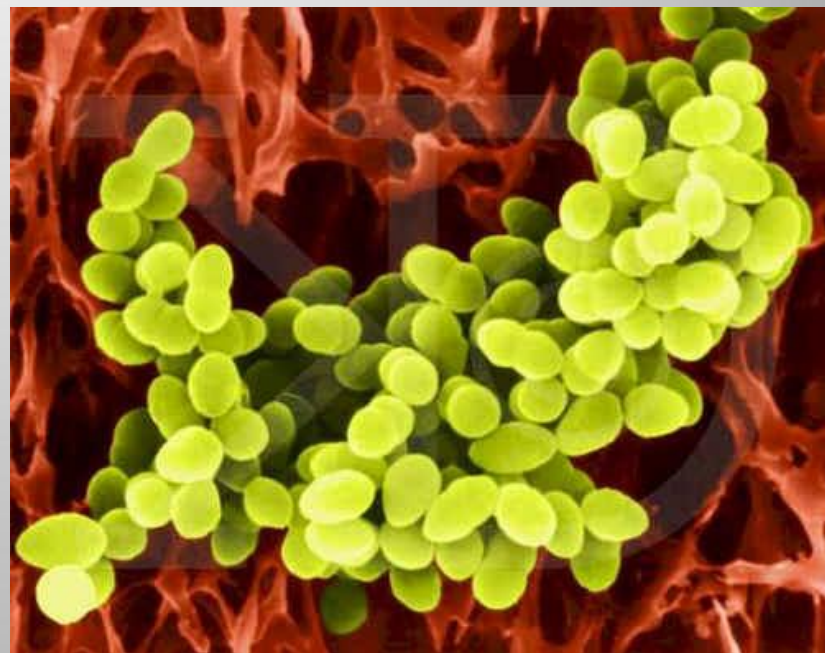
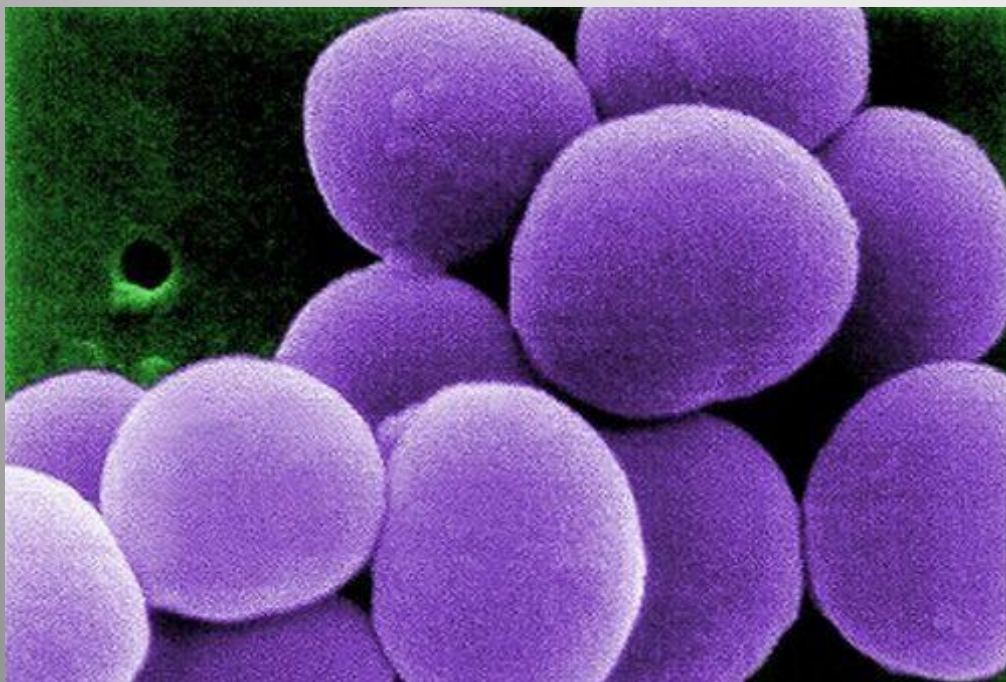


Стафилококки и стрептококки

Стафилококки

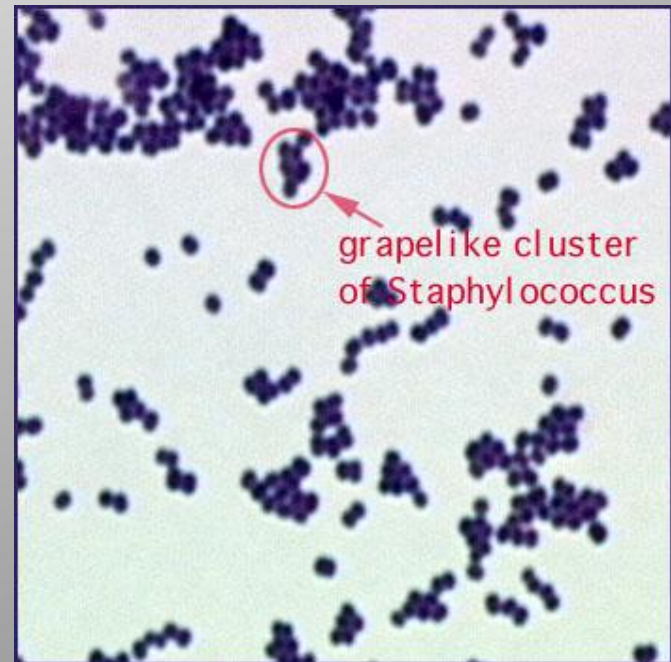
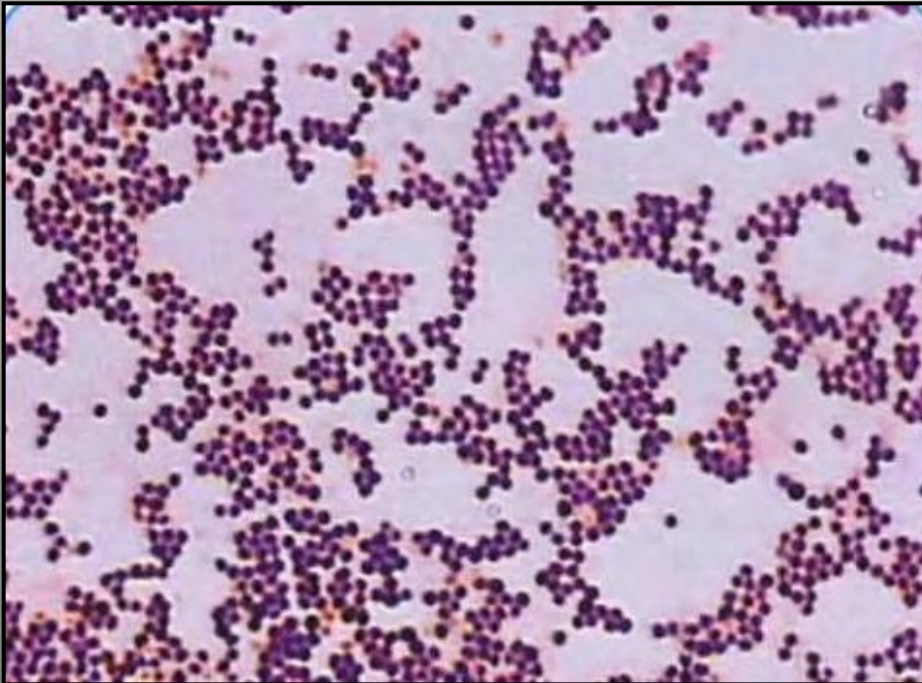


Классификация стафилококков

- 17 группа по Берджи – грам-положительные кокки
- семейство Micrococaceae
- род *Staphylococcus*
- ВИДЫ:
 - *S. aureus*
 - *S. epidermidis*
 - *S. saprophyticus*

Морфологические и тинкториальные свойства

- от лат. **Staphylos** (виноградная гроздь) + **coccus** (шар)
- Грамположительные
- Образуют микрокапсулу (только в организме человека)
- Неподвижны
- Спор не образуют



