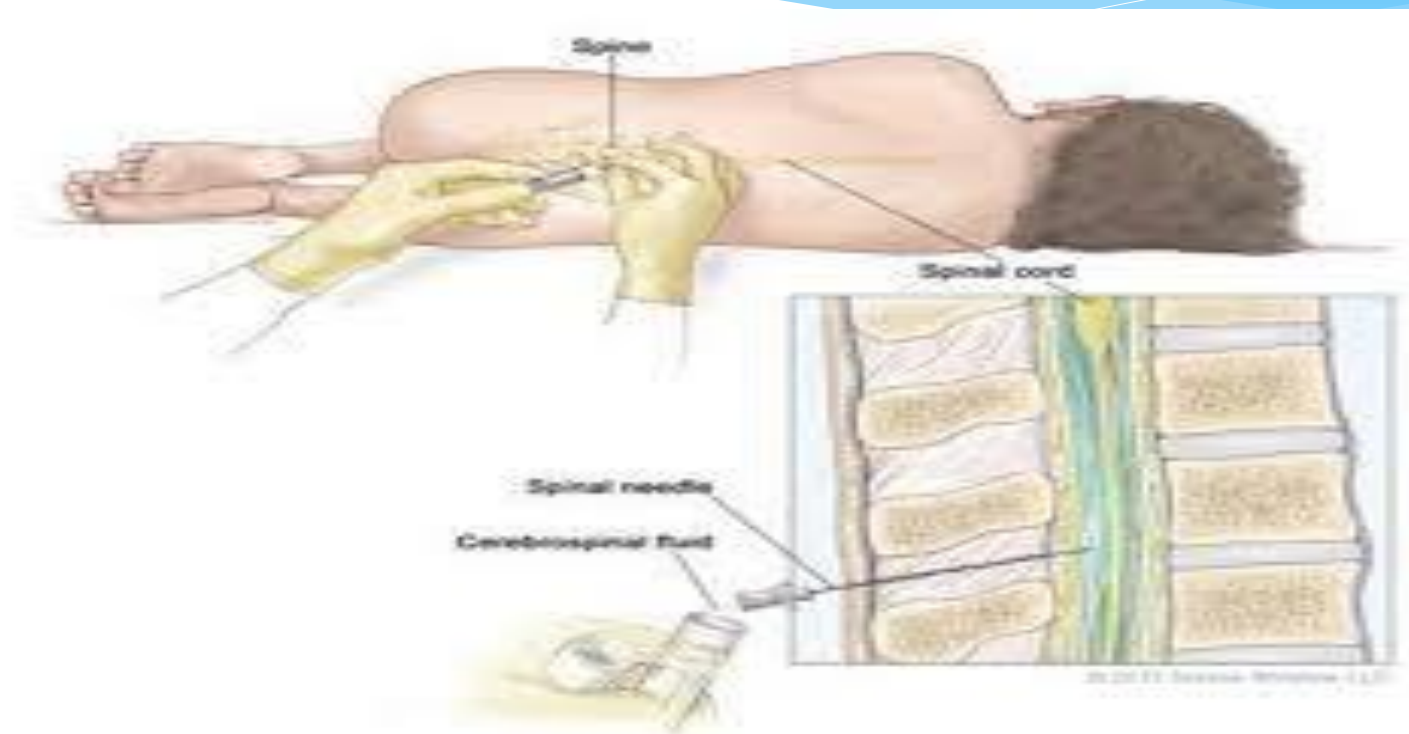
© Eduardo Fajardo, MD

Методы микробиологической диагностики менингококковых инфекций

Материалы для исследования:

- * *ликвор* - спинномозговая жидкость (жидкость мутная , при пункции вследствие высокого давления вытекает струей)
- кровь
- носоглоточная слизь
- пунктат из элементов сыпи

Забор спинномозговой жидкости (люмбальная пункция)



Методы микробиологической диагностики:

➤ *Микроскопический*

- * Микроскопия окрашенного по Граму мазка из ликвора (внутри лейкоцитов видны грамотрицательные диплококки бобовидной формы)

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- Посев исследуемого материала на питательные среды (кровяной и сывороточный)
- Инкубация при температуре 37°C с повышенным содержанием углекислого газа в течение 18-24 часов
- Идентификация выделенной культуры по морфо-биологическим свойствам
- Определение чувствительности к антибиотикам

* *Серологический*

- * Реакции преципитации и иммуноферментного анализа с ликвором
- * Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА) и ИФА с сывороткой

Лечение и специфическая профилактика менингококковых инфекций:

Лечение -

Бензилпенициллин

Хлорамфеникол

Цефалоспорины III поколения

Специфическая профилактика — для активной иммунизации используют вакцины из очищенных капсульных полисахаридов менингококков серогрупп А и С .

Гонококки

Классификация:

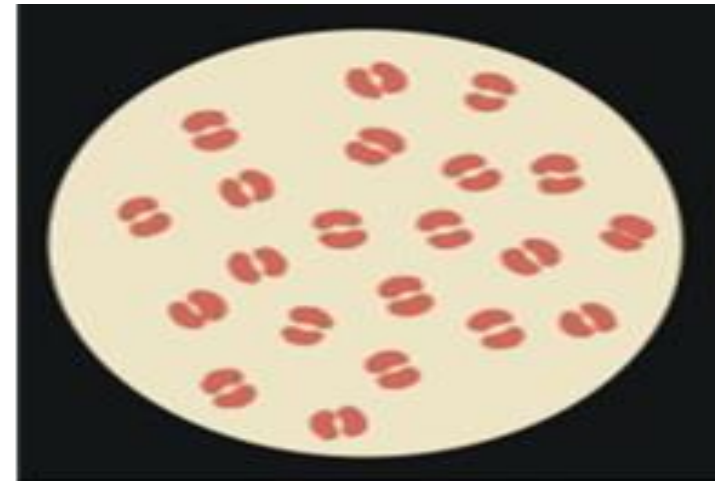
Семейство : *Neisseriaceae*

Род : *Neisseria*

Вид: *N.gonorrhoeae* (патогенный)

