

ГОУ ВПО «Омская государственная медицинская академия»

Рудаков Николай Викторович

д.м.н., профессор

зав. кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии

ЛЕКЦИИ №1-2. Возбудители кокковых инфекций

Основные вопросы

Общая характеристика кокковой группы прокариотов.

Грам-положительные кокки: стафилококки и стрептококки.

Грам-отрицательные кокки: нейссерии – гонококк и менингококк.

Общая характеристика возбудителей кокковых инфекций

ГРАМ+

- семейство Micrococccaceae
(род **Staphylococcus**)
- семейство Streptococcaceae
(род **Streptococcus**)

ГРАМ-

- семейство Neisseriaceae
(род Neisseria: **ГОНОКОКК** и
МЕНИНГОКОКК)

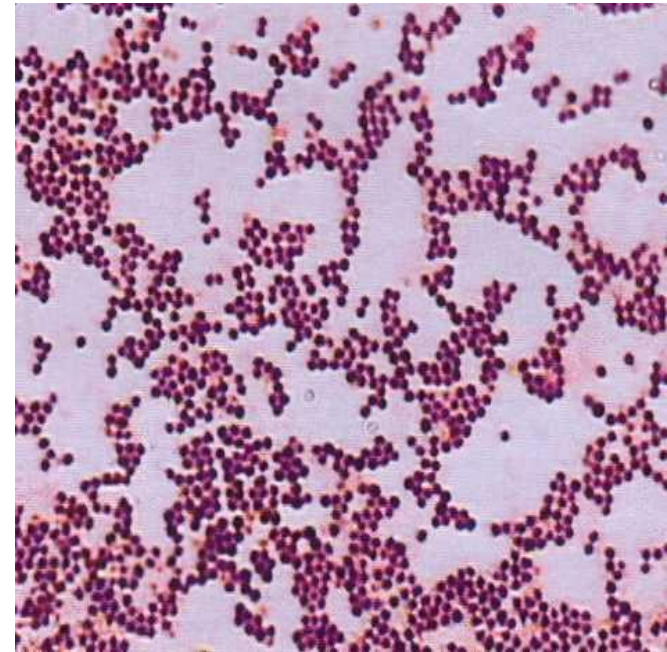
Стафилококки

Таксономия

- Род *Staphylococcus* (31 вид)
Основные виды: 1. **S.aureus** – золотистый стафилококк (основной патогенный вид);
2. *S.epidermidis* – эпидермальный стафилококк;

Морфология

Имеют шаровидную форму, диаметром 0,5-1,5 мкм. Грам+ кокки, неподвижные, спор и капсул не образуют. Клеточная стенка содержит пептидогликан и тейхоевые кислоты, белок А (*S.aureus*).



Стафилококки в мазках могут располагаться поодиночке, парами, короткими цепочками и в виде гроздевидных скоплений

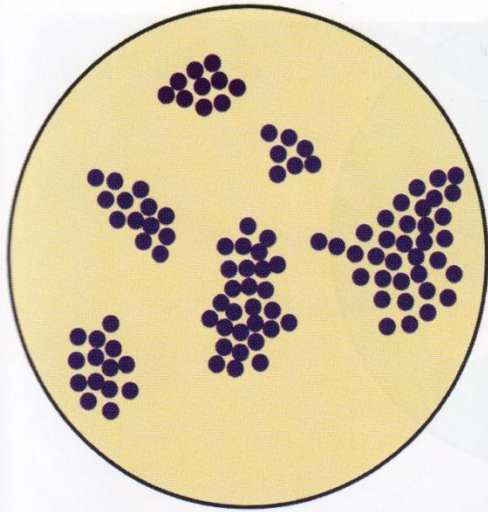


Рис. 1.1. Стафилококки. Окраска по Граму.

