

План:

- Введение
- Морфология, физиология
- Токсинообразование
- Морфологические и культуральные свойства
- Устойчивость
- Антигенная структура
- Классификация
- Патогенность
- Иммунитет
- Микробиологическая диагностика
- Стрептококковые инфекции
- Бактериологическое исследование
- Серологическое исследование
- Профилактика и лечение

Введение

- Стрептококки паразитируют на коже и слизистых оболочках млекопитающих. В тканях человека стрептококки впервые были обнаружены при роже и раневых инфекциях (Бильрот, 1874), септицемии и гнойных поражениях (Пастер, 1879; Огстон, 1881). Стрептококки представлены неподвижными сферическими клетками размером 0,5-2,0 мкм. В мазках они располагаются парами или короткими цепочками, особенно при выращивании в жидких питательных средах (рис. 12-4), что и послужило основанием для их названия [от греч. streptos, цепочка, + kokkos, ягода]. Клеточная стенка содержит тейхоевые кислоты, углеводы и пептидогликаны, на её поверхности расположены фимбрии, а у патогенных видов имеется капсула (рис. 12-5). При неблагоприятных воздействиях стрептококки способны образовывать L-формы.

Морфология, физиология

- Клетки шаровидной или овальной формы, расположенные попарно или в виде цепочек разной длины. Грамположительны. Хемоорганотрофы. Требовательны к питательному субстрату. Размножаются на кровяных или сахарных средах. На поверхности твердых сред образуют мелкие колонии, на жидких дают придонный рост, оставляя среду прозрачной. По характеру роста на кровяном агаре различают α -гемолитические стрептококки, окруженные небольшой зоной гемолиза с зеленовато-сероватым оттенком, β -гемолитические, окруженные прозрачной зоной гемолиза, и негемолитические, не изменяющие кровяной агар. Однако гемолитический признак оказался весьма переменчивым, вследствие чего для дифференциально-диагностических целей используется с осторожностью. Ферментация углеводов не является стабильным и четким признаком, вследствие чего он не используется для дифференцировки и идентификации стрептококков. Стрептококки аэробы, не образуют каталазы, в отличие от стафилококков.

Токсинообразование

- Стрептококки выделяют различные экзотоксины:
- 1) гемолизины (стрептолизины), которые по своему составу неоднородны (различают О- и S-стрептолизины);
- 2) лейкоцидин;
- 3) некротоксин;
- 4) летальный токсин;
- 5) эритрогенный токсин, специфический скарлатинозный, который действует на эритроциты. С ним связано появление сыпи при скарлатине. Токсин этот состоит из двух фракций: термолабильной, обладающей токсическим действием и антигенными свойствами, и термостабильной, являющейся аллергеном. Помимо этого, у стрептококков обнаружены другие токсические вещества, к которым относятся следующие ферменты: гиалуронидаза (стрептогиалуронидаза), фибринолизин (стрептокиназа), протеиназа и др. У больных стрептококковыми инфекциями обнаруживают антитела к стрептогиалуронидазе, стрептокиназе, О-стрептолизину, протеиназе.

Морфологические и культуральные свойства

- Стрептококки—это мелкие шаровидные клетки, располагающиеся цепочками, грамположительные, спор не образуют, неподвижные. Большинство штаммов образует капсулу, состоящую из гиалуроновой кислоты. Клеточная стенка содержит белки (M-, T- и R-антигены), углеводы (группоспецифические) и пептидогликаны. Легко переходят в L-формы. Возбудители растут на средах, обогащенных углеводами, кровью, сывороткой, асцитической жидкостью. На плотных средах обычно образуют мелкие серые колонии. Капсульные штаммы стрептококков группы A образуют слизистые колонии. На жидких средах стрептококки обычно дают придонный рост. Стрептококки — факультативные анаэробы. По характеру роста на кровяном агаре они делятся на культуральные варианты: α-гемолитические (зеленящие), β-гемолитические (полный гемолиз) и негемолитические.