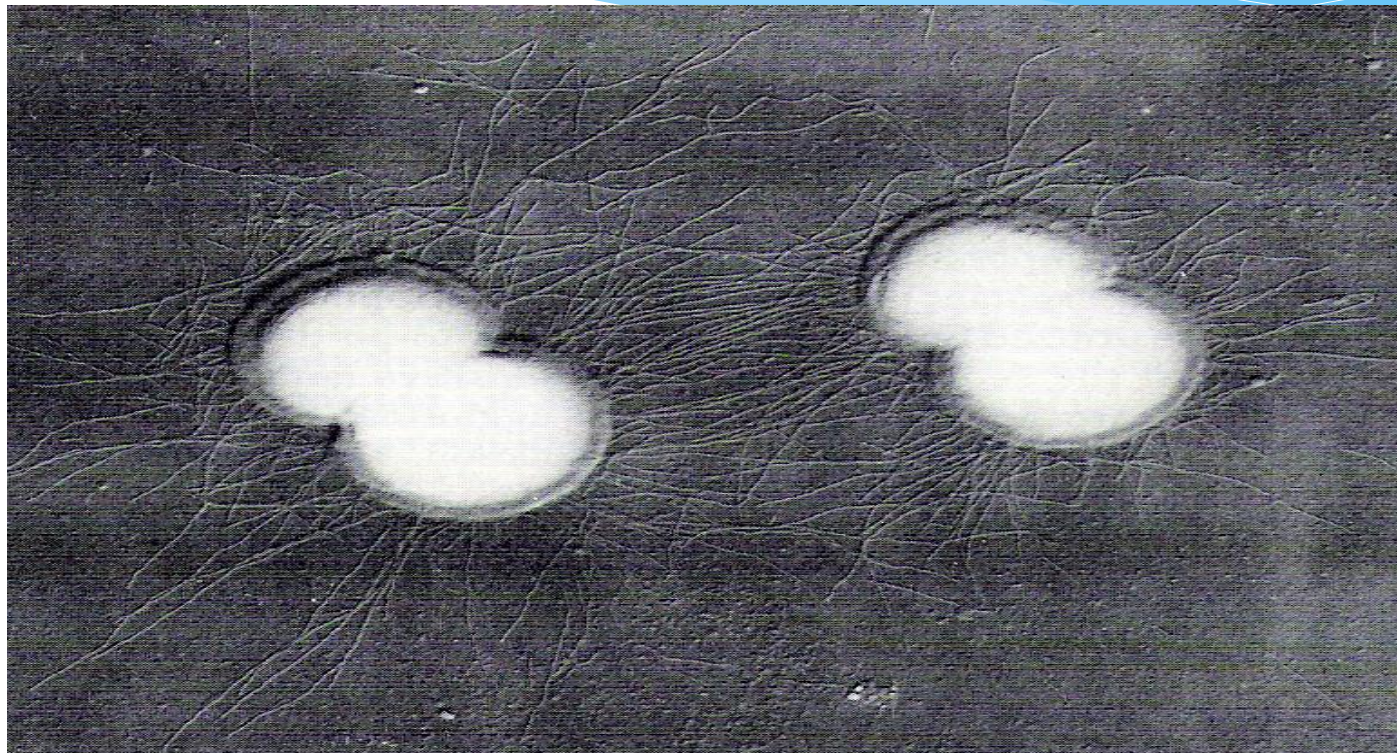
Морфо-биологические свойства:

Neisseria gonorrhoeae –



Neisseria gonorrhoeae

(электронная микроскопия)



Антигенная структура Neisseria gonorrhoeae

- *Пили*
 - *Поверхностные белки наружной мембраны:*
 - *Por-протеины* - PorA и PorB
 - *Opa-протеины* – протеины мутности, усиливают адгезию к клеткам макроорганизма
- Ора(-) гонококки образуют прозрачные, Ора(+) образуют мутные колонии

Культуральные свойства

На плотных питательных средах с добавлением сыворотки образуют прозрачные или слегка мутные блестящие колонии, напоминающие капельки росы 1-2 мм в диаметре.