Культуральные свойства

- неприхотливы, могут расти на простых средах
- устойчивы к повышенному содержанию **хлорида натрия** и хорошо растут на средах с содержанием **5 - 15% NaCl**
- **среды:**
 - солевой, сахарный бульон
 - молочно-солевой агар (МСА)
 - желточно-солевой агар (ЖСА) (Чистовича)
 - кровяной агар
- образуют непрозрачные, круглые, ровные колонии белого, жёлтого или золотистого цвета (**образуют липохромные пигменты**)
- на жидких средах – диффузный рост

Биохимические свойства

- **каталазоположительны** (отличие от стрептококков)
- по наличию **плазмокоагулазы** все стафилококки разделяют на две группы:
 1. **коагулазо-положительные**: *S. aureus*
 2. **коагулазо-отрицательные**: *S. epidermidis* и *S. saprophyticus*
- ферментируют многие углеводы с образованием кислоты
- ***S. aureus* расщепляет маннит в анаэробных условиях**
- восстанавливают нитраты в нитриты
- образуют H_2S
- разлагают мочевину
- образуют **лецитиназу**

Заболелвания, вызываемые стафилококками (более 100)

гноино-воспалительные заболелвания кожи и подкожной жировой клетчатки

раневые инфекции

эндокардит

пневмония

артриты

остеомиелиты

перитонит

глазные инфекции

инфекции мочевыводящей системы

сепсис

синдром «ошпаренной кожи», пузырьчатка новорождённых

синдром токсического шока

пищевые токсикоинфекции

S. aureus

Эпидемиология

- **Источник инфекции**
 - человек (больной, носитель, может быть аутоинфекция)
- **Пути передачи :**
 - воздушно-капельный, воздушно-пылевой
 - контактный
 - алиментарный
- **Восприимчивый коллектив**
 - любой человек

Факторы вирулентности	Эффект
<p><i>СТРУКТУРЫ:</i></p> <p>Капсула Белок А Пептидогликан Тейхоевые кислоты</p>	<p>Подавление взаимодействия с фагоцитами Взаимодействие с Fc-фрагментом антител Стимуляция продукции эндогенных пирогенов (эндотоксиноподобное действие), хемоаттрактант лейкоцитов (формирование абсцессов) Регулируют концентрации катионов на клеточной мембране, связывают фибронектин</p>
<p><i>ТОКСИНЫ:</i></p> <p>Мембранотоксины, или гемолизины (альфа-, бета-, гамма-, дельта-токсины), лейкоцидин Эксфолиативный токсин Токсин синдрома токсического шока Энтеротоксины (А — Е)</p>	<p>Токсичны для многих клеток, включая лейкоциты, эритроциты, макрофаги и фибробласты. Альфа-токсин — пример порообразующего токсина. Вызывает синдром «ошпаренной кожи», разрушая межклеточные контакты — десмосомы в гранулярном слое эпидермиса. Суперантиген (поликлональная активация Т-лимфоцитов, стимуляция продукции цитокинов) Нейротропные, вазотропные эффекты. Суперантиген. Нейротропные эффекты, действие на энтероциты (стафилококковая пищевая интоксикация). Суперантиген</p>
<p><i>ФЕРМЕНТЫ:</i></p> <p>Плазмокоагулаза (коагулаза) Гиалуронидаза Липазы, лецитовителлаза Стафилокиназа (фибринолизин) Дезоксирибонуклеаза</p>	<p>Конверсия фибриногена в фибрин, препятствующего контакту с фагоцитами («псевдокапсула») Разрушение соединительной ткани Гидролиз липидов Разрушение фибриновых сгустков Расщепление ДНК, разжижение гноя</p>
<p><i>ДРУГИЕ КОМПОНЕНТЫ:</i></p> <p>Каратиноидные пигменты Устойчивость к NaCl, жирным кислотам</p>	<p>Инактивация бактерицидных форм кислорода Размножение в потовых и солевых железах</p>

Факторы патогенности стафилококков

- факторы адгезии и колонизации:
 - микрокапсула
 - тейхоевые кислоты
 - белок А
- ферменты патогенности:
 - гиалуронидаза (обуславливает высокую инвазивность)
 - плазмокоагулаза (переводит протромбин в тромбин, который вызывает свертывание фибриногена, в результате чего каждая клетка покрывается белковой пленкой, защищающей от фагоцитов)
 - фибринолизин
 - лецитиназа (лецитовителлаза)
 - ДНКаза и др.
- агрессины:
 - микрокапсула
 - тейхоевые кислоты
 - белок А: связывается с Fc-участком антител, а значит молекулы IgG связываются с поверхностью бактериальных

Токсины стафилококков

- Мембранотоксины (порообразующие):

α-токсин

действует на эритроциты, эндотелиоциты, полиморфноядерные лейкоциты, фибробласты, гепатоциты. При введении лабораторным животным вызывает кожные некротические реакции, после внутривенного введения - животное погибает через 3 – 5 минут;

β-токсин (сфингомиелиназа)

проявляет выраженные свойства холодого гемолизина (его активность максимальна при низкой температуре);

γ-токсин

двухкомпонентный гемолизин с умеренной активностью в отношении эритроцитов человека;

δ-токсин

гемолизин

Токсины стафилококков

- **Токсин синдрома токсического шока (TSST-1)**
 - действует за счёт стимулирования выделения ФНО α .
Обладает вазотропным и нейротропным действием.
- **Лейкоцидин**
 - избирательно разрушает лейкоциты (нейтрофилы)
- **Энтеротоксины А, В, С, D, Е**
 - термостабильные низкомолекулярные белки, ответственные за развитие пищевых отравлений; механизм действия до конца не изучен.
- **Эксфолиатины А и В**
 - вызывают разрушение десмосом зернистого слоя эпидермиса и отслойку рогового слоя эпидермиса

Синдром “ошпаренной кожи”

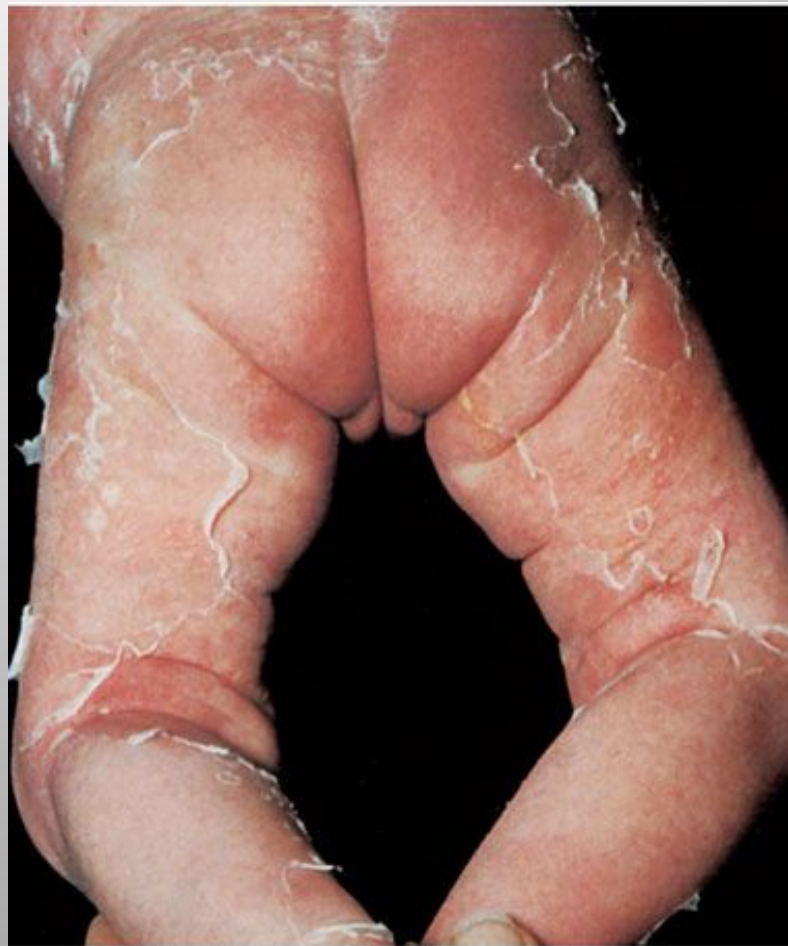


Рис. 3. Синдром стафилококковой ожоженной кожи

Пузырчатка новорождённых



Фолликулит



Фурункул



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Исследуемый материал

— определяется очагом поражения (гной, кровь, мокрота, смыв со слизистых, моча, фекалии и т. д.).