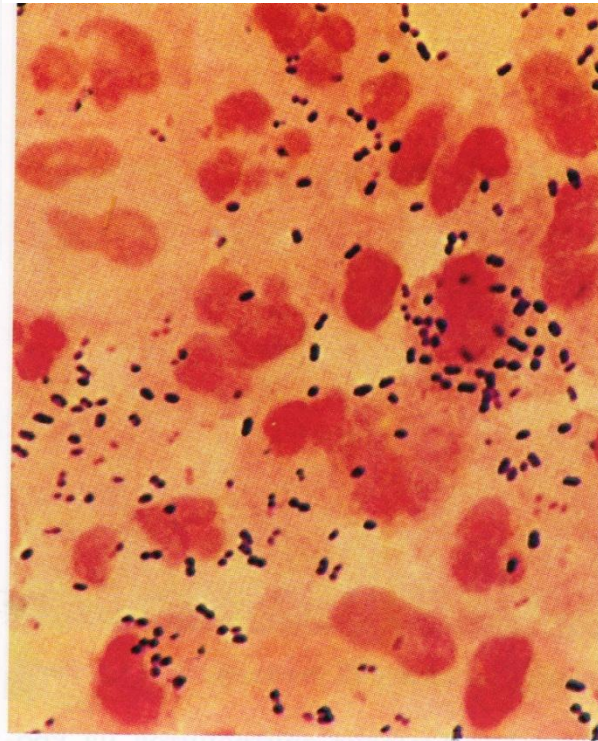
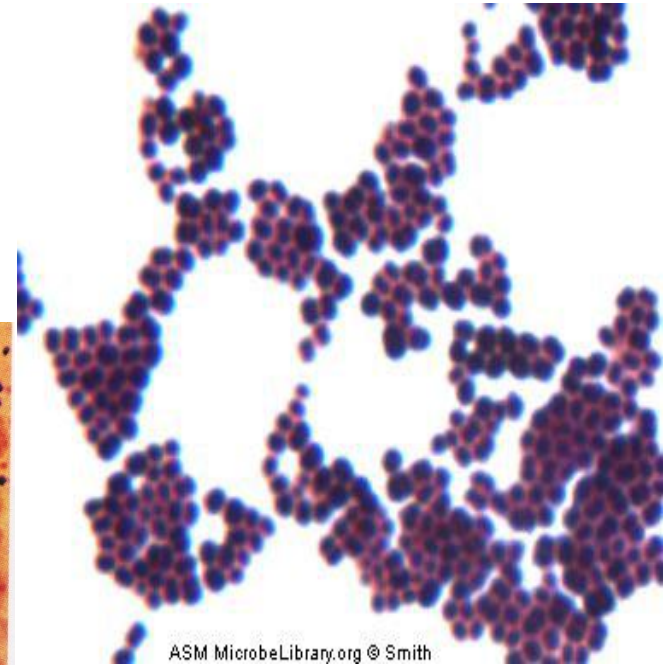


Рис. 1.2. Стафилококки в гное.

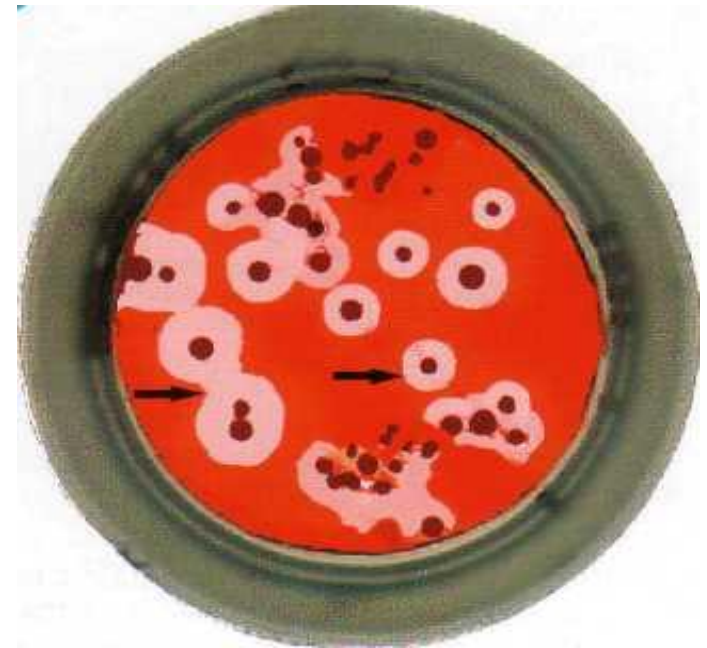


Культивирование

- Растут на МПБ и МПА, средах с NaCl.
- Колонии - выпуклые с ровными краями пигментированы, размером 1-4 мм (белые, золотистые, жёлтые).
- На кровяном агаре – гемолиз
- Элективная среда- ЖСА (до 15% NaCl + желток)
- На бульоне - диффузное помутнение.



Рис. 1.4. Колонии *S. aureus* на маннитол-солевом агаре (ферментация маннита, образование пигмента). HiMedia, Mannitol Salt Agar (M118).



Биохимические свойства

- **Расщепляют углеводы в аэробных условиях, образуют индол, аммиак, сероводород**
- **Гидролизуют белки, жиры, свертывают молоко**
- **Образуют ферменты: ДНК-азу, лецитиназу, плазмокоагулазу, фосфатазу, уреазу**

Антигенные свойства

- **около 50 типов Аг: белковые, пептидогликан, токсины, видоспецифические - тейхоевые кислоты, белок А**

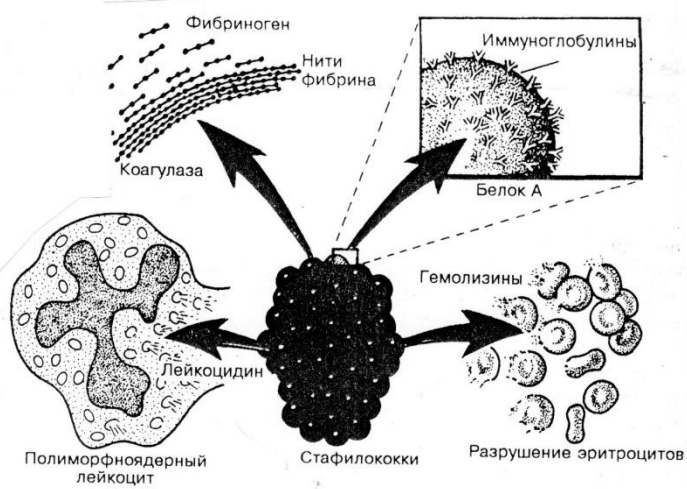


Рис. 6-2. Основные факторы патогенности *S.aureus* (Из: Schaechter M, Medoff G, Eisen *Mechanisms of microbial diseases*, 2nd ed., Williams & Wilkins, 1993.)