Устойчивость

- Стрептококки длительное время жизнеспособны в пыли, на различных предметах, но утрачивают при этом патогенность. В высушенном гное и мокроте они сохраняются месяцами. Низкие температуры переносят хорошо. Стрептококки погибают при 56°C в течение 30 мин; 1% раствор сулемы и 3—5% раствор карболовой кислоты убивают их в течение 15 мин. Стрептококки группы D (энтерококки) более устойчивы во внешней среде.

Антигенная структура

- У стрептококка находят различные нерастворимые антигены, связанные с микробной клеткой. В цитоплазме клетки содержится видовой антиген Р нуклеопротеидной природы, единый для всех стрептококков. Антиген этот находят также у стафилококков и пневмококков. Субстанция Р способствует сенсibilизации организма; защитные антитела к этому антигену не продуцируются и поэтому при повторном заражении стрептококком сенсibilизация нарастает. Более поверхностно, в клеточной стенке, находится полисахаридный групповой антиген С. Все стрептококки разделены на 17 групп, каждая из которых имеет свой специфический антиген С. На поверхности клеточной стенки стрептококка расположены протеиновые типовые антигены М и Т. Наибольшее значение имеет М-субстанция, так как с ней связана вирулентность микроба. Антитела, образующиеся против М-антигена в организме, обладают защитными свойствами. Эти антитела защищают человека от заболеваний, вызванных тем же типом стрептококка.

Классификация

- По классификации Шоттмюллера (1903) и Брауна (1915), все стрептококки разделены на три группы:
- 1) гемолитический (в-стрептококк (*Streptococcus haemolyticus*) на кровяном агаре образует колонии, окруженные зоной прозрачного гемолиза;
- 2) зеленающий а-стрептококк (*Str. viridans*) на кровяном агаре Дает зеленовато-серые колонии с зоной гемолиза зеленоватого цвета;
- 3) негемолитический -у-стрептококк (*Str. anhaemolyticus*) не изменяет кровяного агара. Гемолитическую способность стрептококка рассматривали как критерий патогенности. Однако установлено, что заболевания вызываются не только гемолитическими стрептококками. В свою очередь гемолитические стрептококки могут быть непатогенными.

Более совершенной оказалась классификация, предложенная Ленсфильд (1933) и Гриффитсом (1935), основанная на антигенной структуре стрептококков. Согласно этой классификации, все стрептококки были разбиты по групповому С-антигену на 17 групп — от А до S.

- Принадлежность культур к одной из серологических групп определяют с помощью реакции преципитации с групповыми стрептококковыми сыворотками, а к серологическим типам — реакции агглютинации с типоспецифическими сыворотками.

Патогенность

На основе полисахаридного антигена делятся на серогруппы (А, В, С...О). Стрептококки группы А вырабатывают более 20 веществ, обладающих антигенностью и агрессивностью. На поверхности клетки имеется белковый антиген М, который тесно связан с вирулентностью (препятствует фагоцитозу). Этот белок определяет типовую принадлежность стрептококков. К факторам патогенности относят стрептокиназу (фибринолизин), ДНКазу, гиалуронидазу, эритрогенин. Наиболее патогенны для человека гемолитические стрептококки группы А, называемые *S. pyogenes*. Этот вид вызывает у человека многие болезни: скарлатину, рожу, ангину, острый эндокардит, послеродовой сепсис, хронический тонзиллит, ревматизм.

Иммунитет

- Иммунитет при стрептококковых инфекциях (кроме скарлатины) нестойкий. Во время болезни образуются различные антитела, но защитным свойством обладают только антитоксин и типоспецифические М-антитела. Поэтому иммунитет к инфекции типоспецифический и не защищает от возникновения заболеваний, вызванных другими типами стрептококков. Наряду с этим у лиц, перенесших стрептококковую инфекцию, под влиянием стрептококка наступает алергизация организма, чем и объясняются склонность к рецидивам и повышенное предрасположение к повторным стрептококковым заболеваниям.

Микробиологическая диагностика

- Материалом для исследования служат:
- 1) слизь из зева при ангине и скарлатине;
- 2) кровь при эндокардите и подозрении на сепсис;
- 3) гнойное отделяемое из очага поражения;
- 4) мокрота при заболеваниях органов дыхания;
- 5) моча при заболеваниях почек и мочевыводящих путей.