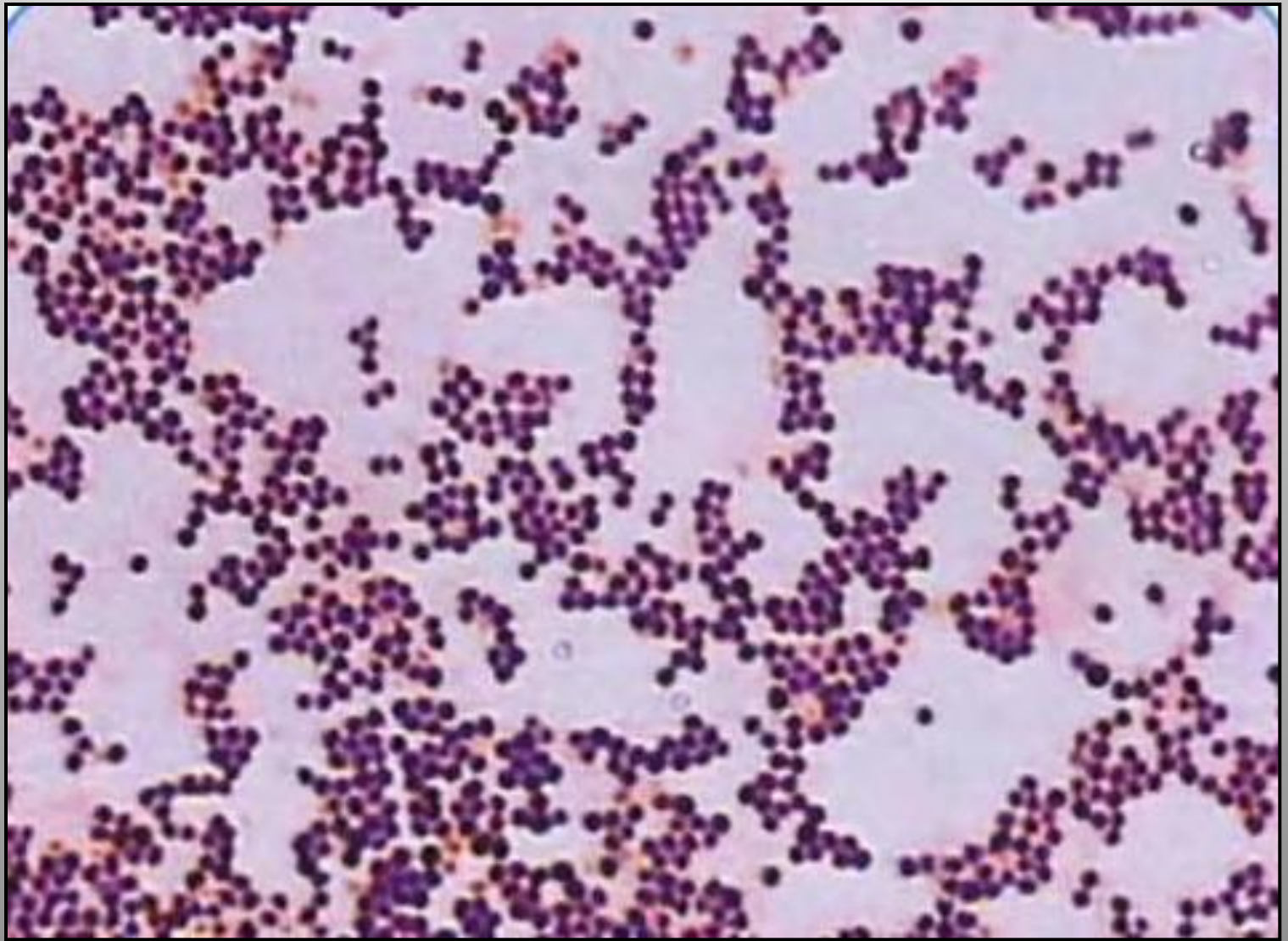
Методы диагностики:

Микроскопический метод

ориентировочный.

Наибольшую диагностическую ценность имеет при микроскопии материала из изначально стерильных полостей.

Видны граположительные кокки скоплениями в виде виноградных гроздей.



Бактериологический метод — основной

Материал засевают на:

— молочно-солевой агар (МСА)

- МПА
- 6,5% натрия хлорида
- 10% обезжиренного стерильного молока

При росте на МСА оценивают **пигментообразование**

— желточно-солевой агар (ЖСА) (Чистовича)

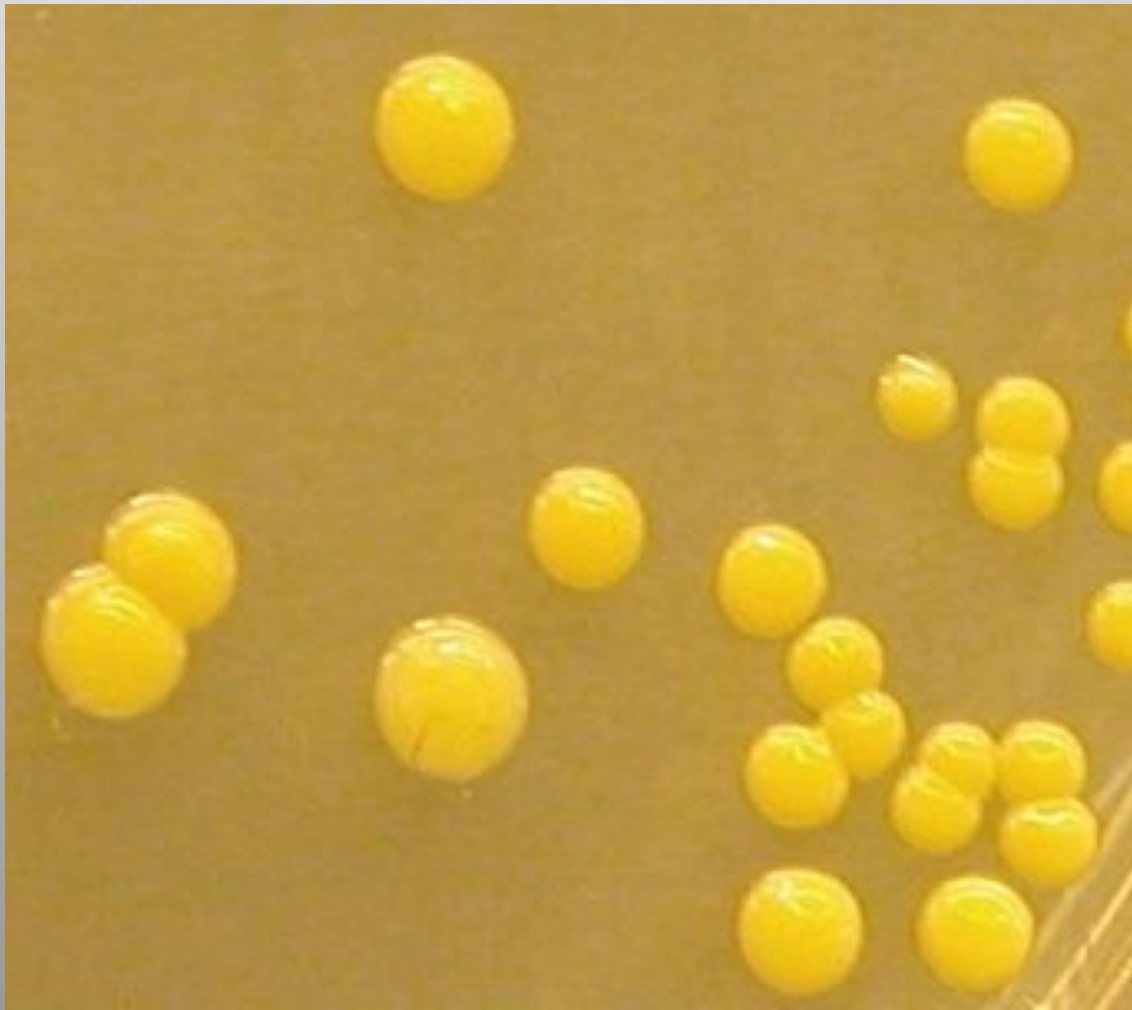
- МПА
- 10% натрия хлорида
- 15 - 20% желточной эмульсии (яичный желток взбивают в 150 - 200 мл стерильного физ. раствора).