Факторы патогенности:
токсины, ферменты,
компоненты клеточной
стенки (белок А,
тейхоевые к-ты)

Экзотоксины: Гемолизин- лизис эритроцитов

Лейкоцидин - разрушает нейтрофилы

Некротоксин - некроз кожи

Эксфолиатины - поражают кожные покровы у детей

Энтеротоксины - вызывают пищевые отравления

Ферменты: Плазмокоагулаза – свёртывает плазму, защищает от фагоцитоза.

Гиалуронидаза – способствует распространению в ткани.

Лецитиназа – разрушает лецитин, фибринолизин – растворяет фибрин.

Белок А образует комплекс с Fc фрагментом IgG, который инактивирует комплемент и ослабляет фагоцитоз.

Особые свойства возбудителя:

- **Способность поражать различные органы и ткани**
- **Высокая устойчивость во внешней среде**
- **Постоянное пребывание на коже и слизистых**
- **Суперантигенные свойства**
- **Высокая генетическая изменчивость и антибиотикорезистентность**

Клиника и эпидемиология

- Вызывают гнойные инфекции (120 нозологических форм): воспалительные процессы кожи, подкожной клетчатки, слизистых оболочек (фурункулы, карбункулы, абсцессы, панариции, маститы);
- костной системы (остеомиелиты);
- внутренних органов (пневмонии, аппендициты, пиелонефриты, холециститы);
- Сепсис, послеоперационные и послеродовые нагноения.

Источник инфекции: носители (нос, зев, кожа) и больные люди (дефицит секреторного IgA), эндогенная инфекция

Постинфекционный иммунитет

- В связи с гетерогенностью Аг структуры перекрестного иммунитета нет, иммунитет серовар-специфический, антибактериальный и антитоксический. Особое значение – дефицит секреторного IgA.

Лабораторная диагностика. Основной – бактериол. метод. Бактериоскопия, посев на простые среды, пересев на дифференциальные (ЖСА, кровяной агар), видовая идентификация по культуральным и б/х свойствам. Чувствительность к антибиотикам, фаготипирование.

Лечение. Антибиотиками (чувствительность!!!), фаги, антистафилококковый иммуноглобулин.

Профилактика – специфическая (иммунизация стафилококковым анатоксином, профилактика пиодермий) и неспецифическая.

Род *Streptococcus* (стрептококки)

Дифференциация основана на гемолизе эритроцитов барана и антигенных свойствах

Основные виды:

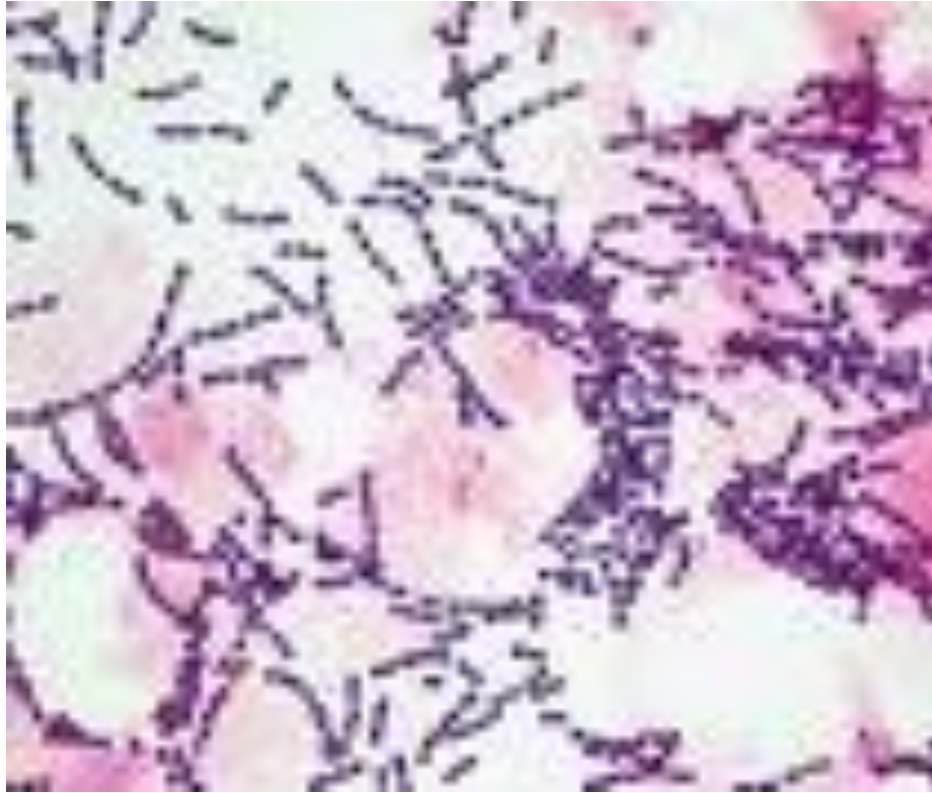
- *S.pyogenes* (стрептококки группы А)
- *S.agalactiae* (стрептококки группы В)
- *S.pneumoniae* (пневмококки)
- зеленящие стрептококки биогруппы mutans