- **Первый день.** Чаще всего исследуют слизь из зева и кровь. Слизь из зева, взятую стерильным ватным тампоном, засевают на чашки с кровяным агаром. Посевы выдерживают в термостате при 37°C 18—20 ч.
- **Второй день.** Просматривают колонии, делают мазки, микроскопируют. Колонии, окруженные зоной гемолиза, отсевают в пробирку с бульоном Мартена или кровяным бульоном.
- **Третий день.** Учитывают характерный рост стрептококка на бульоне Мартена и проводят определение серологической группы стрептококка с помощью реакции преципитации, определяют серологический тип стрептококка в реакции агглютинации на стекле по методу Гриффитса с типовыми антистрептококковыми сыворотками

Стрептококковые инфекции

- Семья Streptococcaceae объединяет в своем составе семь родов: Streptococcus; Enterococcus, Aerococcus, Pediococcus, Peptostreptococcus, Lactococcus, Leuconostoc. Среди них в инфекционной патологии человека наибольшее значение имеют стрептококки и энтерококки. Общепризнанной является классификация стрептококков с Ленсфильд. На основе специфических полисахаридов и поверхностных белковых антигенов выделяют 20 серологических групп, которые обозначаются заглавными буквами латинского алфавита от А до V. Патогенные виды относятся к серогруппы А, В, С и D, реже - к группам F и J. их определяют с помощью реакции преципитации с соответствующими антисыворотки. Однако, из-за отсутствия преципитирующих сывороток бактериологические лаборатории не имеют возможности проводить серологическую идентификацию стрептококков. Поэтому в современных условиях используют другие критерии их дифференциации. Основой лабораторной диагностики заболеваний, вызванных стрептококками, является бактериологические и серологические методы.

Бактериологическое исследование

- Для установления диагноза при острых стрептококковых инфекциях (за исключением скарлатины с типичной клинической картиной) нужно проводить бактериологическое исследование. При подозрении на сепсис сеют у постели больного 10-15 мл крови во флакон, содержащий 100-150 мл сахарного бульона (соотношение крови и среды 1:10). Лучшие и надежные результаты дают посеvy крови в среду Китт-Тароцци с полужидким агаром. В нем будут расти и анаэробные стрептококки. Посевы крови инкубируют в термостате при 37 ° С. При росте стрептококков на дне среды появляется осадок. В среде Китт-Тароцци может образовываться и газ. В мазках из осадка обнаруживают грамположительные стрептококки в виде длинных цепочек. Пневмококки располагаются короткими цепочками или парно в виде ланцетовидными клетками, возвращенных друг друга утолщенными концами. Для энтерококков свойственно парное расположение, реже тетрадами или кучками, но гроздьями. Отдельные клетки энтерококков полиморфные (большие и малые). При отсутствии роста посеvy выдерживают в термостате в течение 3-4 недель, периодически проводя бактериоскопию. Культуру, выросшую после бактериоскопии пересевают в чашку с кровяным агаром для определения типа гемолиза. Через 18-20 ч вырастают типичные колонии, окруженные светлой зоной (бета-гемолиз) или зоной позеленения (альфа-гемолиз). Хотя способность к гемолизу не имеет абсолютного диагностического значения, все же при исследовании стрептококков, выделенных от человека, нельзя исключать негемолитические колонии гамма-стрептококков. За очень редким исключением они не связаны с инфекционными заболеваниями. Чтобы лучше и точнее идентифицировать выделенные гемокультуры стрептококков колонии с кровяного агара рекомендуют отсеивать на простой МПА, молоко с метиленовым синим, желчный бульон (или желчно-кровоной агар). Гемолитические стрептококки серогруппы А не растут на простых и желчных средах, не обесцвечивают метиленовый синий в молоке. Энтерококки хорошо растут на агаре с желчью. Далее различные виды стрептококков можно дифференцировать по биохимическим свойствам. Но биохимические признаки стрептококков не являются постоянными, что в некоторой степени обесценивает использование этих тестов. Навоз, раневой содержание, слизь из зева и носа, собранные ватными тампонами, а также мокроты, ликвор, мочу и т.д. сеют на кровяной агар. Материал наносят на среду в небольшом количестве, а затем петлей или шпателем рассеивают его легкими штрихами по всей поверхности. Не рекомендуется втирать изучаемый материал в агар.

