

# РАНЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ

---

# Этиологическая структура

Род	Наиболее значимые виды
	<b>Аэробные бактерии</b>
<i>Staphylococcus</i>	<b>Коагулазопозитивные:</b> <i>S.aureus</i> , <i>S. intermedius</i> <b>Коагулазонегативные:</b> <i>S.epidermidis</i> , <i>S.saprophyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S.capitis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Str.pyogenes</i> , <i>Str. agalactiae</i> , <i>Str. faecalis</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> и др.	<i>E.coli</i> <i>S.typhimurium</i> <i>K.pneumoniae</i> <i>P.vulgaris</i> , <i>P.mirabilis</i>

# Этиологическая структура

Род	Наиболее значимые виды
	<b>Анаэробы</b>
<i>Clostridium</i>	<i>C.perfringens</i> , <i>C.novyi</i> , <i>C.septicum</i> , <i>C.histolyticum</i> <i>C.Difficile</i> <i>C.tetani</i>
<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Fusobacterium</i>	<i>B.fragilis</i> <i>P.melaninogenica</i> <i>P.gingivalis</i>
<i>Peptococcus</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	
<i>Veilonella</i>	

# Стафилококки



## Таксономическое положение

□ семейство *Staphylococcaceae*

□ род *Staphylococcus*

>35 видов

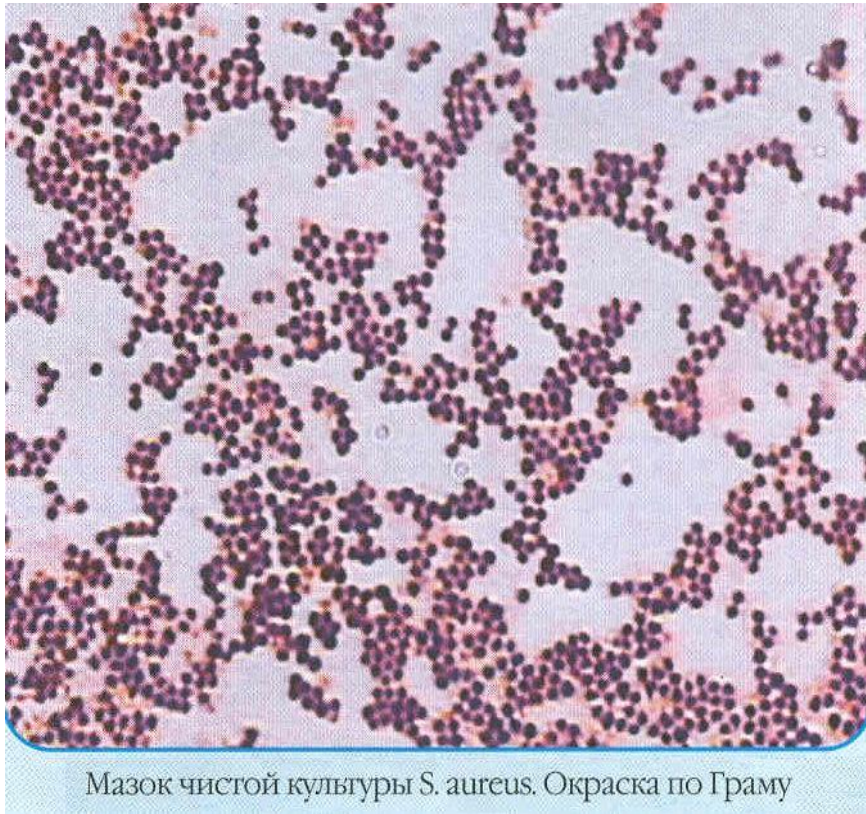
Коагулазапозитивные стафилококки:

*S.aureus, S. intermedius, S.hyicus*

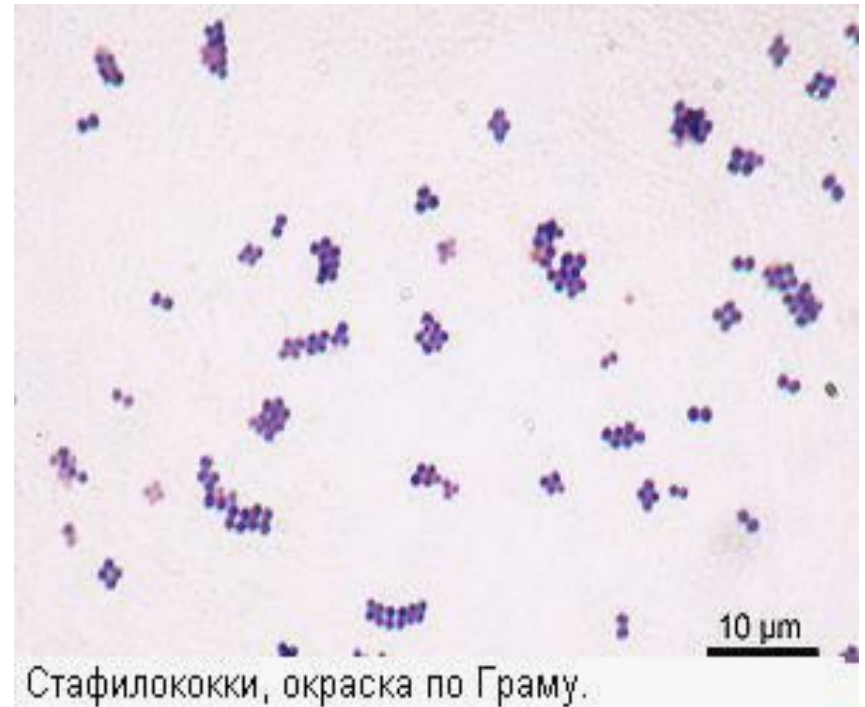
Коагулазонегативные стафилококки:

*S.epidermidis, S.saprophyticus, S. hominis, S.capitis*

# Стафилококки



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

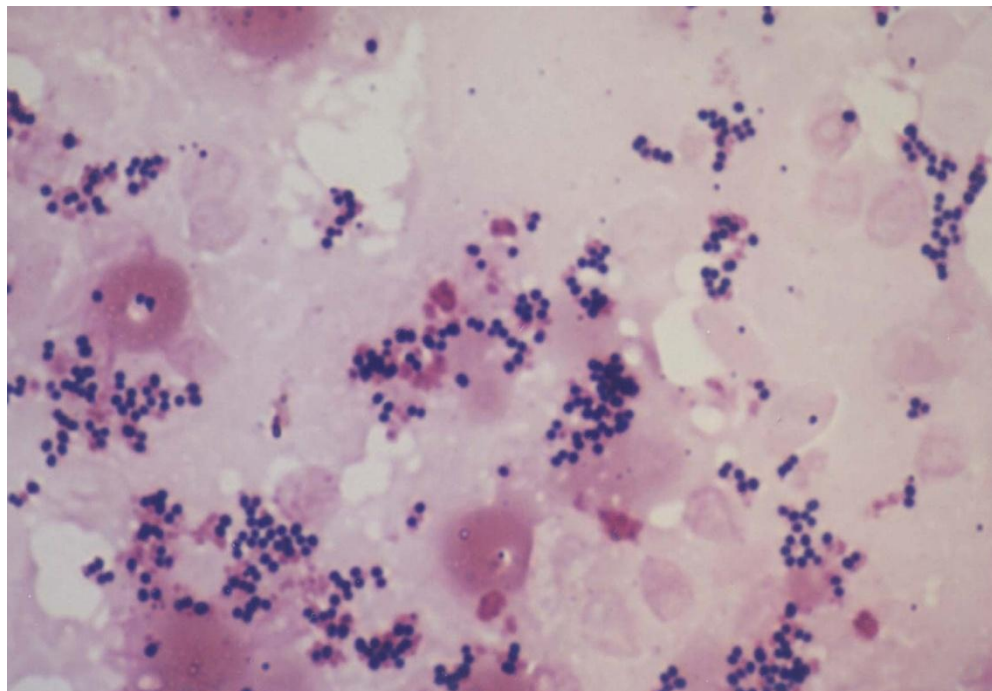


Стафилококки, окраска по Граму.

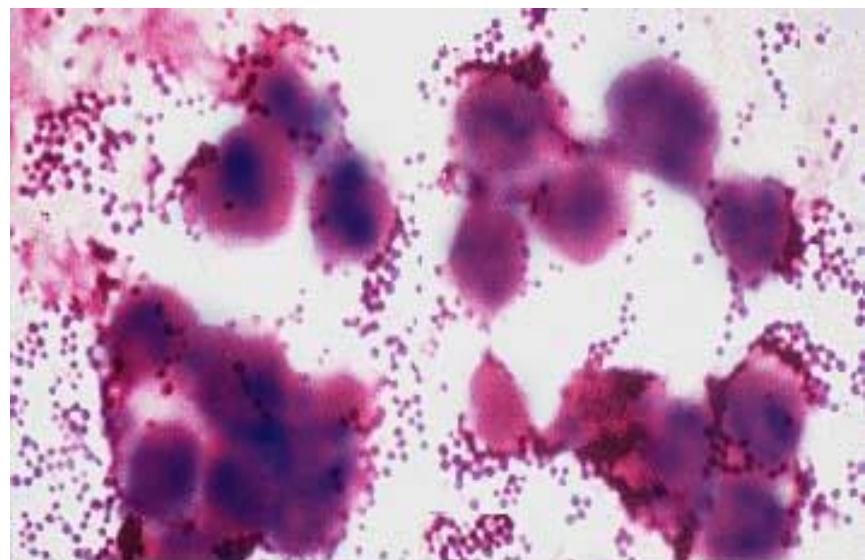
Грамположительные кокки, в мазке из чистой культуры располагаются в виде неправильных скоплений- «гроздь винограда»

# Стафилококки

1



2



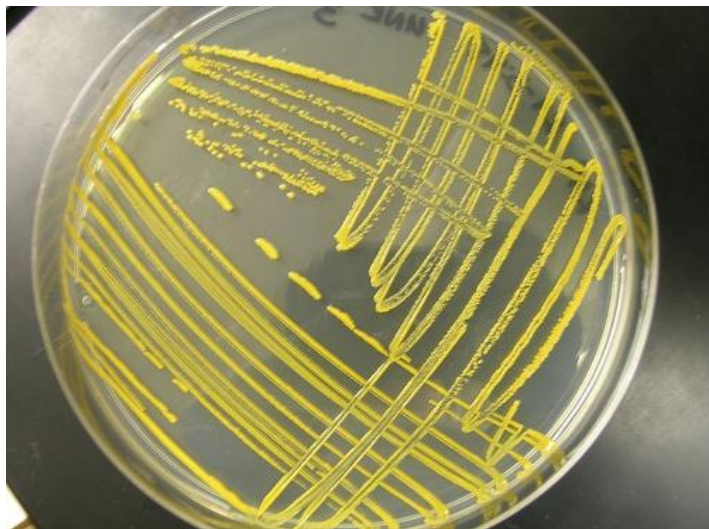
Стафилококки, мазок из гноя.

В мазке-отпечатке ткани(1),мазке из гноя (2)располагаются поодиночке, попарно, короткими цепочками

# Стафилококки

## Культуральные свойства

- Нетребовательны к питательным средам.
- Селективная среда – солевой и желточно-солевой агар (ЖСА)
- Факультативные анаэробы (каталаза+)