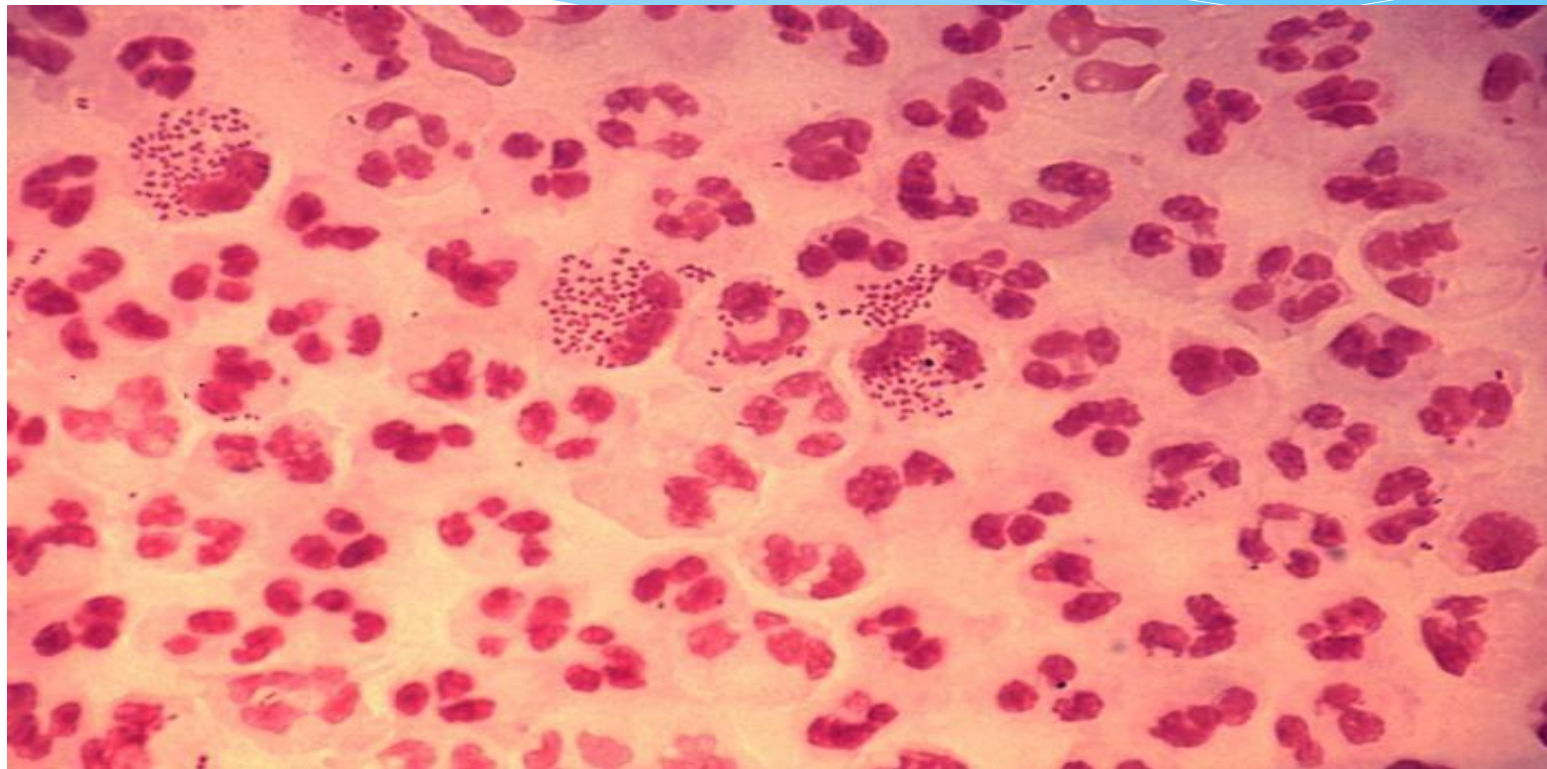
На жидких питательных средах растут диффузно и образуют поверхностную пленку.



N.gonorrhoeae
(негемолитические колонии на
кровяном агаре)

Neisseria gonorrhoeae

(в мазке из гнойного отделяемого больного гонореей)



Биохимические свойства

Признак	N.gonorrhoeae
Глюкоза	+ (до кислоты)
Аммиак	-
Индол	-
Сероводород	-
Оксидаза	+
Каталаза	+
Нитраты	-



N.gonorrhoeae каталаза(+)



N.gonorrhoeae оксидаза (+)

Neisseria gonorrhoeae

Факторы патогенности:

- * капсула
- * пили
- * липоолигосахарид (ЛОС)
- * белки наружной мембраны (*Por-*, *Opa-протеины*)
- * IgA -протеаза

Эпидемиология:

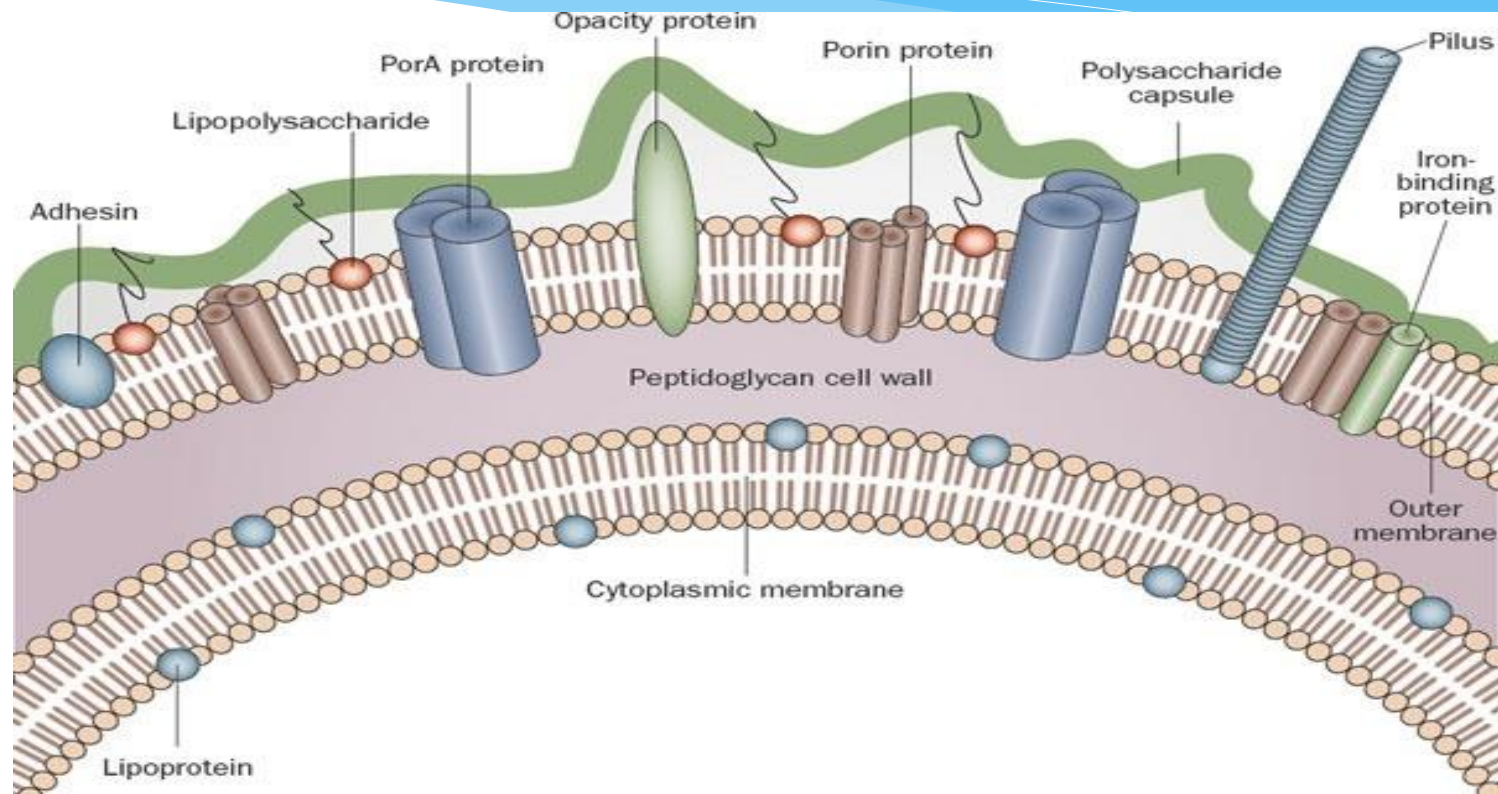
Источник инфекции-больной человек

Механизм и путь передачи: контактный (половой)

Вызываемые заболевания:

- гонорея
- бленнорея («*oftalmia neonatorum*»)
- Генерализованные инфекции и экстрагенитальные осложнения (бактериемия , артрит и др)

Факторы патогенности гонококков



Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи:

Материал для исследования берут стерильным ватным тампоном из:

- * уретры
- * влагалища
- * шейки матки
- * конъюнктивы
- * прямой кишки
- * зева

Также возможно исследование осадка мочи

Микробиологическая диагностика острой и хронической гонореи :

Микроскопический (при острой гонорее)

- * Микроскопия мазка , приготовленного из исследуемого материала (взятого тампоном из влагалища и уретры) и окрашенного по Граму (видны грамотрицательные внутриклеточные диплококки бобовидной формы)

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- Посев исследуемого материала на питательные среды (с добавлением сыворотки или асцитической жидкости)
- Инкубация при температуре 37°C с повышенным содержанием углекислого газа в течение 18-24 часов
- Выделенную культуру идентифицируют по морфо-биологическим свойствам
- Определение чувствительности к антибиотикам

➤ *Серологический (при хронической гонорее)*

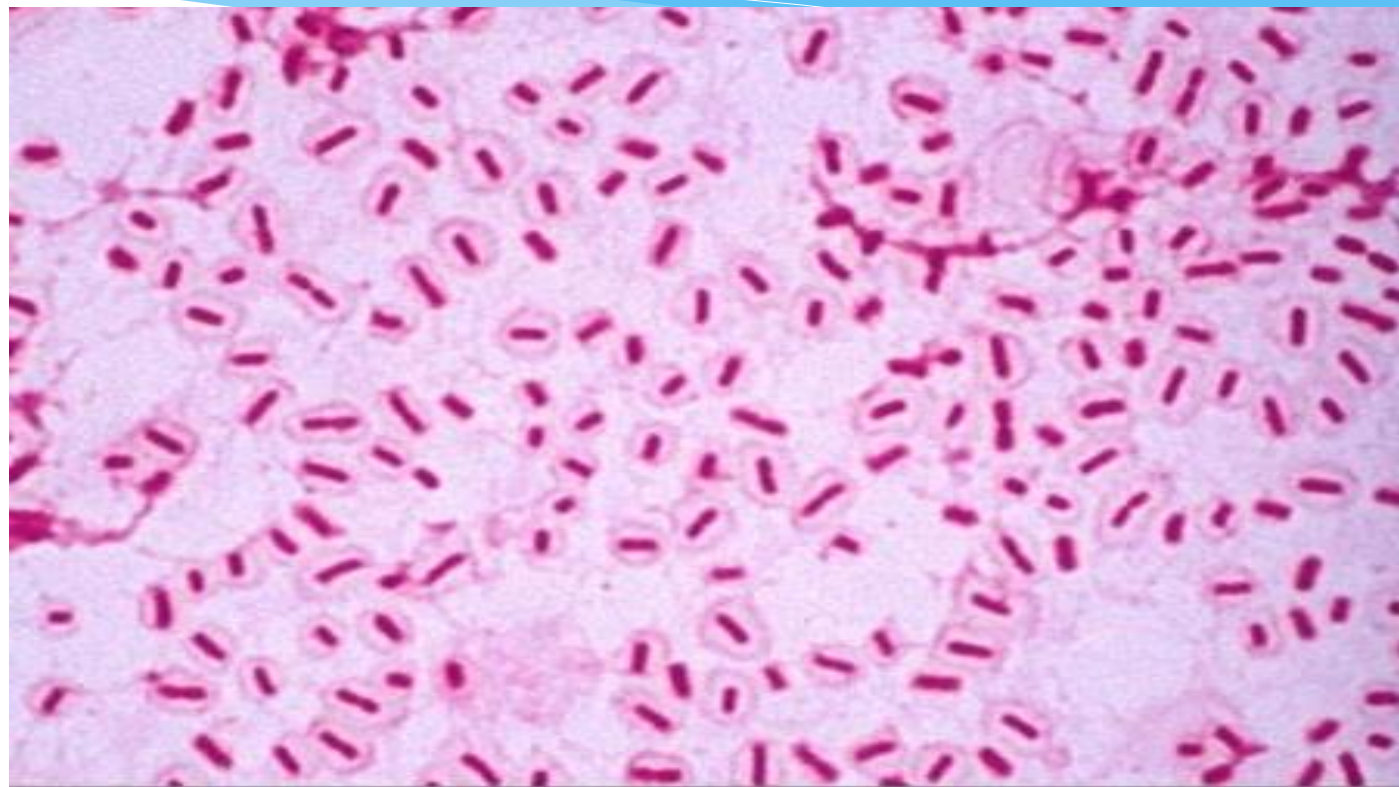
- * Иммуноферментный метод (ИФА)
- Молекулярно-генетический метод
- * Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Rod Klebsiella