- Для повышения частоты посева стрептококков тампоны после посева на кровяной агар еще у постели больного погружают в пробирку со средой Китти-Тароцци, к которому добавляют полужидкий агар и 2-3 капли дефибринированной крови кролика. Посев инкубируют 3-4 ч при 37 ° С, а затем высевают на чашки с кровяным агаром, выделяют и идентифицируют по обычной схеме. Для быстрой идентификации бета-гемолитических стрептококков серогруппы А используют экспресс-метод с помощью реакции иммунофлюоресценции. Для этого мазок из выделенной культуры фиксируют в 95% спирте в течение 15 мин, окрашивают соответствующими люминесцирующими сыворотками и рассматривают под люминесцентным микроскопом. Практически все гемолитические стрептококки группы А чувствительны к бацитрацину и дают положительный ПИР-тест, есть гидролизует пирролидонил-бетанафтиламид. Еще быстрее стрептококки этой группы определяют в мазках из рото-и носоглотки, обрабатывая их современными коммерческими тест-наборами. Групповые А-антигены стрептококков экстрагируют с помощью ферментов или других химических реагентов и определяют их в реакциях латекс-агглютинации, коаглютинации или иммуноферментным анализом. Стрептококки группы В, как правило, нечувствительны к действию бацитрацину, раскладывают гиппурат и дают положительный КАМП-тест (усиление гемолиза под влиянием дисков, содержащих стафилококковый бета-гемолизин). Дальнейшую идентификацию проводят серогиппуваньям в реакциях латекс-агглютинации или коаглютинации с коммерческими реагентами или мечеными моноклональными антителами. Стрептококки в мазках из влагалища можно быстро идентифицировать с помощью таких же тест-систем, как для стрептококков группы А. Для определения вирулентности выделенных культур стрептококков используют биопробу на белых мышах или устанавливают концентрацию поверхностного М-протеина, характерного только для патогенных штаммов. Для этого получают солянокислый экстракты из молодых культур стрептококков и определяют в них содержание М-антигена. При определении альфа-и бета-гемолитических стрептококков в воздухе операционных, родильных залов, комнат для новорожденных, манипуляционных и других больничных помещений делают посевы воздуха седиментационным методом или с помощью аппарата Кротова на среду Гарро (до растопленного МПА добавляют 5% дефибринированной крови и 0, 2% водного 0,1% раствора ганцианвиолету). Энтерококки и сапрофитная микрофлора на этой среде не растут.

Серологическое исследование

- При хронических стрептококковых инфекциях выделить возбудителя, как правило, не удастся, особенно при длительном лечении больных антибиотиками и другими противомикробными препаратами. В таком случае проводят серологические исследования: определение стрептококкового антигена в сыворотке крови и моче, титрования антител к О-стрептолизину, гиалуронидазы и ДНК-азы. Антиген стрептококков определяют в РСК. Необходимые для этого антистрептококковые сыворотки получают путем гиперимунизации кроликов убитой культурой бета-гемолитических стрептококков серогруппы А. Титром антигена считают то наибольшее разведение сыворотки, которое задерживает гемолиз. Лучшие результаты получают при постановке РСК на холоде. В последнее время для выявления стрептококковых антигенов в сыворотке крови довольно успешно используют метод ИФА. При определении стрептококковых антигенов в моче больных используют реакцию преципитации. Осадок утренней порции мочи после центрифугирования обрабатывают противострептококковыми преципитирующими сывороткой. Результат учитывают через час при комнатной температуре. Стрептококковые антигены в сыворотке крови и моче часто обнаруживают при скарлатине, ангине, ревматизме. Определение антител против О-стрептолизина (антистрептолизина-О) проводят внесением рабочей дозы стандартного препарата О-стрептолизина в ряд пробирок с кратными разведениями сывороток (1:25, 1:50, 1:100 и т.д.). Смесь инкубируют в термостате в течение 15 мин, затем во все пробирки вносят по 0,2 мл 5% взвеси эритроцитов кролика и снова помещают в термостат на 60 мин. При наличии антистрептолизина в крови больных гемолиза не наступает. Пробирка с наибольшим разведением сыворотки, в которой есть выраженная задержка гемолиза, содержит 0,5 АО (антитоксических единиц) антистрептолизина-О. Для определения антител против гиалуронидазы (антигиалуронидазы) в сыворотке больных в разных разведениях вносят стандартную дозу гиалуронидазы и рабочую дозу гиалуроновой кислоты, которую готовят из пупочных канатиков новорожденных. При наличии антигиалуронидазы в пробирках образуется сгусток после добавления уксусной кислоты. Пробирка с наименьшим количеством сыворотки, в которой есть сгусток, содержащий 1 АО (антитоксическую единицу) антигиалуронидазы. При ревматизме и стрептококковом гломерулонефрите в сыворотке крови обнаруживают > 500 АО антистрептолизина и > 800-1000 АО антистрептогиалуронидазы уже с первых дней болезни. Именно при этих заболеваниях чаще всего проводят обе серологические реакции. Во многих странах используют коммерческие тест-системы для определения антител к стрептолизину, гиалуронидазе, стрептокиназе, ДНК-азе и другим экзоферментам стрептококков.