На МПА колонии имеют цвет от белого до желтого и ярко оранжевого

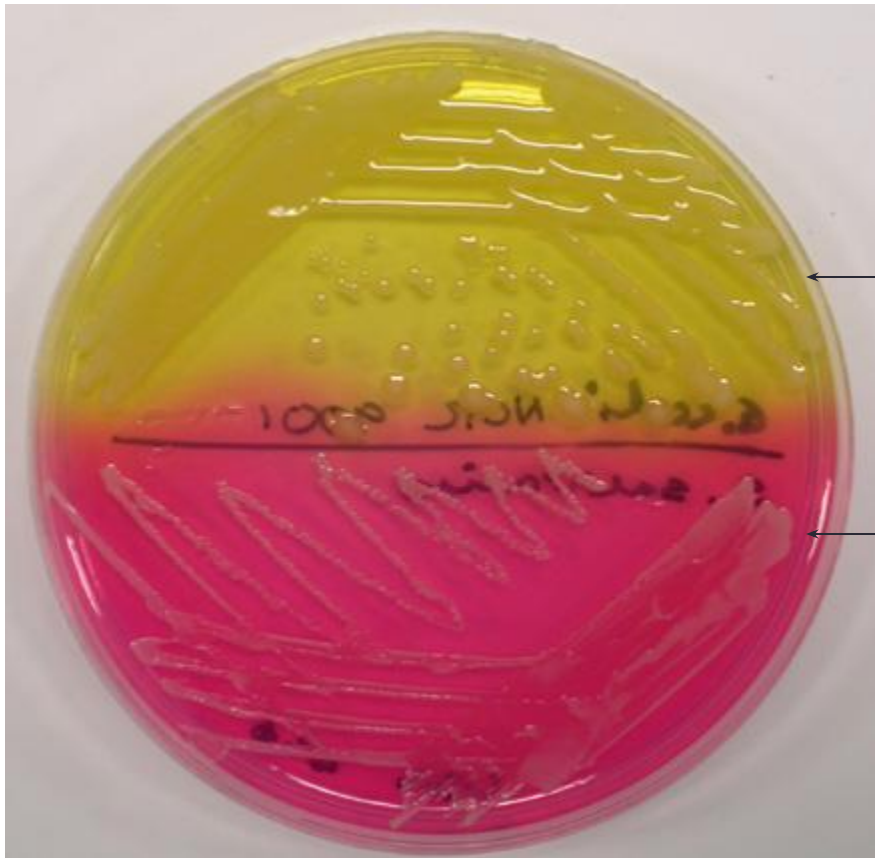


Лецитиназная активность стафилококков на ЖСА  
Вокруг роста культуры образуется «радужный венчик» с перламутровым оттенком.

# Маннит-солевой агар с феноловым красным (среда Чапмена) - селективная дифференциально-диагностическая для патогенных стафилококков



- - пептонный агар с солью, маннитом и индикатором (*Staphylococcus aureus* окисляет маннит)

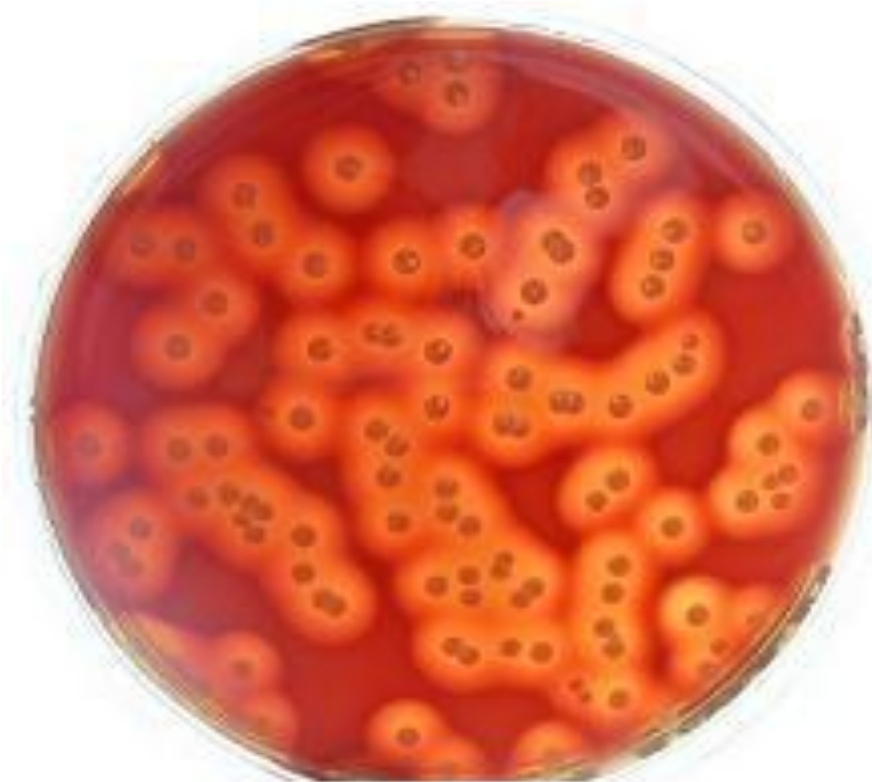


*Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus epidermidis*



# Стафилококки



Стафилококки, рост на кровяном агаре.

Вокруг колоний видны зоны  
полного гемолиза

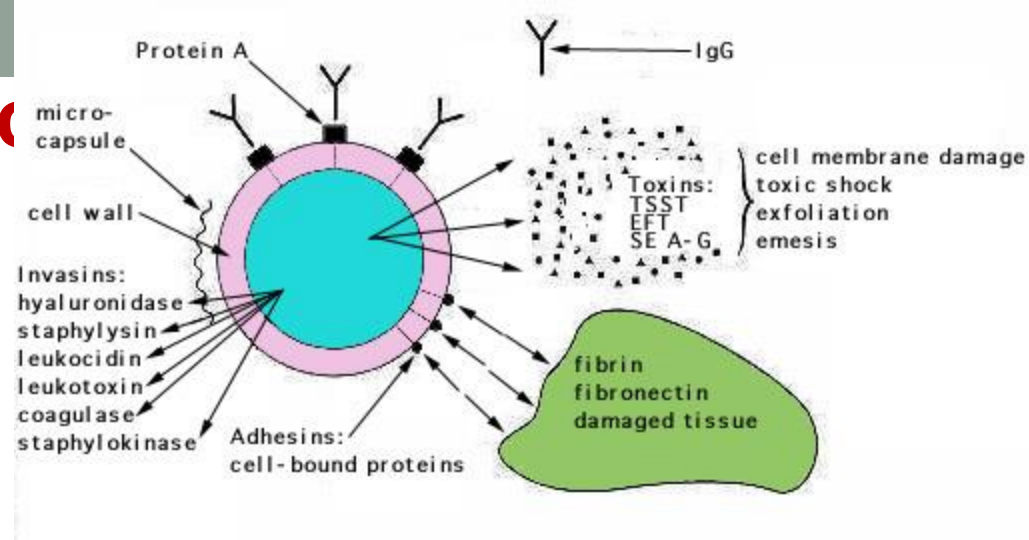


Рост негемолитических  
стафилококков на  
кровяном агаре.