Морфология, физиология. Грам+ кокки, расположены в виде цепочек (strepto-цепочка). Требовательны к питательным средам. Размножаются на средах сложного состава, с кровью. На поверхности твердых сред образуют мелкие колонии, в жидких дают придонный рост, оставляя среду прозрачной.

Антигены

- Деление на серогруппы - по полисахаридным антигенам. К основной серогруппе А относят вид **S. pyogenes**.
- Дифференциация на серовары проводят по М-Аг. У стрептококков серогруппы А обнаружены перекрестно-реагирующие Аг с тканями миокарда и др. органов, с ними связано развитие ревматизма, гломерулонефрита и др. иммунопатологических состояний.
- По характеру роста на кровяном агаре различают **а-гемолитические стрептококки**, окруженные зоной гемолиза с зеленоватым оттенком, **в-гемолитические**, окруженные прозрачной зоной гемолиза и **негемолитические**.

Морфология стрептококков



Гемолиз стрептококками эритроцитов барана



Факторы патогенности:

Белок M (адгезин, суперАг, протективный Аг, тормозит фагоцитоз, определяет деление на серовары);

Капсула (гиалуроновая к-та, мимикрия);

S5-пептидаза – тормозит фагоцитоз;

Ферменты (стрептолизины S и O, гиалуронидаза, стрептокиназа - фибринолизин) и эритрогенные токсины (эритрогенин) обуславливают воспалительную реакцию.

Эпидемиология. Выделяют:

- стрептококки группы А - патогены человека (*S. pyogenes*).
- патогенные и условно- патогенные стрептококки серогрупп В и D (*S. agalactiae* и др.), патогенные для людей и животных.
- В организме человека обитают в экологических нишах: полость рта, верхние дыхательные пути, кожа и кишечник.
- **Источником инфекции** являются больные люди, реконвалесценты, бактерионосители. Основной путь распространения возбудителя - воздушно-капельный, реже контактный.

Клиника. Вызывают локальные (ангина, гайморит, кариес, отиты) и генерализованные инфекции (ревматизм, рожа, скарлатина, стрептодермии, сепсис, гломерулонефрит, пневмонии).

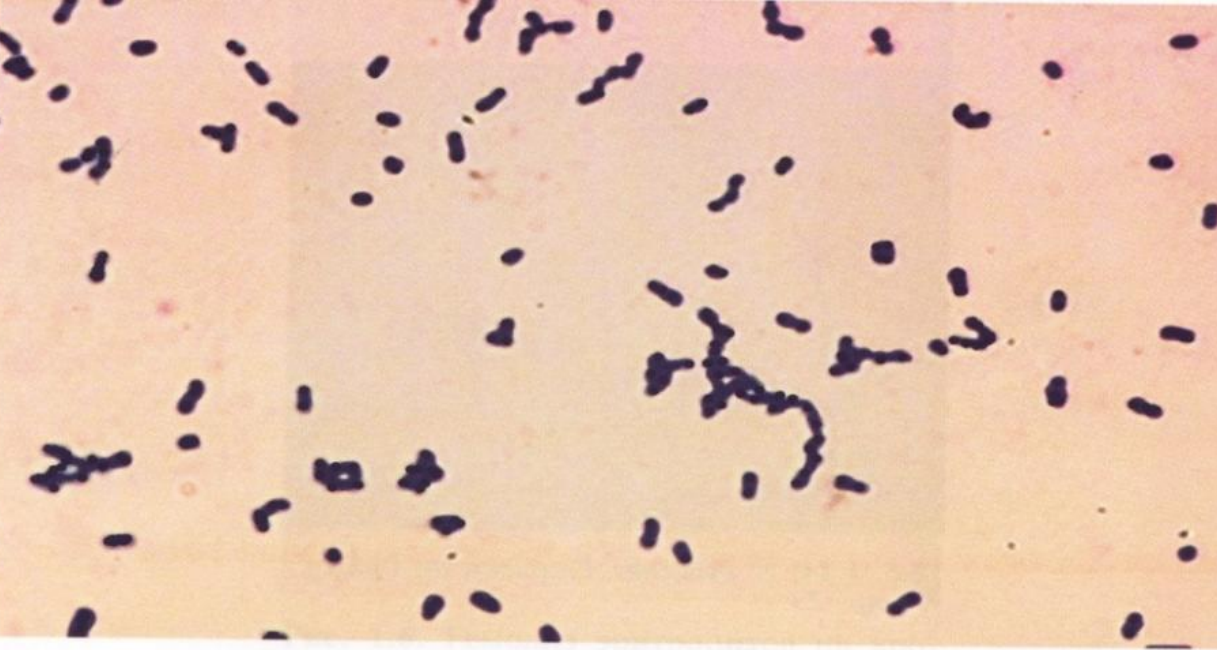
Профилактика и лечение.