При росте на ЖСА оценивают наличие **радужного венчика вокруг колоний** за счет фермента лецитовителлазы

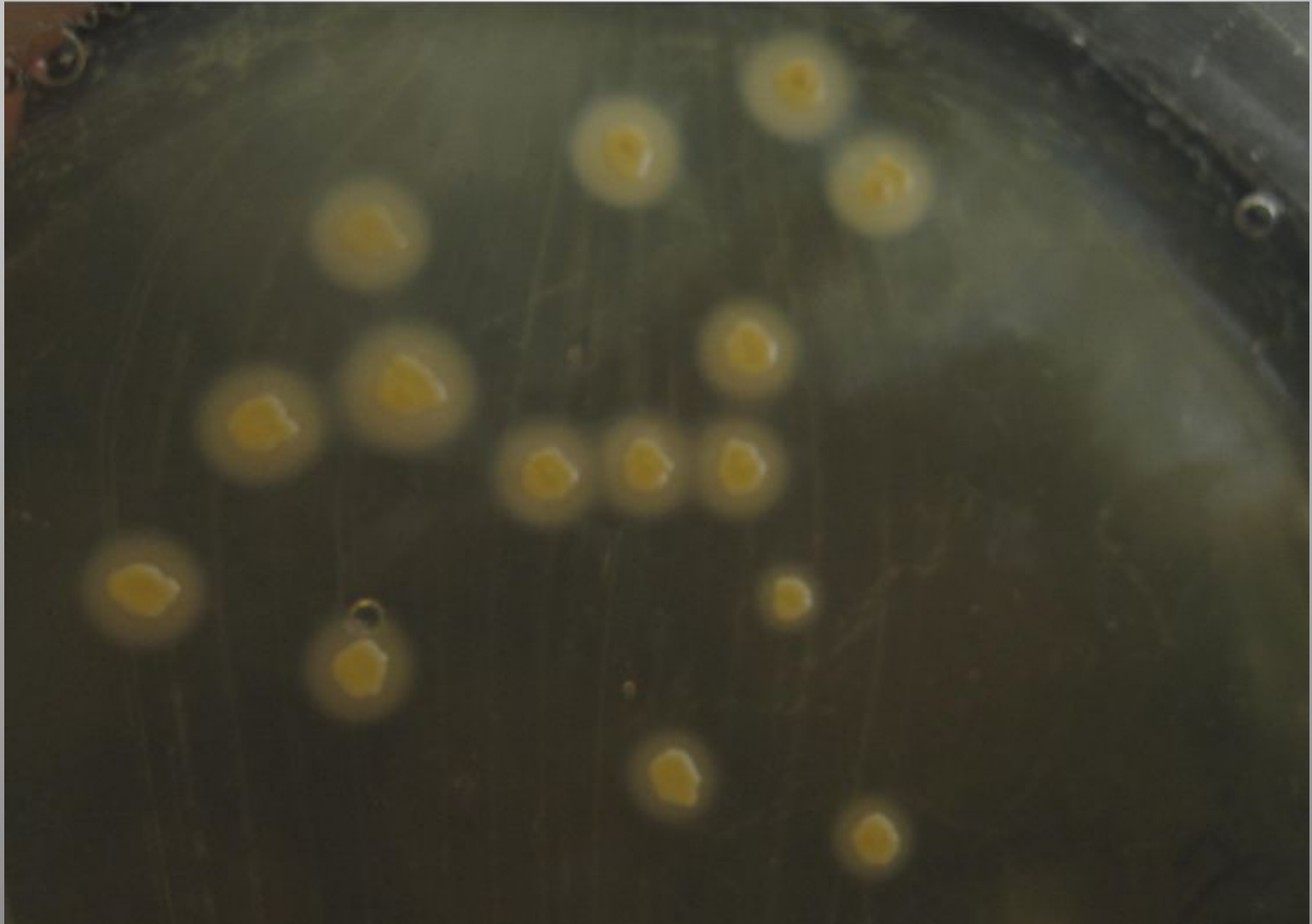
— кровяной агар (КА)

При росте на кровяном агаре оценивают зону прозрачного гемолиза вокруг колоний

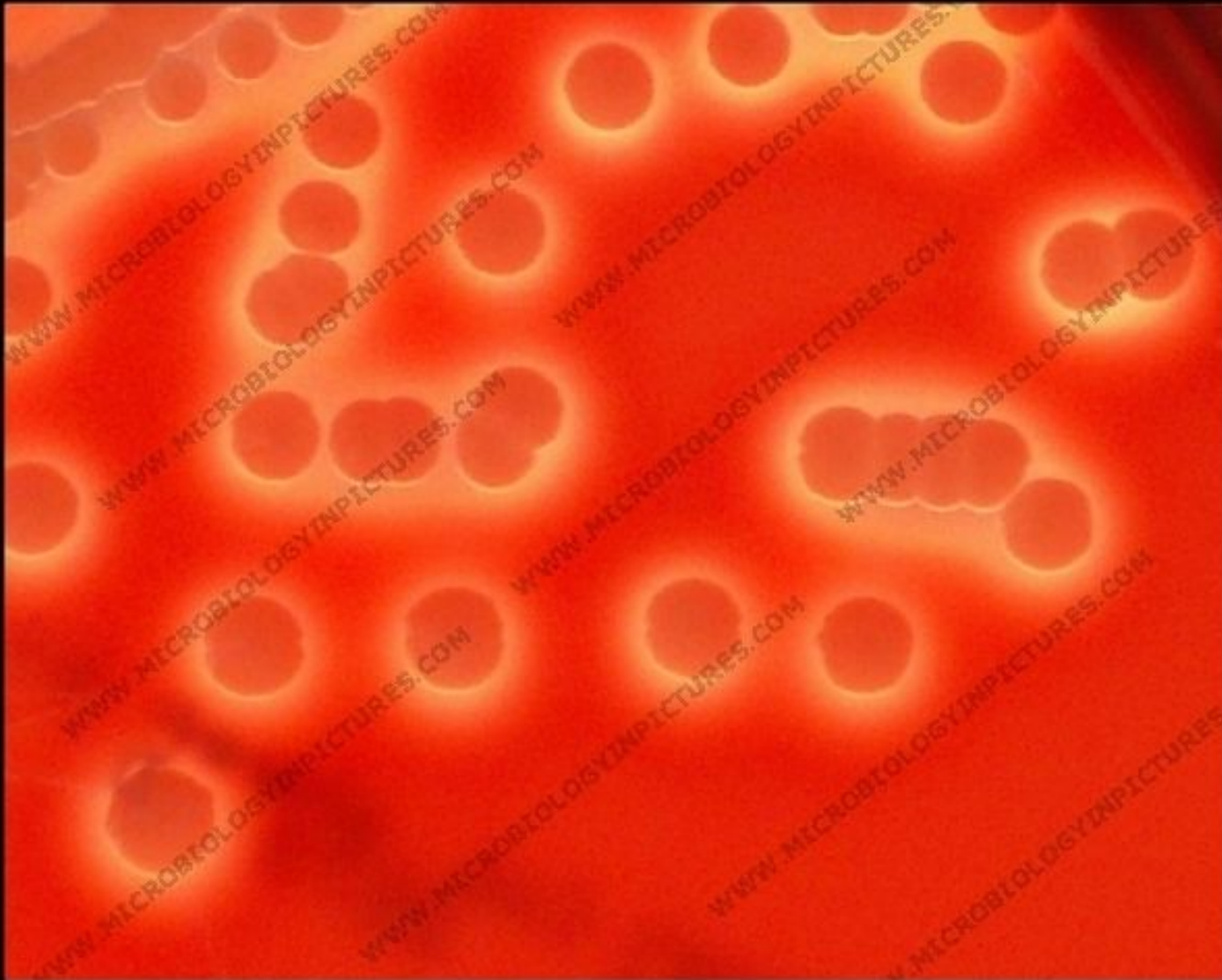
Колонии стафилококков на МСА



Колонии стафилококков на ЖСА



Колонии стафилококков на КА



Staphylococcus aureus

- **Идентификация чистой культуры:**

1) установление принадлежности выделенной культуры к семейству **Micrococaceae** и роду **Staphylococcus** - **тест на каталазу**.