- * В патологии человека основная роль принадлежит видам *K.oxytoca* и *K.pneumoniae*
- * *K.pneumoniae* по биохимическим свойствам подразделяется на 3 подвида: *K.subsp.pneumoniae*, *K.subsp.ozaenae*, *K.subsp.rhinoscleromatis*

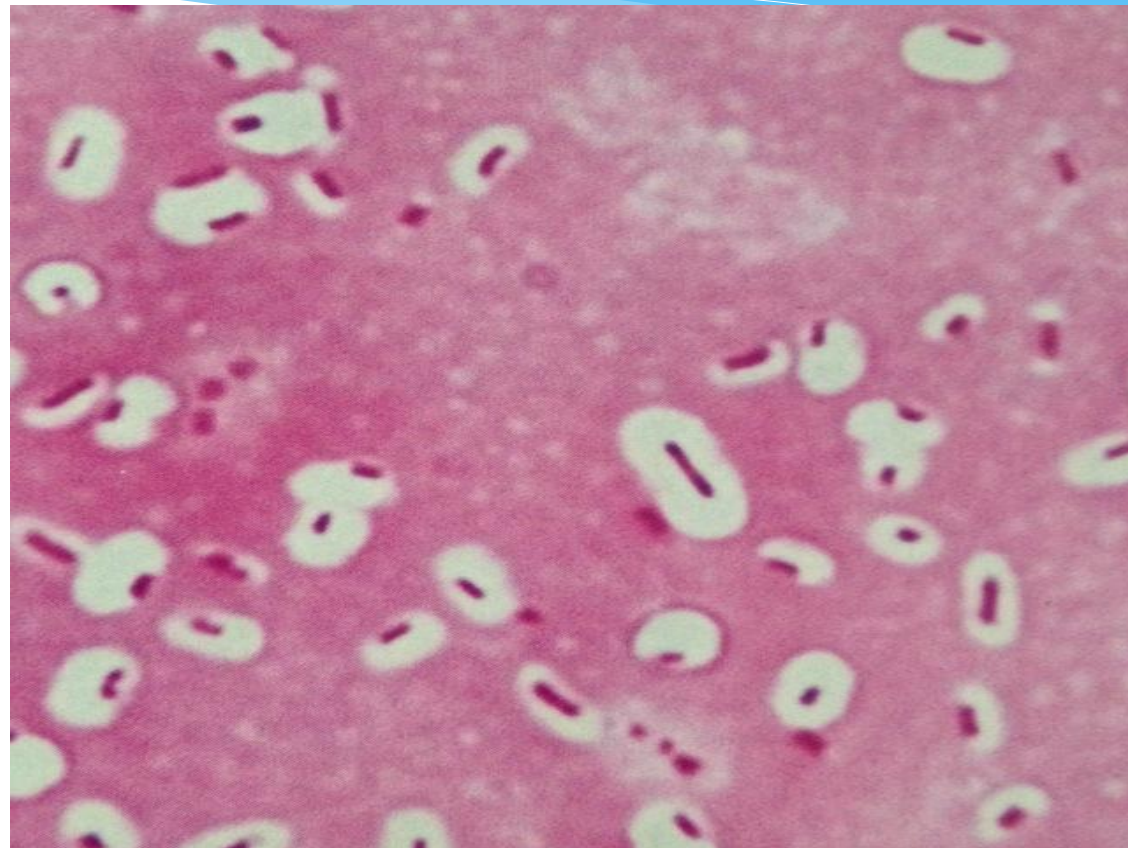
Klebsiella

мазок из чистой культуры (окраска по Граму)