Специфической профилактики нет.
Лечение антибиотиками.

Резистентность к ним развивается медленно. Можно использовать бета-лактамы, в т.ч. бензилпенициллин. Применяют цефалоспорины, аминогликозиды, макролиды.

Лабораторная диагностика

- **Материал для исследования подвергают бактериоскопии с окраской по Граму. Бактериологическое исследование – посев на чашки Петри с кровяным агаром.**
- **Выросшие колонии характеризуют по наличию гемолиза. Идентификация культуры по Ag свойствам в реакции преципитации с полисахаридным Ag исследуемой культуры и антисыворотками к серогруппам А, В, D. Молекулярная диагностика - ПЦР.**



Стрептококк пневмонии (пневмококк)

Рис. 1.20. Чистая культура *S. pneumoniae*. Окраска по Граму.

- **Морфология и физиология.** Диплококки, имеют вытянутую форму в виде пламени свечи. Каждая пара кокков окружена капсулой. Растут на кровяных средах, образуя мелкие колонии с α-гемолизом.
- **Антигены.** *S. pneumoniae* содержит полисахаридный капсульный Аг (свыше 85 сероваров), полисахаридный Аг клеточной стенки и М-протеин.

Пневмококки колонизируют поверхность респираторного тракта. Заражение - воздушно-капельным путем. Вызывают бронхит, пневмонию, реже бактериемию, септицемию и менингит. Генерализованные формы чаще встречаются у детей и пожилых людей.

Постинфекционный иммунитет носит серовар-специфический характер.

Профилактика и лечение.

Для вакцинопрофилактики применяют поливалентную полисахаридную вакцину, для лечения - антибиотики (бета-лактамы, макролиды и др.)

ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОККИ

Значение в патологии человека имеют два вида рода *Neisseria* - *N. meningitidis* и *N. gonorrhoeae*, вызывающие менингококковую инфекцию и гонорейю соответственно.

Менингококки (*N. meningitidis*)

Морфология. Клетки имеют сферическую или овоидную форму. В препаратах располагаются попарно. Обращенные друг к другу поверхности уплощены. Хорошо окрашиваются анилиновыми красителями. Имеют микрокапсулу и пили.

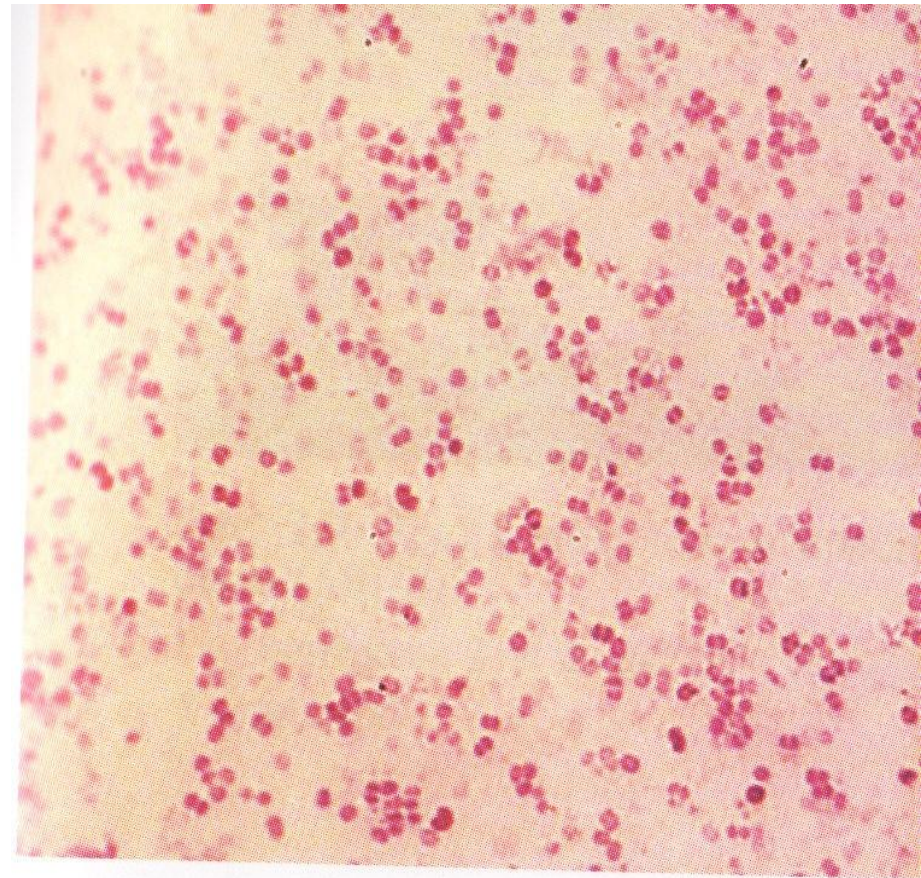


Рис. 1.22. Чистая культура *N. meningitidis*. Окраска по Граму.