Каталаза – это фермент, который расщепляет перекись водорода на воду и кислород:



При этом при добавлении H_2O_2 образуются **пузырьки** кислорода, что указывает на наличие каталазной активности.

2) Установление принадлежности чистой культуры к **S. aureus** требует постановки 2 тестов:

– **тест на плазмокоагулазу**

культуру стафилококка вносят в пробирку с 0,5 мл плазмы крови кролика, помещают в термостат при 37°C, через 3 часа пробирку вынимают, оставляют при комнатной температуре на 18 - 20 часов.

Реакция считается положительной независимо от степени свертывания плазмы - от небольшого сгустка, взвешенного в плазме, до полного неподвижного сгустка.

- **ферментация маннита в анаэробных условиях**

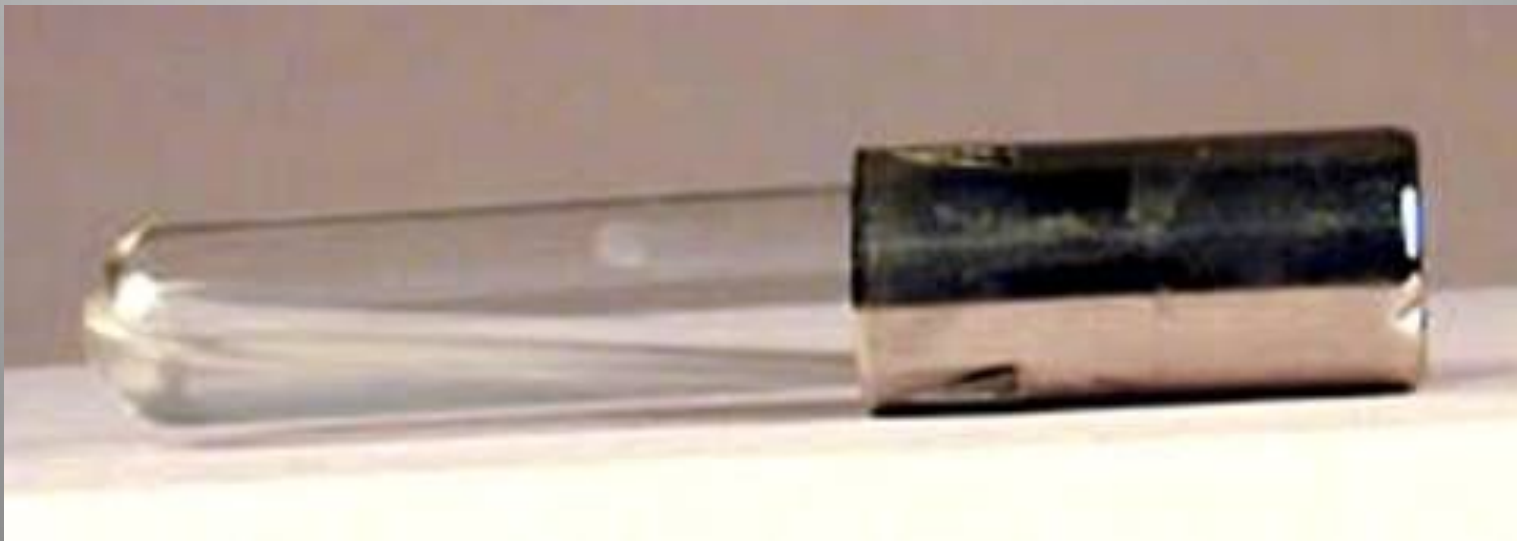
используют полужидкую среду Гисса с индикатором ВР, содержащую маннит. После посева заливают вазелиновым маслом.

В случае разложения маннита среда приобретает **синий цвет** по всему столбику агара.

Коагулазный тест *Staphylococcus aureus*



Коагулазный тест *Staphylococcus epidermidis*



ФАГОТИПИРОВАНИЕ *S. aureus* **ПО МЕТОДУ ФИШЕРА**

- Испытуемую культуру стафилококка засевают на МПА, затем делят чашку на 22 квадрата (22 типовых фага).
- В каждый квадрат наносят по одной капле различных типовых фагов.
- После суточной инкубации в термостате отмечают квадраты, в которых отмечается лизис бактерий.
- Фаготип бактериальной культуры определяется типом лизирующего ее фага.

Фишера

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

Фаготипирование бактерий по методу Фишера

Анатоксин стафилококковый адсорбированный



Вакцина стафило-протеино- синегнойная адсорбированная

содержит:

- стафилококковый анатоксин,**
 - анатоксин синегнойной палочки,**
 - цитоплазматический АГ стафилококка,**
 - протейный АГ,**
- адсорбированные на гидроокиси
алюминия.**

Используется для профилактики.

Стафилококковый антифагин

(вакцина стафилококковая лечебная)

содержит комплекс растворимых термостабильных АГ,
извлеченных из микробных клеток стафилококка
водно-фенольной экстракцией.



ВАКЦИНА

10
АМПУЛ

СТАФИЛОКОККОВАЯ ЛЕЧЕБНАЯ
(Антифагин стафилококковый)

РАСТВОР
для подкожного введения

10
АМПУЛ
ПО 1 МЛ



Стафилококковая вакцина лечебная

содержит взвесь инактивированных нагреванием клеток коагулазоположительных стафилококков



Антистафилококковый иммуноглобулин

содержит антитела к стафилококковому экзотоксину.

Получают от доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином, методом фракционирования по Кону.



Антистафилококковая плазма

- получают на станциях переливания крови от доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином.
- После проведенной иммунизации и появления в крови специфических антител в титре 6,0 — 10 МЕ/л донорам проводится **плазмаферез**.
- В ходе плазмафереза из организма извлекается порция крови, которая затем, в зависимости от метода, разделяется на плазму и форменные элементы, клетки крови возвращаются в организм, а удалённая плазма используется.