Klebsiella

Окраска по Бурри-Гинсу



Klebsiella

kolonii



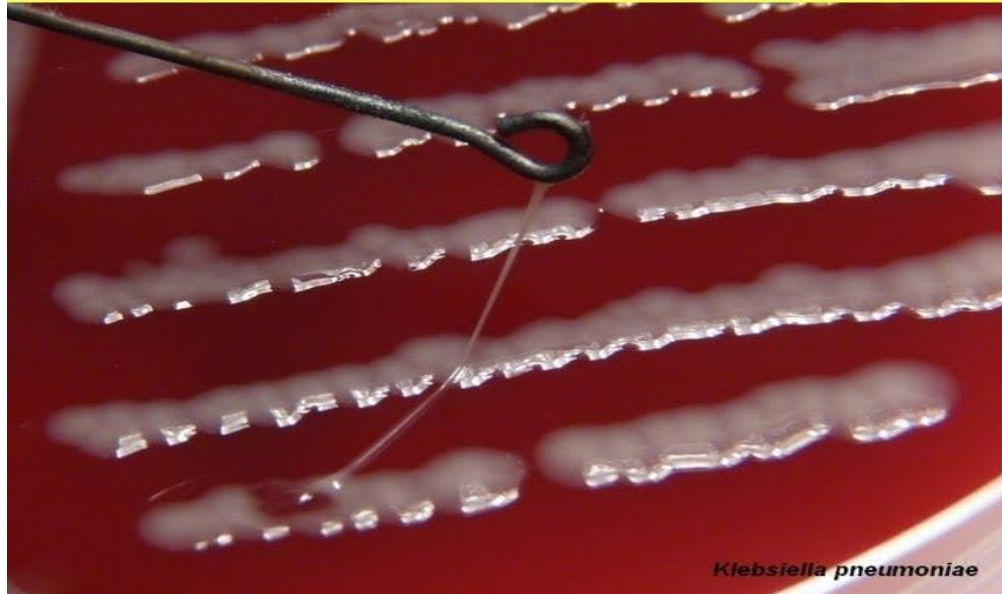
Klebsiella

slizistie kolonii

Gndo, Ploskireva, MakKonki, Levina

Klebsiella

Culture Characteristic

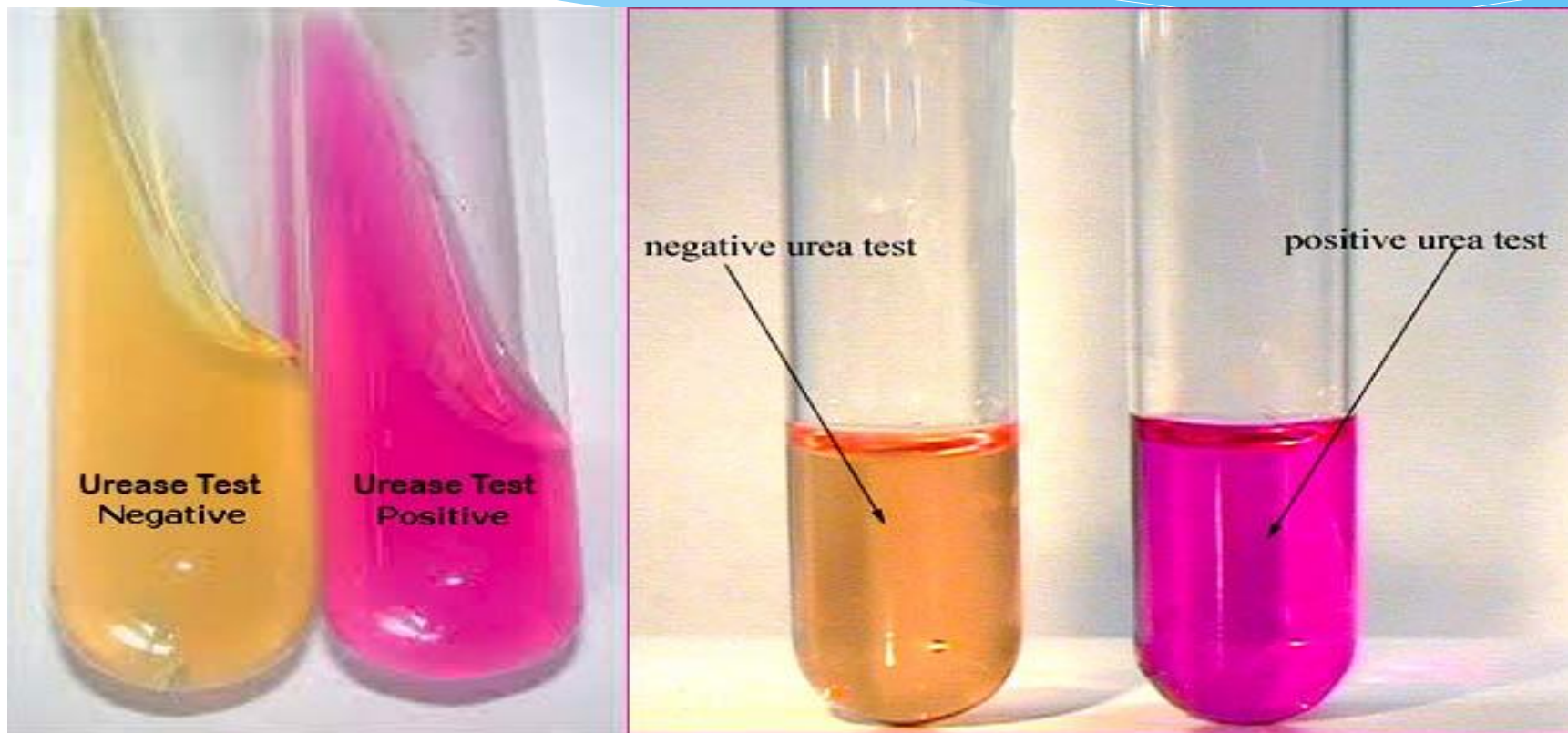


Биохимическая дифференциация бактерий рода *Klebsiella*

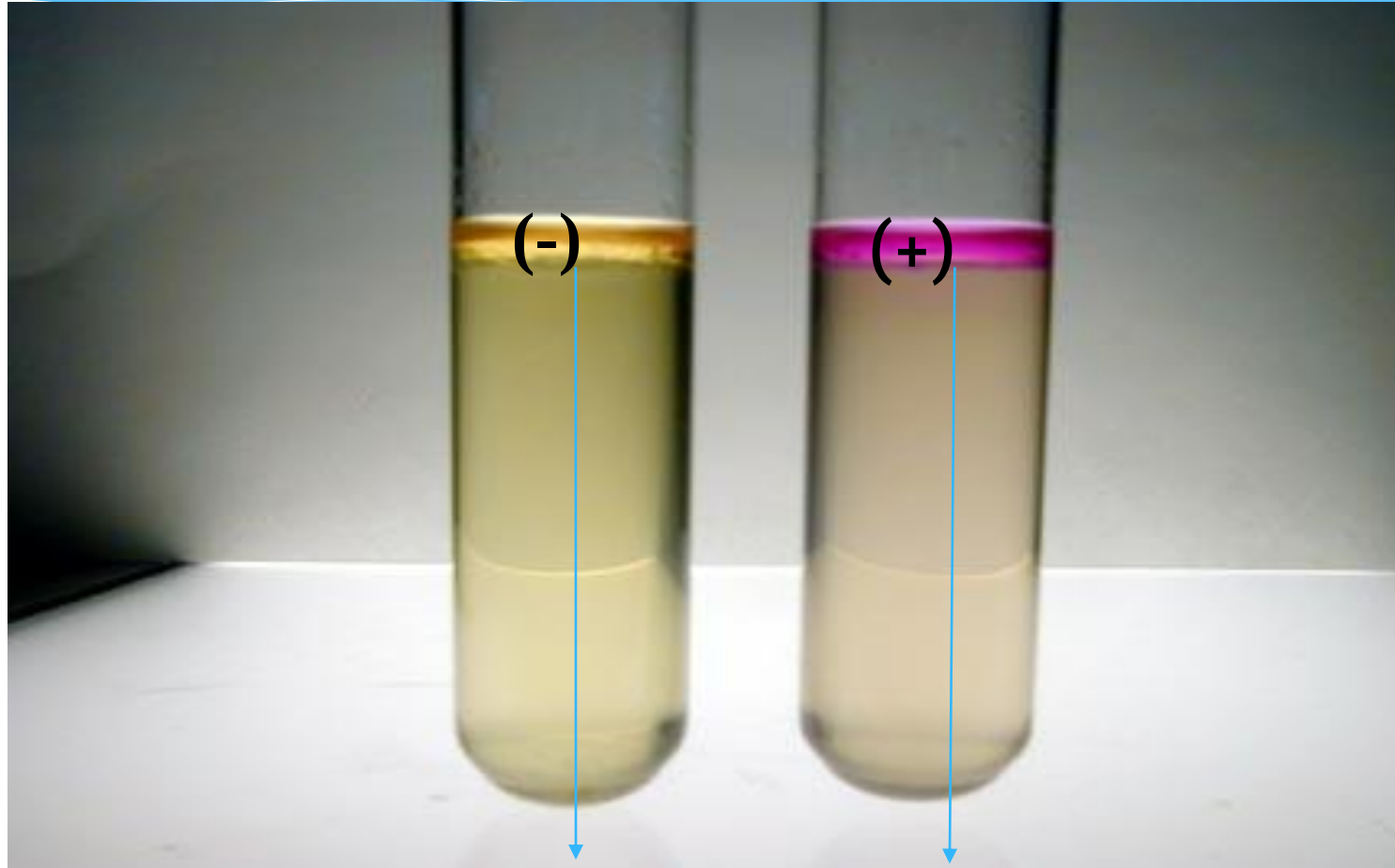
признаки	K.oxytoca	K.pneumoniae <i>spp. ozenae</i>	K.pneumoniae <i>spp. pneumoniae</i>	K.Pneumoniae <i>spp.rhinocleromatis</i>