Морфология менингококков

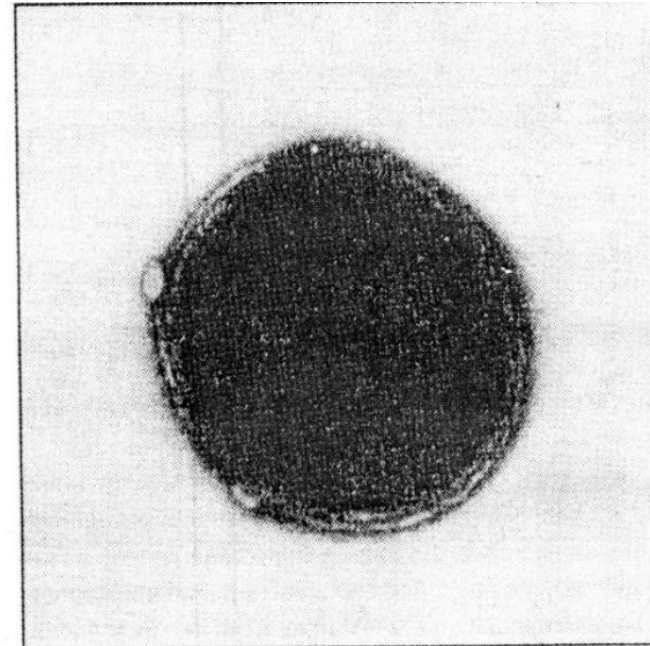
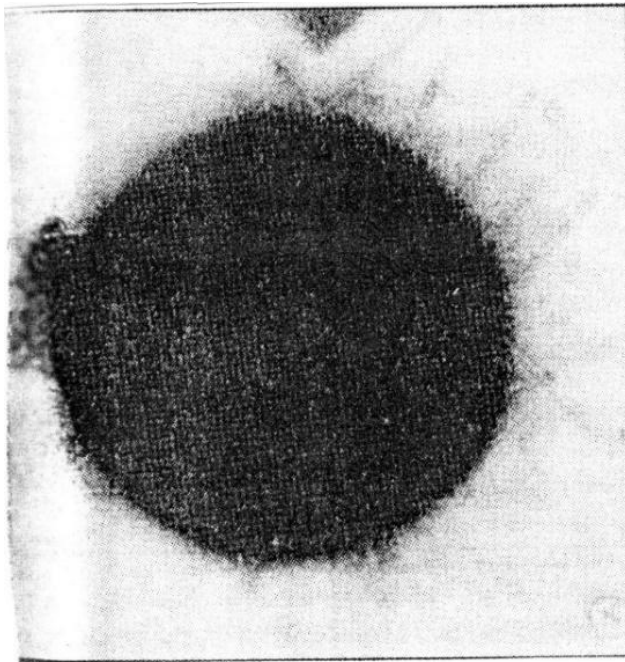
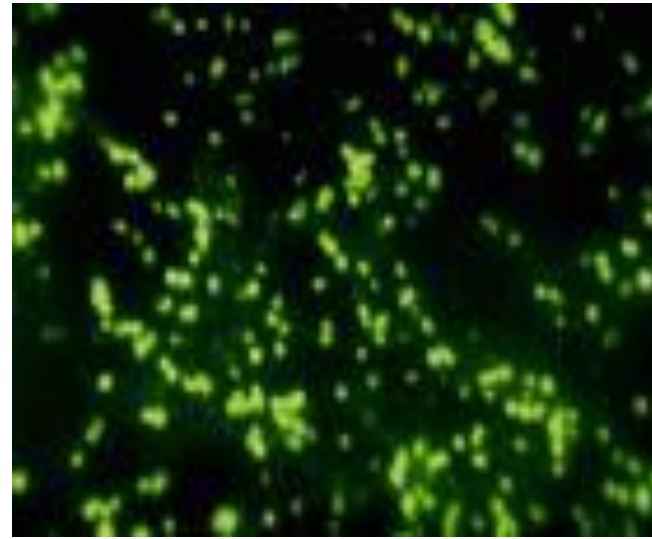
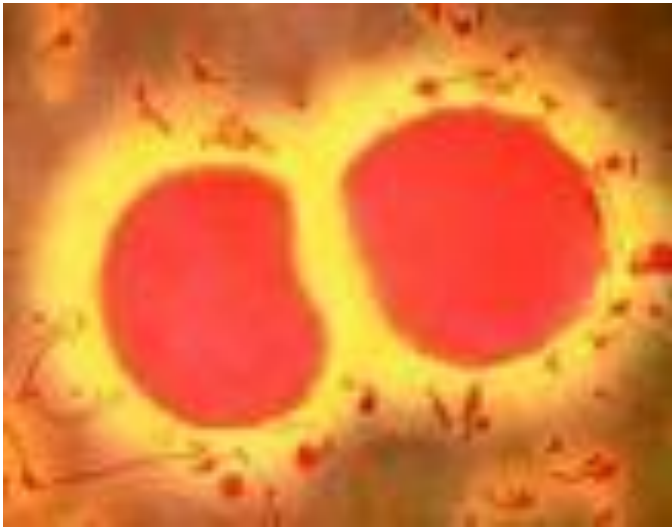