# ***АНТИГЕНЫ***

- ❑ Антигенными свойствами обладают все компоненты клеточной стенки и экзотоксины.
- ❑ Антигенной классификации нет

# Факторы патогенности



## Факторы адгезии:

- белки-адгезины,
- капсула,
- тейхоевые и липотейхоевые кислоты
- нейраминидаза;

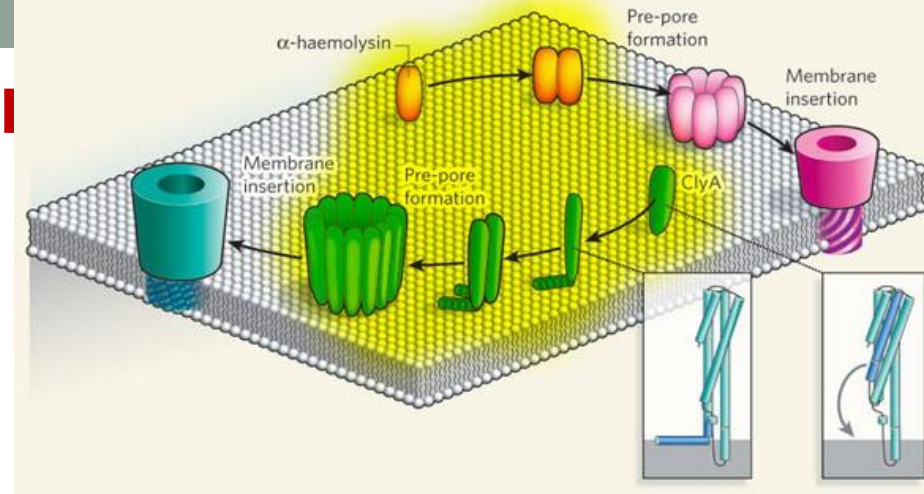
## Факторы инвазии:

- гиалуронидаза,
- протеазы,
- липазы (лецитиназа),
- ДНКаза,
- фибринолизин;

## Антифагоцитарные факторы:

- полисахаридная капсула;
- белок А, связывающий Fc-фрагменты иммуноглобулинов;
- пептидогликан активирует комплемент по классическому и альтернативному пути;
- **плазмокоагулаза** (нити фибрина образуют псевдокапсулу вокруг стафилококка);

# Факторы патогенности

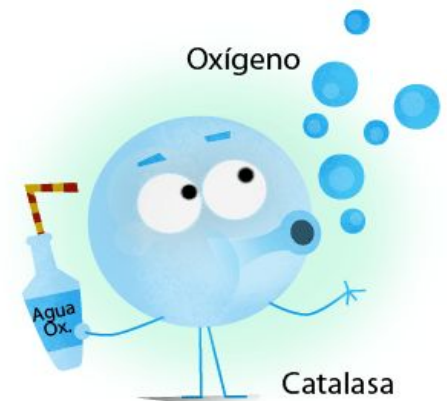


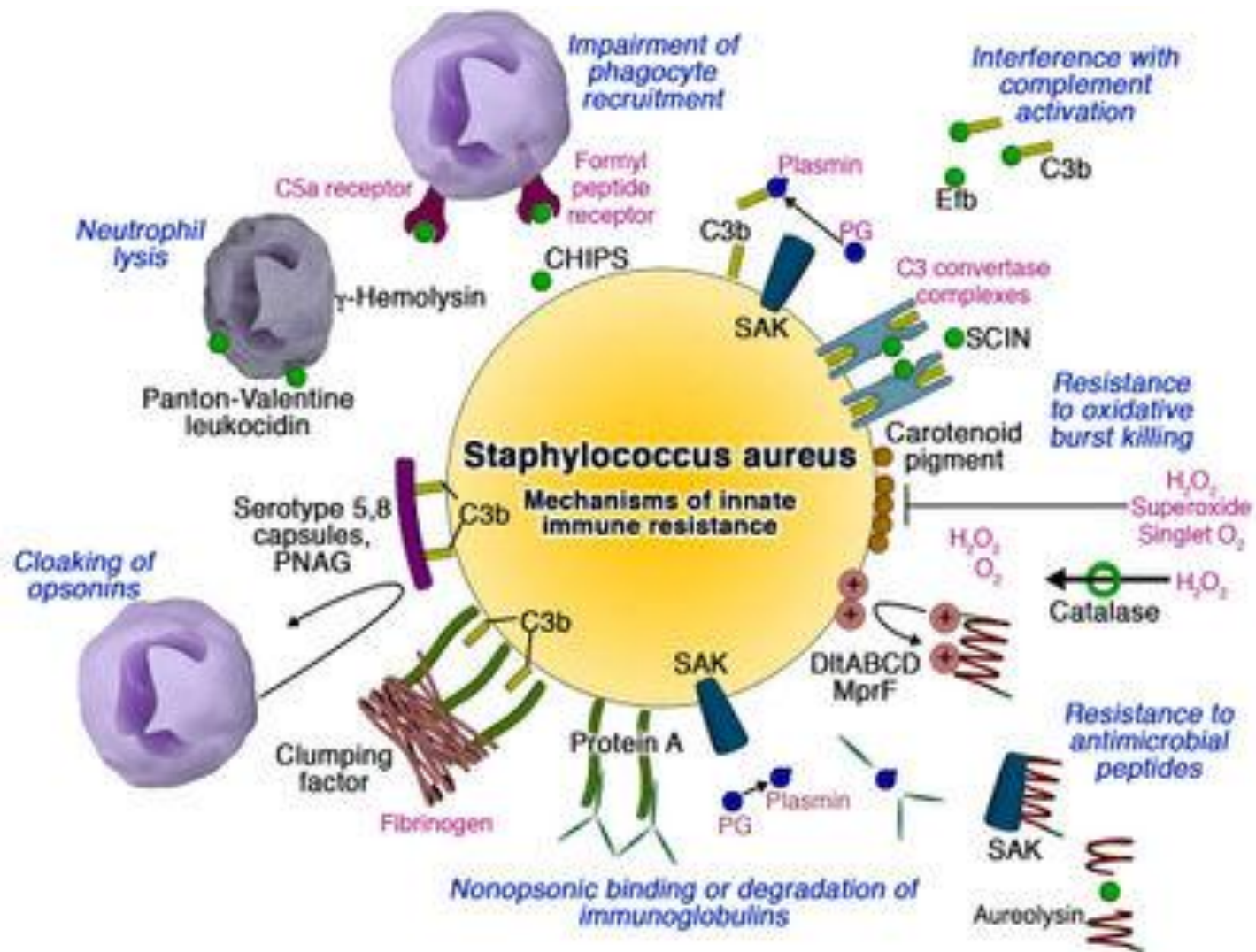
## □ Токсины:

- **Гемолизины альфа** (повышение проницаемости мембран, образование пор), бета, гамма, дельта (разрушение мембран)
- **Лейкоцидин** (избирательное действие на мембраны нейтрофилов)
- **Эксфолиативные** токсины А и В (разрушение эпидермиса)
- **Токсин синдрома токсического шока (СТШ)** – суперантиген (вызывает неспецифическую активацию и пролиферацию Т-лимфоцитов и гиперпродукцию ИЛ-2)
- **Энтеротоксин** - суперантиген

# Факторы патогенности

- ❑ ClpP (Caseinolytic protease P) - осуществляет процессивную неспецифичную деградацию белков и пептидов
  - Играет основную роль в колонизации слизистой носа, связываясь с кератином
- ❑ Фибронектин-связывающий фактор
- ❑ Коллаген-связывающий фактор
- ❑ Каталаза и каротиноидные пигменты препятствуют завершению фагоцитоза





## A potential new pathway for *Staphylococcus aureus* dissemination: the silent survival of *S. aureus* phagocytosed by human monocyte-derived macrophages.

- Although considered to be an extracellular pathogen, *Staphylococcus aureus* is able to invade a variety of mammalian, non-professional phagocytes and can also survive engulfment by professional phagocytes such as neutrophils and monocytes. In both of these cell types *S. aureus* promptly escapes from the endosomes/phagosomes and proliferates within the cytoplasm, which quickly leads to host cell death. In this report we show that *S. aureus* interacted with human monocyte-derived macrophages in a very different way to those of other mammalian cells. Upon phagocytosis by macrophages, *S. aureus* persisted intracellularly in vacuoles for 3-4 days before escaping into the cytoplasm and causing host cell lysis. Until the point of host cell lysis the infected macrophages showed no signs of apoptosis or necrosis and were functional. They were able to eliminate intracellular staphylococci if prestimulated with interferon-gamma at concentrations equivalent to human therapeutic doses. *S. aureus* survival was dependent on the alternative sigma factor B as well as the global regulator agr, but not SarA. Furthermore, isogenic mutants deficient in alpha-toxin, the metalloprotease aureolysin, protein A, and sortase A were efficiently killed by macrophages upon phagocytosis, although with different kinetics. In particular alpha-toxin was a key effector molecule that was essential for *S. aureus* intracellular survival in macrophages. Together, our data indicate that the ability of *S. aureus* to survive phagocytosis by macrophages is determined by multiple virulence factors in a way that differs considerably from its interactions with other cell types. *S. aureus* persists inside macrophages for several days without affecting the viability of these mobile cells which may serve as vehicles for the dissemination of infection.

• **В патогенезе стафилококковых инфекций** выделяют синдромы: токсический, инфекционно-септический, аллергический

• **Клинические проявления** - более 100 нозологических форм

### Местные инфекции

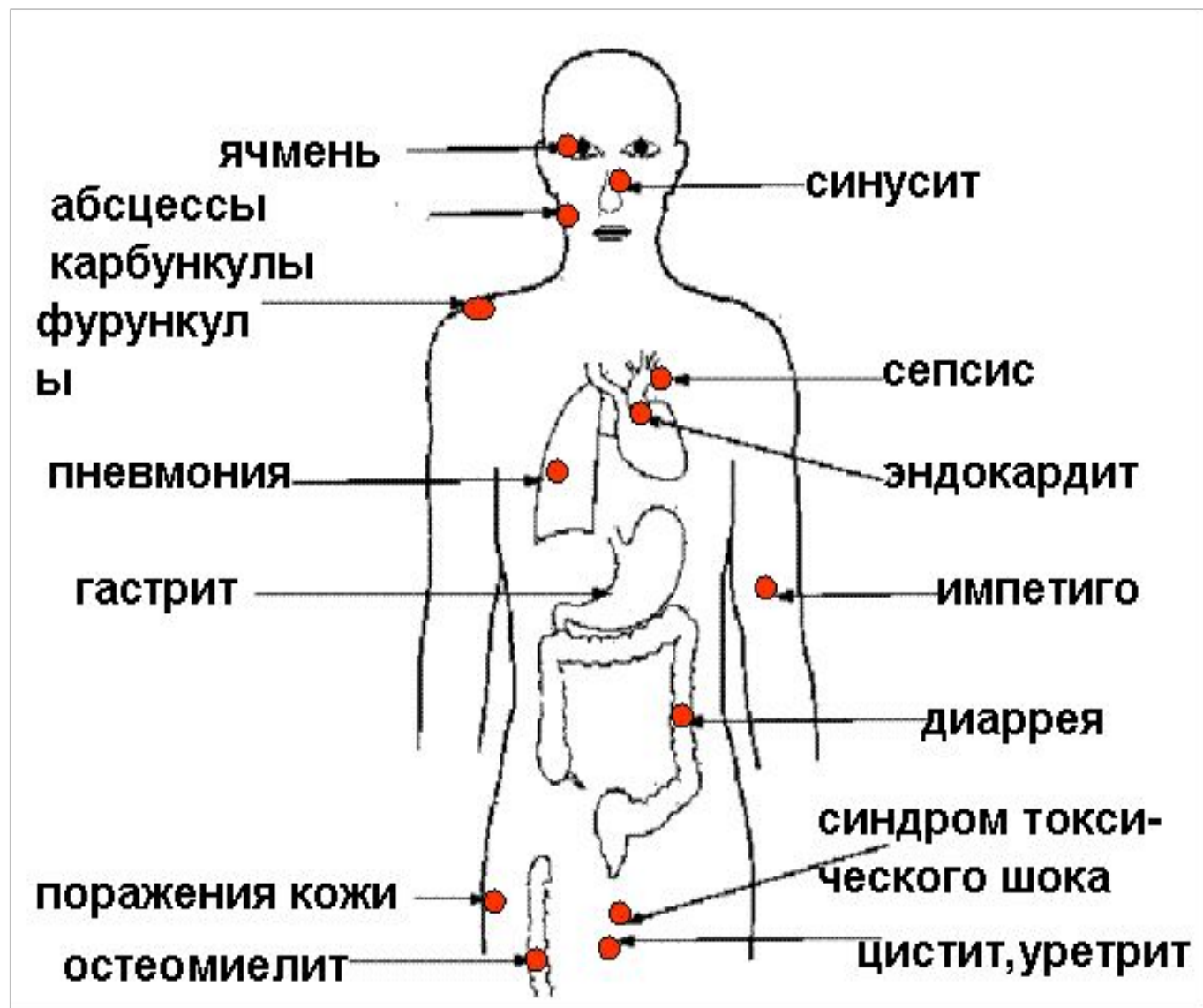
- ✓ фолликулит,
- ✓ фурункулы,
- ✓ карбункулы,
- ✓ пузырчатка новорожденных;
- ✓ тонзиллит,
- ✓ назофарингит;
- ✓ трахеит,
- ✓ бронхит