Индолообразование	+	-	-	-
Реакция с метил-ротом	+/-	+	-	-
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	-	+	-
Утилизация цитрата	+	+/-	+	-
Утилизация малоната	+	+/-	+	-
Расщепление мочевины	+	+/-	+	-
Лизидекарбоксилаза	+	+/-	+	-
Расщепление лактозы	+	+/-	+	-

*Идентификация бактерий рода *Klebsiella**

(polocitelĭny ureazny test)



Внутривидовая дифференциация бактерий рода *Klebsiella* **(тест на Индол)**



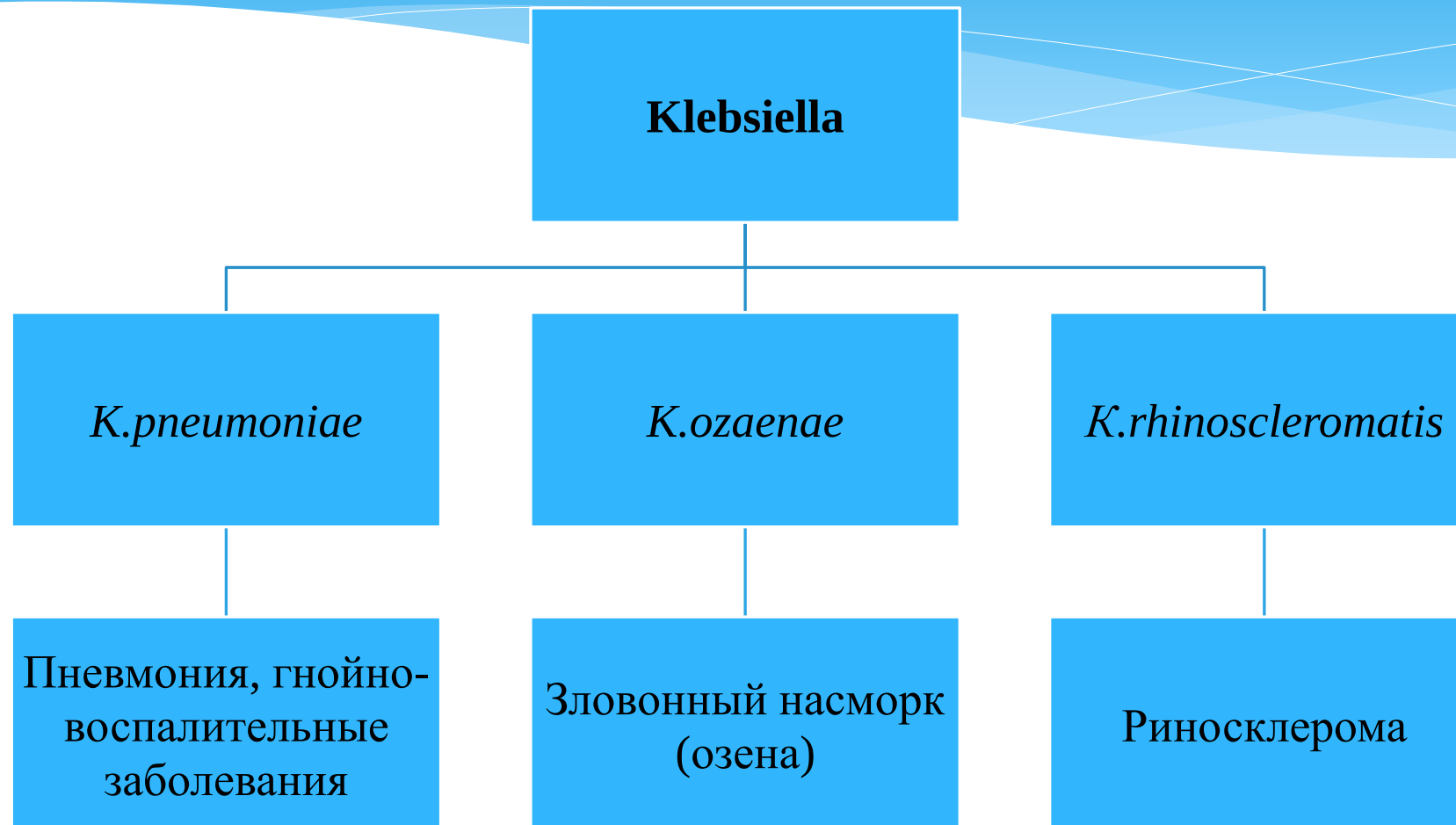
K.pneumoniae ssp.