рис. 2. Электронограммы *N. meningitidis*. Слева — культура, выращенная на среде, поддерживающей образование пилей. Справа — тот же штамм, утративший пили [Burrow's Textbook of Microbiology. 22nd ed. W.B. Saunders Company. 1985]

Физиология

- **Аэробы, обладают цитохромоксидазой и каталазой.**
- **Требовательны к условиям культивирования.**
- **Культивируют на средах, содержащих сыворотку или кровь лошади. На сывороточном агаре образуют бесцветные нежные колонии вязкой консистенции.**
- **Слабая сахаролитическая активность, расщепляют глюкозу и мальтозу до кислоты.**

Антигены. По капсульным Аг менингококки делят на серогруппы. Заболевания чаще вызывают серогруппы А, В и С. Менингококки серогруппы А вызывают вспышки, тяжелые формы инфекции.

Патогенность и патогенез. Факторы вирулентности: капсульные полисахариды обеспечивают устойчивость к фагоцитозу;

- пили, с помощью которых они прикрепляются к рецепторам эпителиальных клеток;
- белки наружн. мембраны - адгезивная функция;
- нейраминидаза и гиалуронидаза способствуют их инвазии в ткани.
- эндотоксин - ЛПС клеточной стенки, обнаруживают в крови и ликворе (играет роль в развитии генерализованных форм инфекции и вызывает эндотоксический шок).

Клинико-эпидемиологические особенности

- Хозяин менингококков - человек. Источник инфекции - больной или носитель.
- Попадание менингококков на слизистые верхних дыхательных путей может привести к возникновению **носительства**, в части случаев - к развитию воспаления.
- При попадании в кровь возникает бактериемия и **токсинемия**, играющие важную роль в патогенезе болезни.
- В большинстве случаев **бактериемии менингококк проникает в мозговые оболочки и вызывает развитие менингита или менингоэнцефалита.**

- **Менингококковая инфекция** - острое инфекционное заболевание человека, которое передается воздушно-капельным путем и характеризуется локальным поражением слизистой оболочки носоглотки с последующей генерализацией в виде менингококковой септицемии (менингококцемия) и воспаления мягких мозговых оболочек (менингококковый менингит).