Бактериофаг стафилококковый

Пиобактериофаг

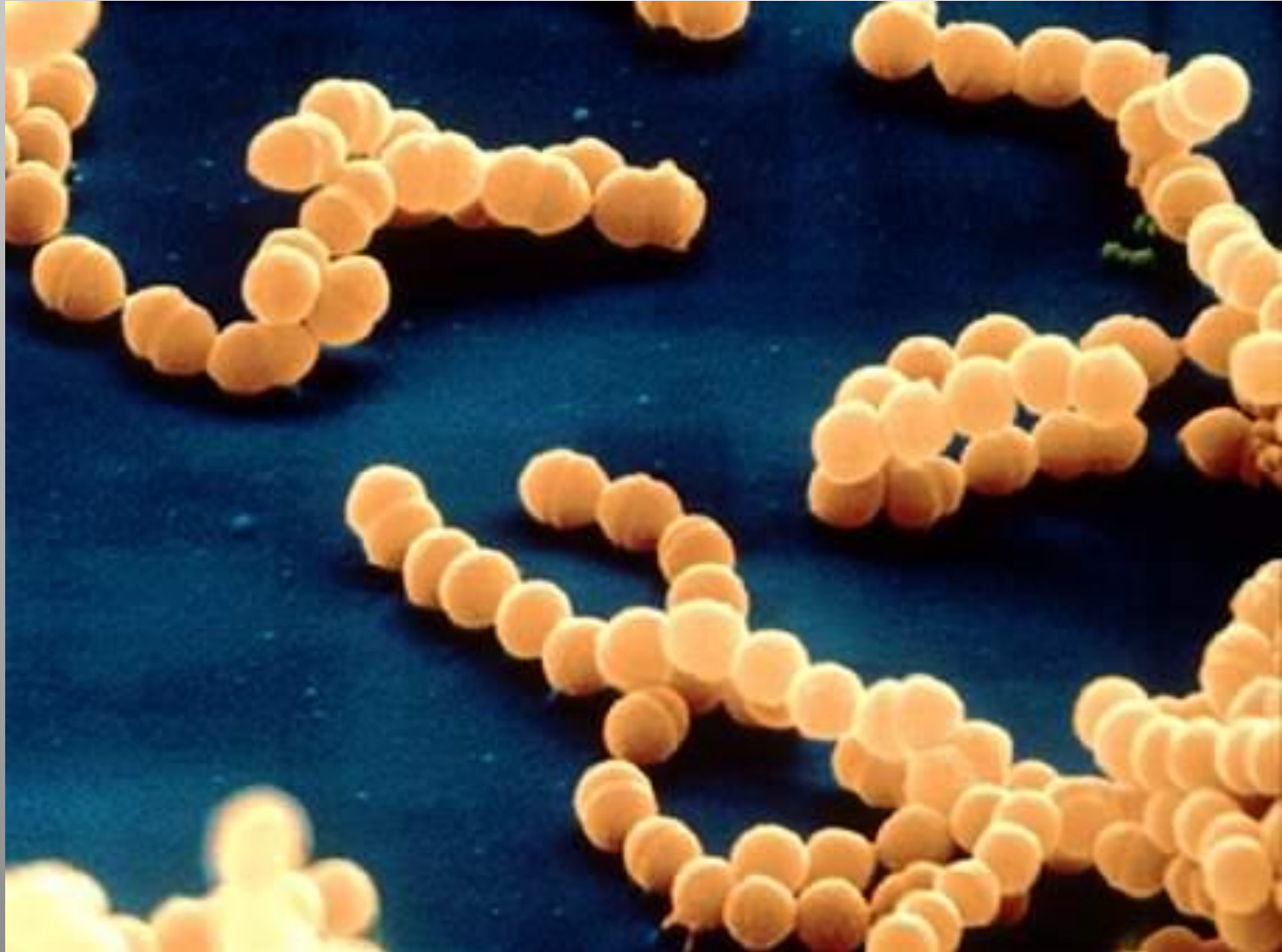


Интестибактериофаг



Стрептококки

Стрептококки



Классификация стрептококков

- **17 группа по Берджи - грамположительные кокки**
- Семейство: **Streptococcaceae**
- Роды (всего 6):
 - **Streptococcus**

Виды:

- пиогенные: **S. pyogenes, S. agalactiae**
- ротовой полости: **S. mutans, S. pneumoniae**
- анаэробные
- другие стрептококки

– **Enterococcus**

Виды:

- **Enterococcus faecalis**
- **Enterococcus faecium** и др.

Классификация Ребекки Лэнсфилд (1933)

основана на наличии группоспецифичных
С-полисахаридов в клеточной стенке

- серогруппы (20: с А - по V)

Группа А - *S. pyogenes*

Группа В - *S. agalactiae*

Группа D – *Enterococcus faecalis*

- серовары выделяют по специфичности
белковых АГ (М, Т, R)

Классификация по гемолитической активности



α-гемолитические
дают **частичный**
(**зеленящий**) **гемолиз**
(образуется
метгемоглобин)

β-гемолитические
дают **полный**
(**прозрачный**) **гемолиз**

γ-гемолитические
не **вызывают**
гемолиза **на**
питательной среде

Морфологические и тинкториальные свойства

- от лат. **Streptos** (цепочка) + **coccus** (шар)
- Грамположительные
- Неподвижны
- Спор не образуют
- Пневмококки — ланцетовидные или овальные клетки, лежат парами, образуют капсулу

Культуральные свойства

- Питательные потребности **сложные**.
- Обычно растут на средах с добавлением крови, сыворотки, асцитической жидкости, углеводов.
Предпочитают **среды с добавлением крови**
- **На плотных питательных средах**
 - мелкие серые колонии, окруженные зоной гемолиза
- **На жидких средах**
 - придонный, пристеночный, диффузный рост (в зависимости от вида)

Антигенные свойства

- С-полисахаридный антиген - группоспецифический (серогруппы)
- Белковые М-антигены, Т и R – типоспецифический (серовары)
- Капсульные полисахаридные антигены – типоспецифические для **пневмококка** (серовары)

Основные заболевания, вызываемые стрептококками группы А (*S. pyogenes*)

- Фарингит
- Раневые инфекции, поражения кожи и мягких тканей
- Эндокардит
- Менингит
- Артрит
- Пневмония
- Сепсис и др.

Специфические:

- Ангина
- Гломерулонефрит
- Скарлатина
- Ревматизм
- Рожистое воспаление (рожа)

Эпидемиология

- **Источник инфекции -**
больной человек или бактерионоситель
- **Основные пути передачи:**
 - **воздушно-капельный**
 - **контактный**
 - **алиментарный**

Факторы патогенности стрептококков

- Факторы адгезии и колонизации:

- капсула
- тейхоевые кислоты
- белок М

- Ферменты патогенности:

- гиалуронидаза (обуславливает высокую инвазивность)
- фибринолизин (стрептокиназа) (превращает плазминоген в плазмин, который гидролизует фибрин)
- ДНКаза (стрептодорназа) и др.

- Агрессины:

- капсула
- белок М
- фактор, угнетающий хемотаксис (С5а-пептидаза)

- Токсины: экзотоксины

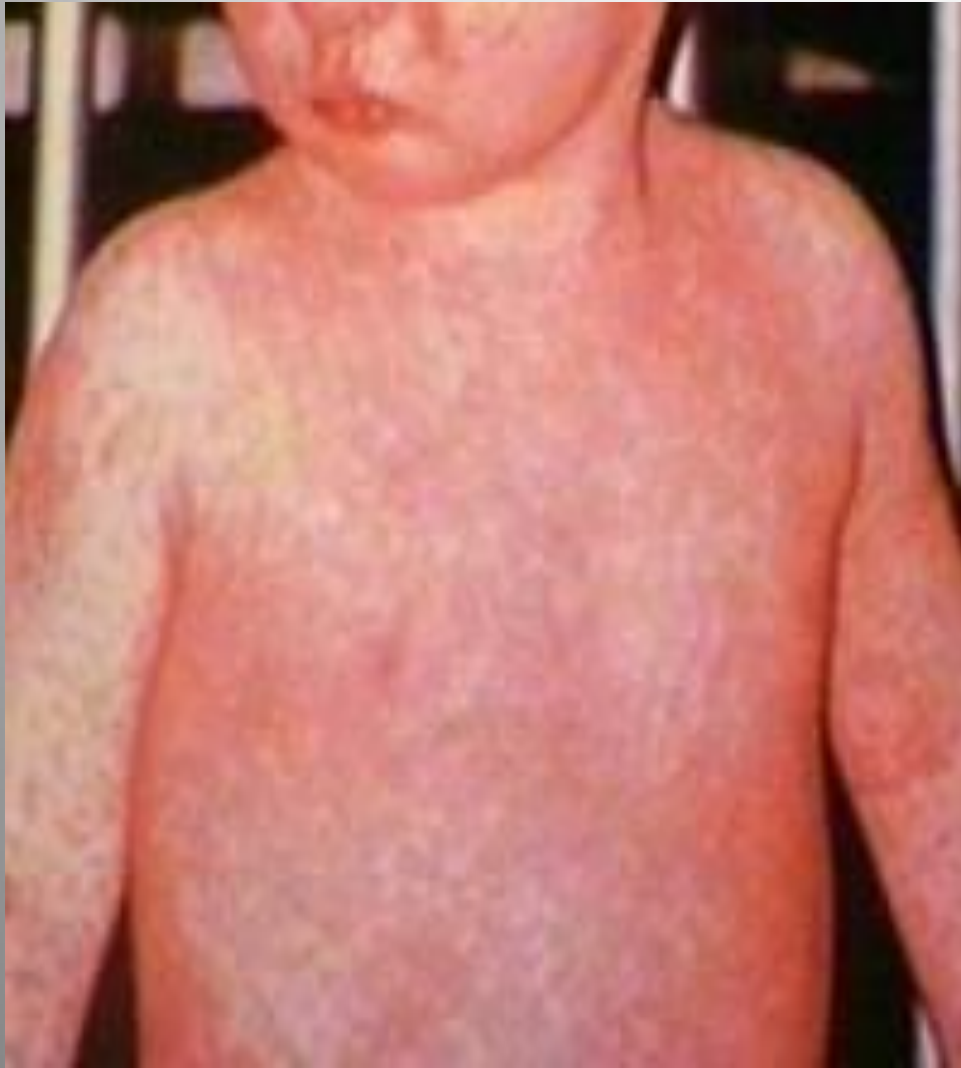
Токсины стрептококков

- **Стрептолизин O**
 - гемолитическое, лейкотоксическое, кардиотоксическое действие; сильный АГ
- **Стрептолизин S**
 - гемолитическое, лейкотоксическое действие; слабый АГ
- **Лейкоцидин**
 - избирательно разрушает лейкоциты (нейтрофилы)
- **Эритрогенный (пирогенный) токсин**
 - эритрогенное, пирогенное (стимулирует синтез макрофагами ИЛ-1 и ФНО), аллергенное, иммуносупрессорное действие
- **Кардиогепатический токсин**

Рожистое воспаление



Скарлатина



ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Исследуемый материал

— определяется очагом поражения (гной, кровь, мокрота, налёт с миндалин, слизь из зева, отделяемое ран, моча, ликвор и т. д.).