### Системные инфекции

- ✓ пневмония,
- ✓ абсцесс легкого;
- ✓ энтерит,
- ✓ колит,
- ✓ холецистит;
- ✓ менингит,
- ✓ абсцесс мозга;
- ✓ остеомиелит,
- ✓ артрит;
- ✓ мастит;
- ✓ пиелонефрит,
- ✓ цистит,
- ✓ уретрит,
- ✓ эндометрит;
- ✓ эндокардит,
- ✓ флебит,
- ✓ сепсис



# ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ S.aureus



## *Иммунитет:*

- гуморальный и клеточный;
- антимикробный и антитоксический
- не напряженный, возможны повторные стафилококковые инфекции

## *Эпидемиология*

Распространенность стафилококковых инфекций обусловлена тем, что стафилококки являются составной частью нормальной микрофлоры тела человека: кожа, верхние дыхательные пути, ушные раковины, кишечник.

# Коагулазонегативные стафилококки

- ❑ *S.epidermidis*, *S.saprophyticus* играют существенную роль в госпитальной патологии как возбудители сепсиса, эндокардита (после кардиохирургического вмешательства), перитонита (больные на длительном перитонеальном диализе), воспалительных заболеваний мочевыводящих путей
- ❑ *S.saprophyticus* по неизвестным причинам вызывает острое воспаление мочевыводящей системы у здоровых людей; у многих развивается пиелонефрит, обычно заканчивающийся самоизлечением

## *Staphylococcus aureus* (MRSA,

## *Метициллинрезистентные Staphylococcus aureus* (MRSA,

- ❑ Главная проблема лечения стафилококковых инфекций – высокая лекарственная устойчивость.
- ❑ В основе множественной лекарственной устойчивости - наличие дополнительных пенициллин-связывающих белков с альтернативной структурой и бета-лактамаз
- ❑ Известны пенициллиназа-резистентные антибиотики, такие как оксациллин, метициллин и др.
- ❑ Устойчивость к метициллину (оксациллину) является маркером на множественную лекарственную устойчивость.
- ❑ MRSA составляют основную проблему внутрибольничных инфекций
- ❑ В отношении MRSA эффективны:
  - ❑ Гликопептидный антибиотик – **ванкомицин, тейкопланин**
  - ❑ Оксазолидоновый антибиотик – **линезолид**

# Микробиологическая диагностика

1. **Бактериологический (культуральный) метод -**  
ОСНОВНОЙ;
2. **Серологические методы (диагностика при**  
**хронических или латентных формах инфекции-**  
**выявление антител):**
  - реакция латекс-агглютинации (латекс  
нагружен белком А или другими аг),
  - ИФА, РНГА (обнаружение антител к  
тейхоевым кислотам),
  - реакции нейтрализации токсина

# Бактериологический метод

**Материал:** гной, кровь, мокрота и др.

**1 этап:** посев на ЖСА и кровяной агар

**2 этап:** изучение культуральных и морфологических свойств; отсеб типичных колоний на свежий агар

**3 этап:** *Идентификация* выделенной чистой культуры по совокупности свойств: морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, антигенных, токсигенных, чувствительности к антибиотика и бактериофагам.

# СХЕМА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ СТАФИЛОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Дни исследования

Исследуемые материалы

1-й день

Микроскопия  
мазка, окрашенного  
по Граму

Посев на чашку  
с соевым и кровяным  
МПА

Посев на МПБ с 7,5%  
NaCl (для крови)  
из расчета 1:10

2-й день

Микроскопический  
отбор колоний  
по пигменту и гемолизу

Микроскопический  
отбор колоний  
с окраской по Граму

Отсев на 1% сахарный  
МПА для выделения  
чистой культуры

3-й день

Макро- и микроскопический контроль  
чистоты выделенной  
культуры.

Определение  
основных тестов  
патогенности: плаз-  
мокоагулазы,  
гемотоксина,  
некротоксина

Определение  
чувствительности  
к антибиотикам  
и поливалентному  
бактериофагу

Фаготипирование  
стафилококков  
по эпидпоказателям

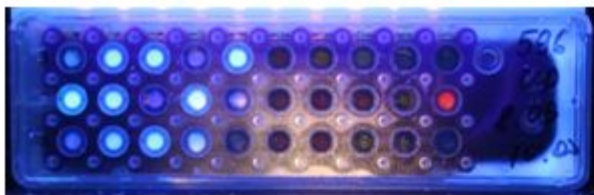
Определение тестов вирулентности: гиалуронидазы, фибринокиназы, лецитиназы; проверка рецирующей способности на среде Чепмена; определение ферментации маннита, лактозы; выяснение «слид-теста».

4-й день

Учет результатов и заключение.