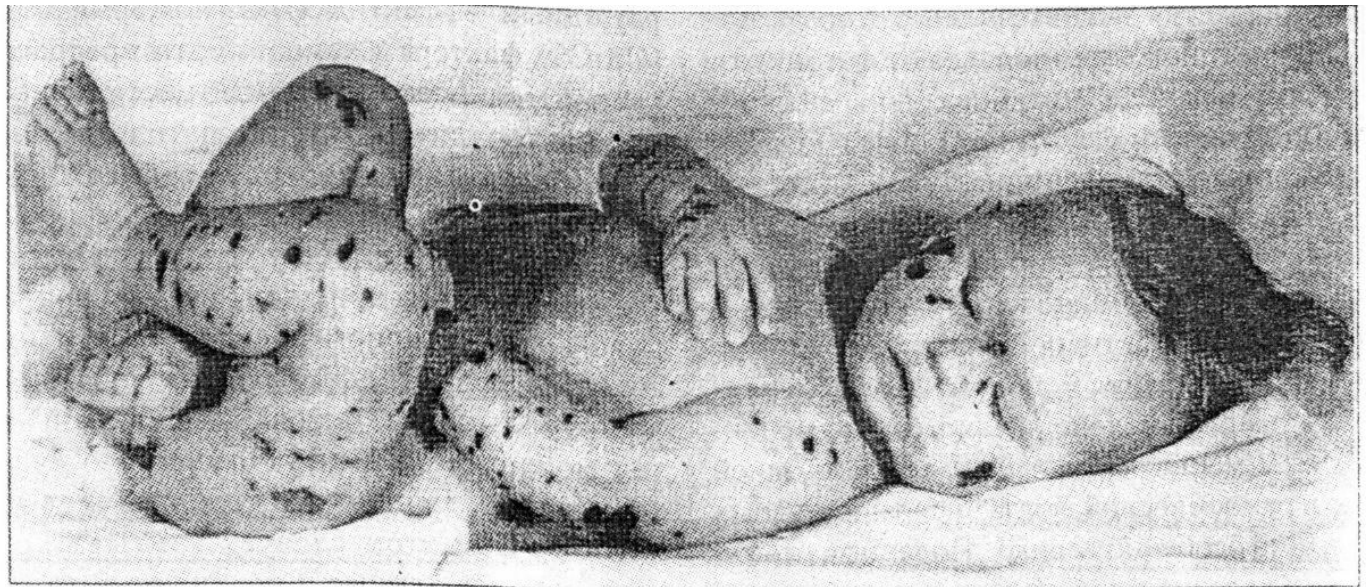


Рис. 4. Геморрагический синдром (сыпь) при генерализованной менингококковой инфекции [А.Л. ...]

Постинфекционный иммунитет при генерализованных формах напряженный, повторные заболевания возникают редко.

Полисахаридные Аг сероваров А и С обладают высокой иммуногенностью, полисахариды серовара В слабо иммуногенны.

Профилактика и лечение.

Применяют антибиотики - В-лактамы, пенициллины и цефалоспорины.

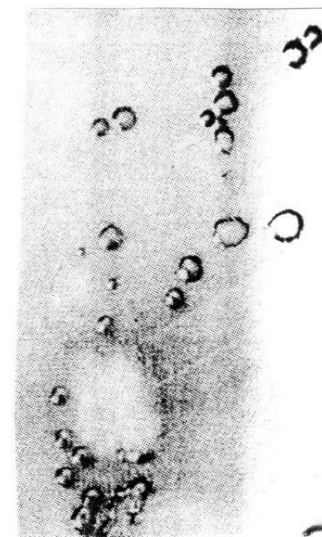
Специфическая профилактика - менингококковой химической вакциной на основе полисахаридных антигенов сероваров А и С.

Лабораторная диагностика

Материал для иссл-я - спинномозговая жидкость при менингите, кровь - при подозрении на менингококцемию.



А



Б

- Материал из носоглотки и осадок спинномозговой жидкости сразу засевают на сывороточный или кровяной агар.
- Слизь из носоглотки засевают на две чашки, питательная среда одной из них должна содержать антибиотик ристомицин (или линкомицин) для подавления грамположительной флоры.
- Кровь засевают в полужидкий агар. Выросшую культуру идентифицируют по трем тестам, дающим возможность отнести ее к роду *Neisseria*: характерная морфология, отрицательная окраска по Граму и положительная реакция на оксидазу.

- У идентифицированной культуры определяют серогруппу.
- При симптомах менингита в качестве экспресс-диагностики определяют наличие антигена в спинномозговой жидкости.
- Обнаружение антител в крови больных проводят в РНГА с эритроцитарными диагностикумами на основе группоспецифических полисахаридных антигенов.

Гонококковая инфекция

- - вызывается *Neisseria gonorrhoeae*, передается половым путем и характеризуется гнойным воспалением слизистой оболочки мочеполовых путей (гонорея), конъюнктивы глаз (бленнорея), других органов, интоксикацией.
- **Морфология** Гонококки имеют бобовидную форму, диплококки. Окружены микрокапсулой, жгутиков не имеют, образуют пили.
- **Антигенная структура** гонококков изменчива. Это связано с наличием антигенных вариантов пилей, которые формируются в процессе инфекции.



Патогенность и патогенез

- Гонококки прикрепляются к эпителию уретры, шейки матки, прямой кишки, конъюнктивы глаза, а также сперматозоидам и простейшим (трихомонады).
- Характерна способность проникать в лейкоциты и размножаться в них.

Факторы патогенности

ЛПС оказывает токсическое действие.

Капсульные полисахариды подавляют фагоцитоз.

Адгезия и проникновение гонококков в клетки - при участии **пилей** и **белков наружной мембраны**, соединяясь с ворсинками эпителия. Развивается острый уретрит, цервицит и поражение придатков.

Иммунитет преимущественно гуморальный. Образующиеся Ат не обладают протективными свойствами. Они не способны защитить слизистую от последующего заражения новыми генерациями гонококков, что связано с изменением их Аг структуры. Это может привести к реинфекции и рецидивам.

Лечение и профилактика

Антибиотики - бета-лактамы (пенициллины, цефалоспорины).

Лабораторная диагностика

- Используют бактериоскопическое исследование (по Граму, МФА).
- Применяется ПЦР.
- Выделение чистой культуры проводится редко. Гонококки культивируют на питательных средах, содержащих нативный белок (сыворотка крови, асцитическая жидкость). Лучше растут при содержании до 5% CO₂.

На асцит-агаре образуют прозрачные колонии с ровными краями. Из углеводов ферментируют только глюкозу, образуют каталазу и цитохромоксидазу - типичные для нейссерий ферменты.