Методы диагностики:

1) Экспресс-метод:

- ИФА
- реакция латекс-агглютинации
- реакция коагглютинации

2) Микроскопический метод

ориентировочный

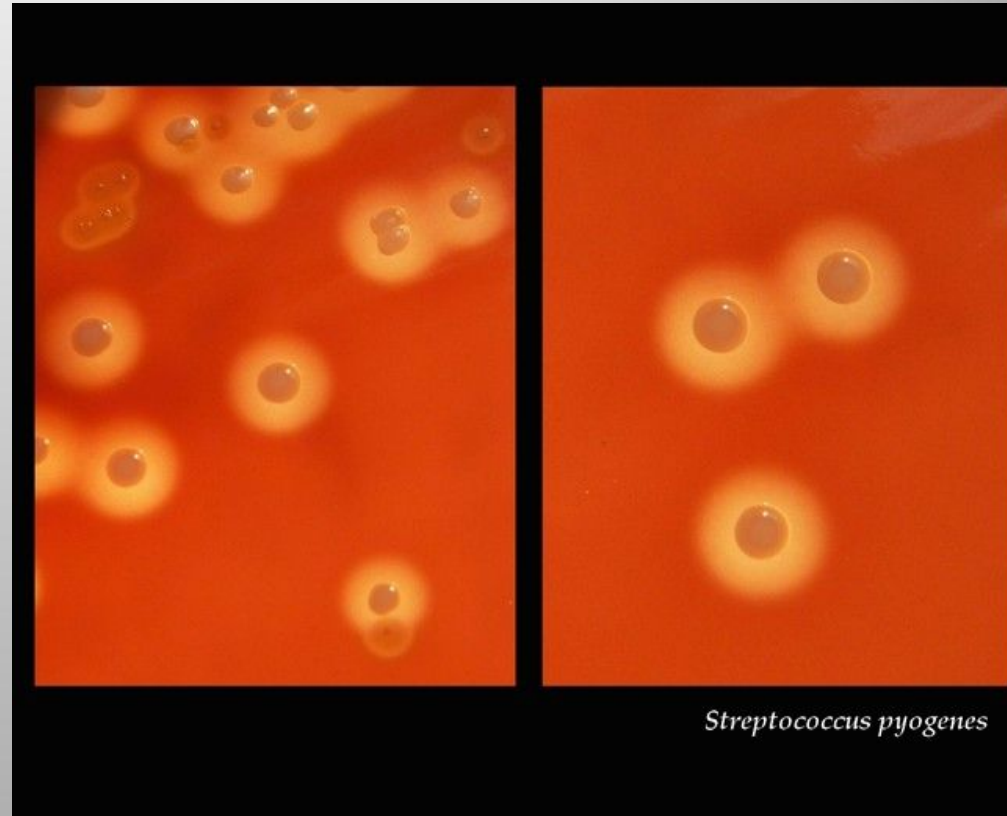
3) Бактериологический метод — основной

Материал засевают на:

— кровяной агар (КА):

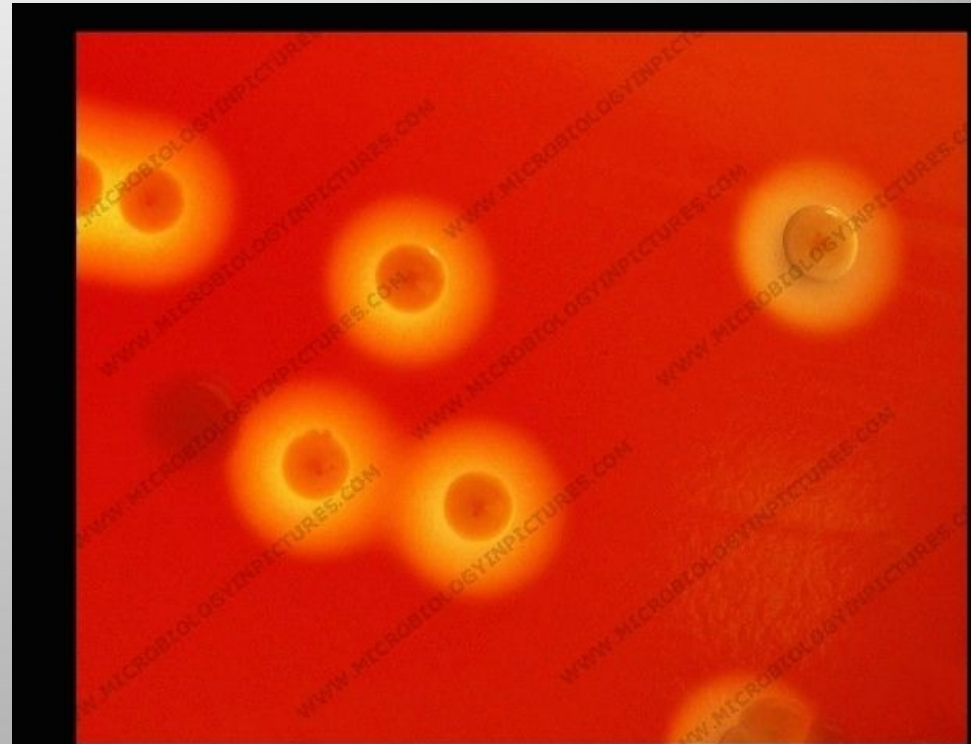
**через 24 час оценивают зону гемолиза
вокруг колоний**

Колонии β -гемолитических стрептококков (*S. pyogenes*)



Streptococcus pyogenes

Колонии β -гемолитических стрептококков (*S. agalactiae*)



Streptococcus agalactiae

Колонии α -гемолитических стрептококков (*S. pneumoniae*)