K.oxytoca

*Факторы патогенности бактерий рода *Klebsiella**

- * капсула;
- * пили;
- * энтеротоксины,
- * эндотоксин (ЛПС),
- * ДНК-аза, нейраминидаза, фосфатаза

K.pneumonia (вызываемые заболевания)



Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * мокрота
- * моча
- * испражнения
- * кровь
- * гной

Микробиологическая диагностика

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- * Посев исследуемого материала на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам
- * Определение чувствительности к антибиотикам

➤ *Гистологический*

- * При озе и риносклероме

Rod Proteus

- * *Представители рода Proteus* – грамотрицательные палочки, капсулу и споры не образуют, подвижны.
- * *Род Proteus* включает 4 вида. В патологии человека наибольшее значение играют два вида: *P.vulgaris* и *P.mirabilis*

Rod Proteus

(культура на кровяном агаре и мазок из чистой культуры)



подвижные Н-колонии *P.vulgaris*



Rod Proteus

(identifikaüie i differenüiaüie na aqare Kliqlera)



Род *Proteus* - факторы патогенности:

- * Пили
- * Фермент протеаза
- * Фермент уреаза
- * Феномен « роения»
- * Гемолизин
- * Гемагглютинин

Rolĝ v patoloĝii ĉeloveka bakteriy roda *Proteus*

- * Протеи относятся к условно-патогенным микроорганизмам. Вызывают инфекции мочевыводящих путей (мочекаменная болезнь) и гнойную раневую инфекцию, в том числе сепсис.
- * Заболевания могут протекать как эндоинфекция, а также быть результатом внутрибольничной инфекции.

Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * мокрота
- * моча
- * испражнения
- * кровь
- * гной

Микробиологическая диагностика

Методы исследования :

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- * Посев на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам
- * Определение чувствительности к антибиотикам

Род Pseudomonas

(taksonomiə)

- * Сравнительно недавно некоторые бактерии рода *Pseudomonas* были отнесены к роду *Burkholderia*
- * Представитель рода *Pseudomonas* *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – возбудитель многих гнойно-воспалительных заболеваний
- * Представители рода *Burkholderia*: *Burkholderia (Pseudomonas) mallei* – возбудитель сапа и *Burkholderia (Pseudomonas) pseudomallei* – возбудитель мелиоидоза.

Pseudomonas aeruginosa –

грамотрицательные, подвижные палочки, спор не образуют



Pseudomonas aeruginosa

(рост на питательных средах)

- * На кровяном агаре: β -гемолиз
- * На средах Эндо и Мак-Конки : лактозонегативные колонии (не ферментируют лактозу)
- * На мясопептонном агаре: мутные колонии с запахом жасмина

Pseudomonas aeruginosa

культуры



Pseudomonas aeruginosa

(факторы патогенности)

- * Пили
- * Экстрацеллюлярная слизь

Токсины:

- * ЛПС
- * Экзотоксин А
- * Экзотоксин S
- * Лейкоцидин
- * Энтеротоксин

Ферменты агрессии:

- * Гемолизин
- * Нейраминидаза
- * Протеаза
- * Эластаза

Роль *Pseudomonas aeruginosa* в патологии человека

- Ожоговая болезнь
- Гнойные инфекции хирургических ран
- Кератит
- Отит
- Муковисцидоз
- Инфекции мочевыводящих путей
- Септикопиемия («*ecthyma gangrenosum*»)

Proāvleniā sineqnoynoy infekūii na ocoqovoy poverxnosti



*Септикопиемия, вызванная *Pseudomonas aeruginosa* («ecthyma gangrenosum»)*



Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования:

- * Кровь (при сепсисе)
- * Гной и раневое отделяемое
- * Моча
- * Мокрота

Микробиологическая диагностика

Методы исследования :

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- * Посев исследуемого материала на простые и лактозосодержащие дифференциальные питательные среды
- * Инкубация при температуре 37°C на 18-24 часа
- * Идентификация по морфо-биологическим свойствам
- * Определение чувствительности к антибиотикам