# Бактериологический метод

## А. Биохимическая идентификация на системах api 20STARH





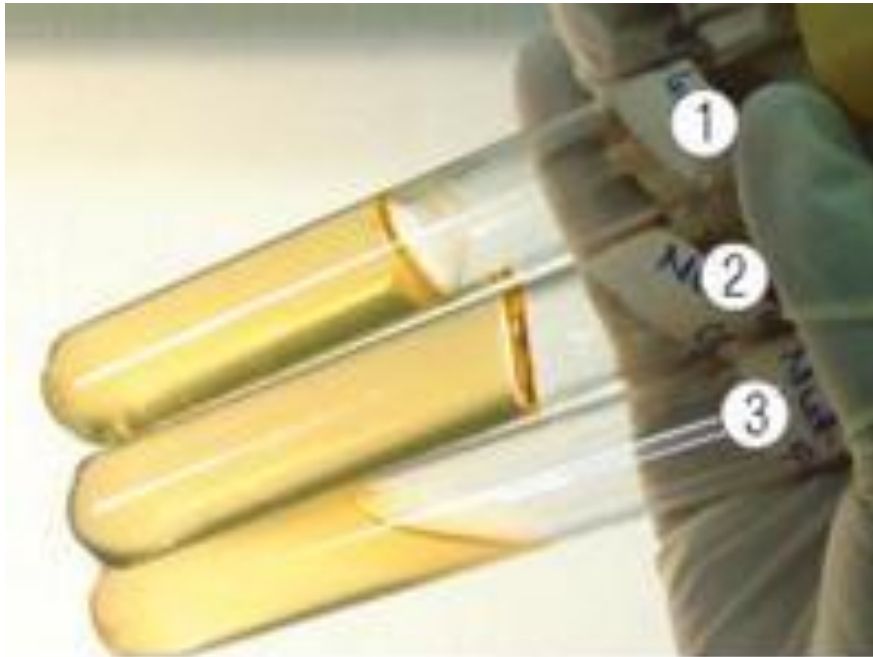
# А. Биохимическая идентификация



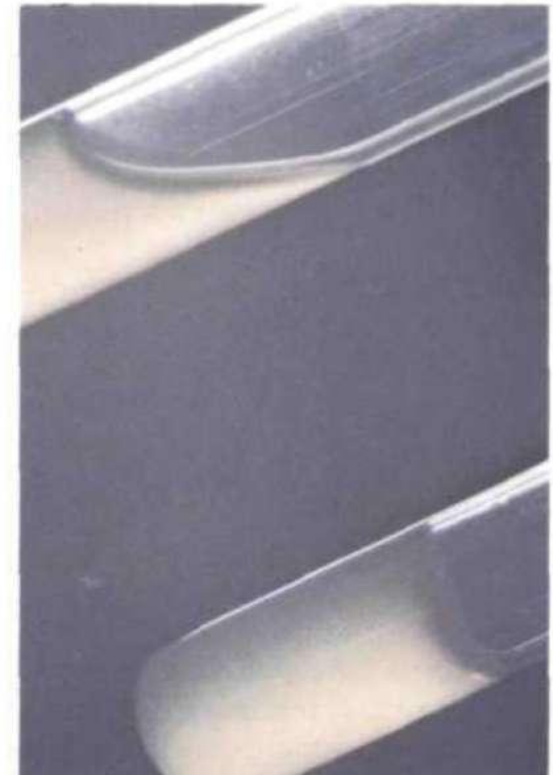
- Тест-системы Vitek



## Б. Определение плазмокоагулазы



Определение плазмокоагулазы.



При выделении плазмокоагулазы стафилококками в пробирке образуется сгусток кроличьей плазмы.

# В. Фаготипирование стафилококков

## Определение каталазы



Phage type  
52-52a-80

	90		92	
29	52	52a	79	80
3a	3c	55	71	187
6	42e	47	53	54
75	77	83a	84	85
95	96	88	81	42d



При добавлении перекиси водорода видно образование пузырьков  
Тест позволяет дифференцировать стафилококки (каталазопозитивные) и стрептококки (каталазонегативные)

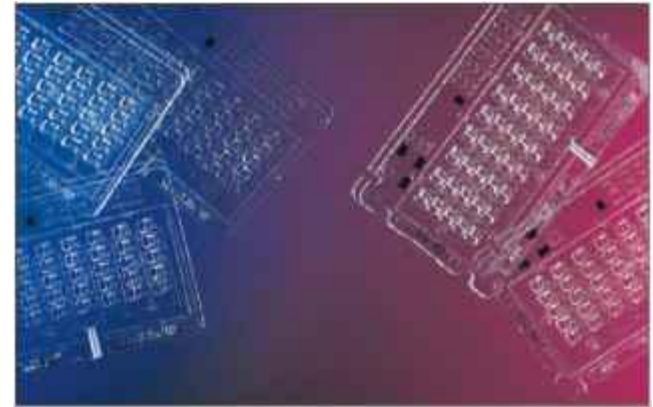
- Видны зоны лизиса культуры стафилококков диагностическими типовыми бактериофагами.
- Фаготип 52/52a/80

# Стафилококки. Определение чувствительности к антибиотикам



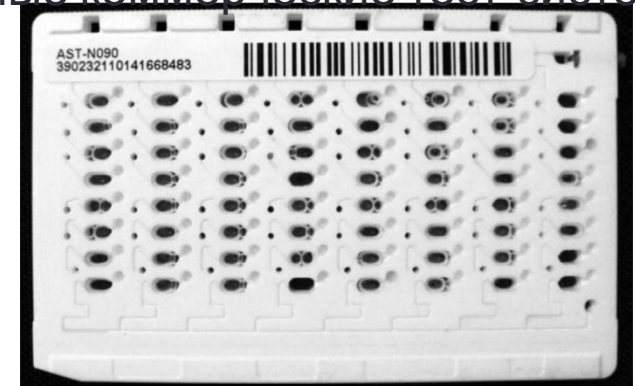
## Метод бумажных ДИСКОВ.

Вокруг дисков с антибиотиками видны зоны задержки роста бактериальной культуры.



## Панели с несколькими антибиотиками

Разные коммерческие тест-системы



# Gram Positive Tests: MRSA



Phenol Red Mannitol Slant



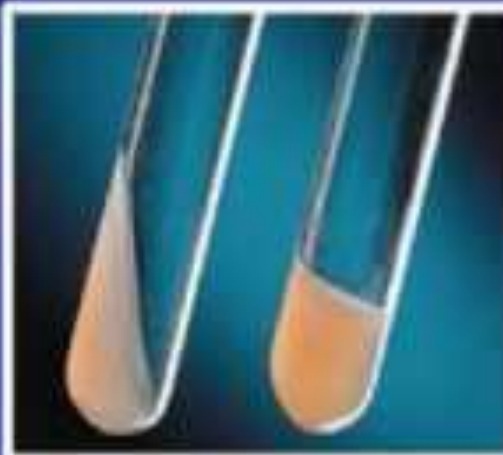
Catalase Test



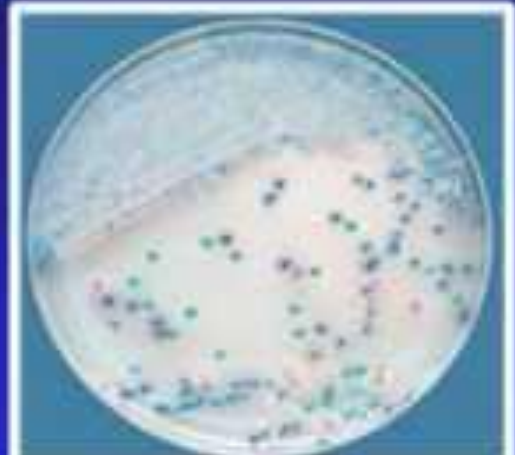
Blood Agar



Mannitol Salt Agar Test



Coagulase Test



CHROMagar

MRSA, methicillin resistant *Staphylococcus aureus*

# Экспресс- диагностика

- Латекс-агглютинация:
- Латекс нагружен моноклональными антителами к белку А, фибронектинсвязывающему фактору, капсульным полисахаридам