Streptococcus pneumoniae

S. pyogenes



Рис. 3.26. *Streptococcus pyogenes*. Чистая

S. pneumoniae



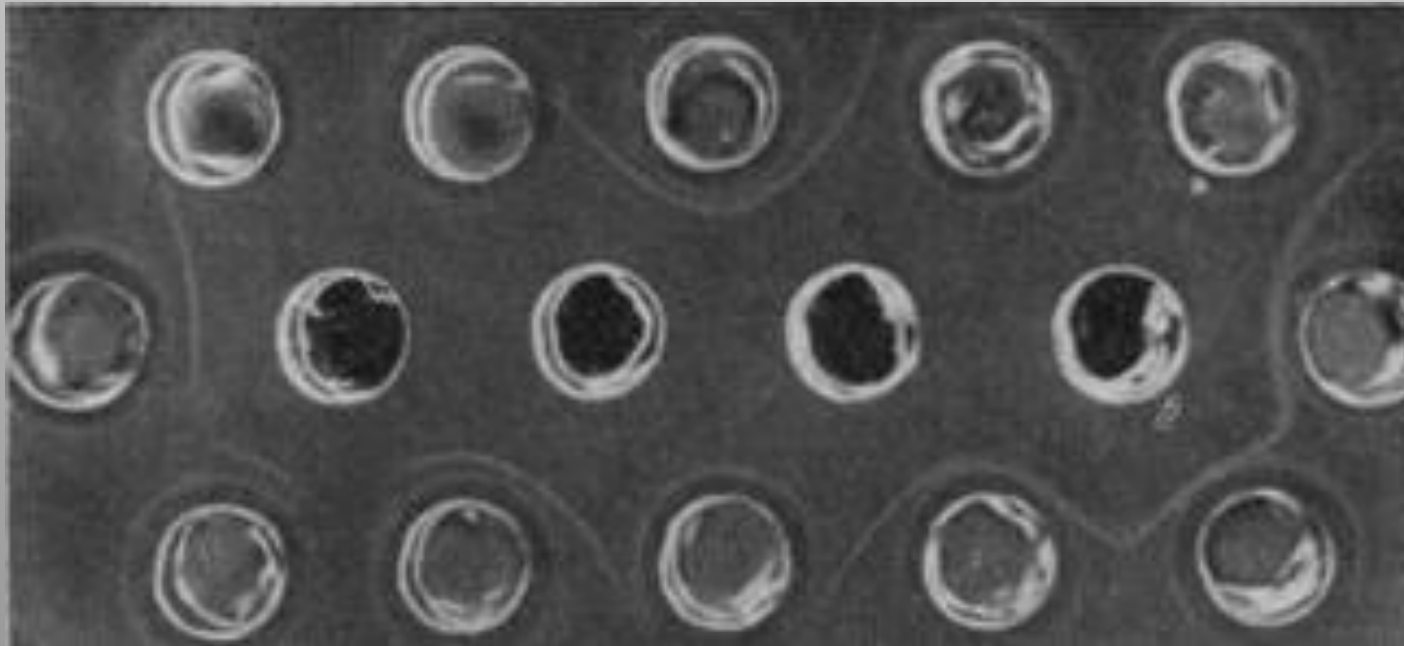
Рис 3.27. Чистая культура пневмококка.
Окраска по Граму

S. agalactiae



Streptococcus agalactiae

Для определения **серогруппы по Лэнсфильд** из культуры стрептококков готовят солянокислый экстракт (экстрагируют полисахарид С) и ставят **РП в геле** с преципитирующими групповыми сыворотками



- Для дифференцировки **стрептококков группы А** от прочих β -гемолитических стрептококков применяют **тест чувствительности к бацитрацину методом дисков**

- Для дифференцировки ***S. pyogenes*** ставят тест гидролиза пирролидонил- β -нафтиламида (**ПИР-тест**):

в пробирки вносят полоски фильтровальной бумаги, пропитанные ПИР.

Под действием бактериальных пептидаз ПИР расщепляется до β -нафтиламида и после внесения р-ра 4-диметиламиноцинамальдегида полоски окрашиваются в **вишнево-красный цвет**.

- Для идентификации **S. agalactiae** используют **тест гидролиза гиппурата**.
- **Принцип.** Стрептококки группы В (**Streptococcus agalactiae**) могут гидролизовать гиппурат натрия с образованием глицина и бензоата натрия. Освобождённый глицин определяется **цветной реакцией** с раствором нингидрина.
- Для постановки теста используют взвесь из суточной культуры стрептококка, в которую погружают 1 полоску так, чтобы вся индикаторная зона полоски была погружена в раствор
- Инкубируют в течение 24 часов и затем добавляют в пробирку 4 капли реактива
- После 5 - 10 минут инкубации при температуре от +15 до +25° С учитывают результат в соответствии с таблицей:

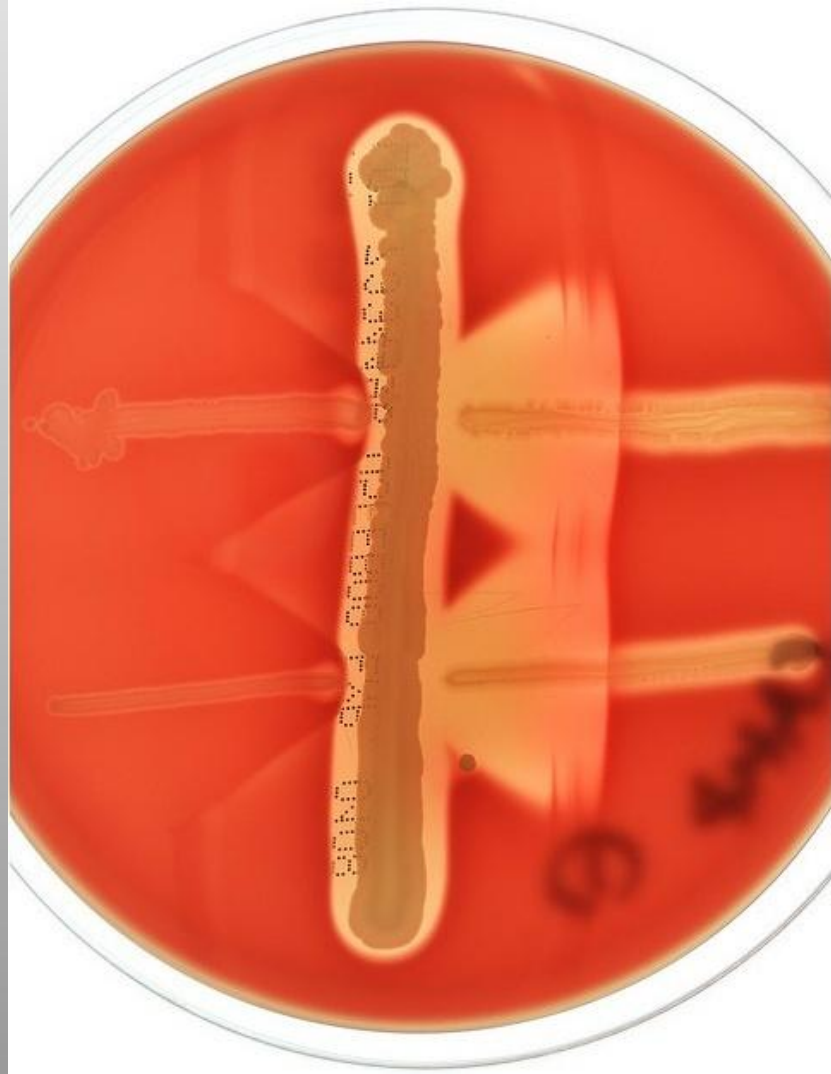
ТЕСТ	РЕАКЦИЯ	
	Положительная	Отрицательная
Гидролиз гиппурата Na	Синее, сине-фиолетовое кольцо	Бесцветное, светло-синее

- Таким образом, стрептококки группы В можно отличить от стрептококков групп А, С, F и G, которые не гидролизуют гиппурат.

- Для идентификации ***S. agalactiae*** используют **САМР-тест**
- Принцип: при выращивании на кровяном агаре ***S. agalactiae*** совместно со стафилококком, который продуцирует гемолизин, происходит усиление лизиса эритроцитов и, соответственно, - увеличение образуемых зон гемолиза.
- В центр чашки Петри с кровяным агаром сплошной линией засевают культуру *S. aureus*, продуцирующего бета-гемолизин.
- Перпендикулярными по отношению к линии посева стафилококка штрихами высевают культуры стрептококков.
- Посевы инкубируют при 37°C в течение 18-15 часов.
- При “+” результате в месте пересечения посевов стрептококка со стафилококком **гемолиз приобретает форму бабочки**.

САМР-тест

получивший название по первым буквам фамилий его авторов – австралийских ученых Christiae, Atkins, Munch-Petersen (1944)



- Для дифференцировки **S.pneumoniae** от прочих стрептококков используют **тест чувствительности к оптохину методом дисков.**
- От зеленающих стрептококков **S.pneumoniae** отличает **чувствительность к солям желчных кислот (дезоксихолатная проба).**
- Тест основан на способности 10% желчи лизировать пневмококк.
- В две пробирки с сывороточным бульоном с 10% желчи КРС и без нее добавляют испытуемую культуру и выдерживают 1 час при +37°C.
- При лизисе пневмококка отмечается просветление бульона по сравнению с контролем.

4) Серодиагностика

- **Для диагностики ревматического процесса определяют АТ к стрептолизину О или стрептодорназе.**

Специфическая профилактика

Вакцина «Пневмо – 23»

содержит капсульные полисахаридные АГ 23
различных сероваров пневмококка



Бактериофаг стрептококковый