Профилактика и лечение

- Специфическая профилактика стрептококковых инфекций не разработана вследствие неэффективности полученных вакцин и эритрогенного анатоксина (против скарлатины). В настоящее время разрабатывается вакцина против карисса. Лечение проводится главным образом антибиотиками. Резистентность стрептококков к различным антибиотикам, в том числе и к пенициллину, развивается медленно. Это дает возможность использовать многие бета-лактамы антибиотики, в том числе бензилпенициллин. Из других антибиотиков применяют цефалоспорины 1 и 2 поколений, аминогликозиды, макролиды.

- Для лечения применяют пенициллин, сульфаниламидные препараты. В случаях тяжелого течения используют антитоксическую противоскарлатинозную сыворотку.
Роль стрептококка при ревматизме. Об участии стрептококка в возникновении ревматического процесса говорят следующие факты:
- 1) ревматизм возникает через 2—3 нед после острой стрептококковой инфекции (ангина или скарлатина);
- 2) гемолитический стрептококк часто находят в зеве и крови больных ревматизмом;
- 3) в сыворотке крови больных ревматизмом постоянно обнаруживают различные антитела к стрептококку (антистрептолизин, антистрептогиалуронидаза, антистрептокиназа, а также групповые и типовые антитела к стрептококку);
- 4) для ревматизма также характерно постоянное нахождение стрептококковых антигенов в организме;
- 5) в патогенезе ревматизма, как и при других стрептококковых заболеваниях, большую роль играет развитие сенсibilизации к стрептококковым антигенам и его токсину. Косвенным подтверждением роли стрептококка является успешное профилактическое и лечебное применение препаратов пенициллина при ревматизме. В частности, введение бициллина предотвращает последующие атаки ревматизма.

- 4) для ревматизма также характерно постоянное нахождение стрептококковых антигенов в организме;
- 5) в патогенезе ревматизма, как и при других стрептококковых заболеваниях, большую роль играет развитие сенсибилизации к стрептококковым антигенам и его токсину. Косвенным подтверждением роли стрептококка является успешное профилактическое и лечебное применение препаратов пенициллина при ревматизме. В частности, введение бициллина предотвращает последующие атаки ревматизма. Однако стрептококк не исчерпывает всей клинической картины ревматизма. В развитии ревматического заболевания играют роль аутоиммунные процессы. Под влиянием стрептококковой инфекции в организме больного ревматизмом появляются новые антигены — аутоантигены. В ответ на них образуются аутоантитела. Однако, ввиду того что аутоантигены возникают на базе антигенов организма, образующиеся к ним аутоантитела могут соединяться не только с ними, но и с собственными клетками и тканями организма. Возникает порочный круг, поэтому в настоящее время ревматизм относят к аутоиммунным болезням, патогенез которых изучен еще недостаточно.