# Идентификация MRSA



- Штаммы MRSA обладают особым пенициллинсвязывающим белком (ПСБ2а), который кодируется хромосомным геном *mecA* и характеризуется крайне низкой аффинностью ко всем бета-лактамным антибиотикам.
- Идентификация метициллинрезистентности возможна путем определения продукции ПСБ-2' методом латекс-агглютинации

## К молекулярно-генетическим методам

Хромосома *S.aureus* составлена из двух категорий ДНК:

- хромосомного "ядра", полученного от бактерии-предшественницы, тесно связанной с представителями рода *Bacillus*,
- "геномных островов", полученных от других бактерий в результате горизонтального переноса

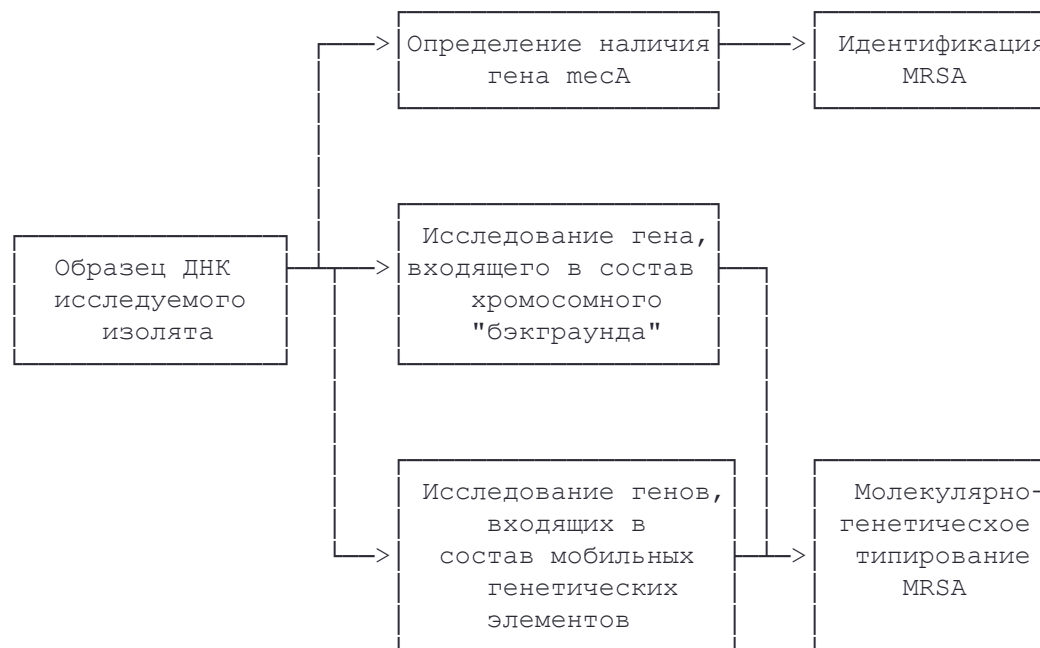
В связи с этим схема типирования MRSA, основанная на использовании метода ПЦР, включает исследование:

- - структурного полиморфизма гена, входящего в состав хромосомного "ядра";
- - генов и генных комплексов, находящихся на мобильных генетических элементах в составе хромосомы *S.aureus*.
- отдельные штаммы MRSA.



# К молекулярно-генетическим методам

- Среди генов хромосомного "ядра", обладающих выраженным структурным полиморфизмом, в методику анализа включен ген, детерминирующий синтез коагулазы.
- Среди генов, расположенных на мобильных генетических элементах, принципиально важным для дифференциации штаммов MRSA является исследование генных комплексов, входящих в состав стафилококковых хромосомных каскет *tes*, а также определение генов, детерминирующих синтез энтеротоксинов А, В, С и токсина синдрома токсического шока.



# Молекулярно-генетические методы

Молекулярно-генетический метод исследования включает выделение ДНК *Staphylococcus aureus*, определение наличия генов *mecA*, *mecC*, структурных компонентов стафилококковых хромосомных каскад *mec* (SCC*mec*),

исследование отдельных факторов патогенности: определение наличия генов энтеротоксинов А, В, С, белка токсического шока (*tst*), лейкоцидина Пантона – Валентайна методом ПЦР.

Проводят **секвенирование** варибельной части гена *sra*, кодирующего синтез протеина А и/или внутренних фрагментов 7 генов общего метаболизма в том числе: карбаматкиназы (*arcC*), шикоматдегидрогеназы (*aroE*), глицеролкиназы (*glpF*), гуанилаткиназы (*gmk*), фосфатацетилтрансферазы (*pta*), триозофосфатизомеразы (*tpi*) и ацетилкоензим А ацетилтрансферазы (*yqil*).

# Принципы лечения стафилококковых инфекций

1. Антибиотики: естественно чувствительны к пенициллинам, цефалоспорином, макролидам, фторхинолонам; защищенные пенициллины и цефалоспорины применяются для лечения штаммов-продуцентов бета-лактамазы; MRSA- ванкомицин

Для устранения колонизации слизистой носа и лечения кожных инфекций - мупироцин

2. Стафилококковый бактериофаг (при локализованных формах), пиобактериофаг



# Принципы лечения стафилококковых инфекций

3. Стафилококковый анатоксин (при лечении хронических форм инфекции);
4. Гипериммунная стафилококковая плазма, сыворотка (лечение токсинемии);
5. Антистафилококковый иммуноглобулин донорский (антитела к альфа-гемолизину)
6. Стафилококковая вакцина (лечение хронических форм инфекции).

