

# КЛЕБСИЕЛЛЫ

# КЛАССИФИКАЦИЯ

- 5 группа по Берджи – факультативно-анаэробные Грампалочки
- Семейство: **Enterobacteriaceae**
- Род: **Klebsiella**
- Виды:
  - **K. oxytoca**
  - **K. planticola**
  - **K. terrigena**
  - **K. pneumoniae** :
    - Подвиды:
      - **K. pneumoniae**
      - **K. rhinoscleromatis**
      - **K. ozenae**

# Морфологические и тинкториальные свойства

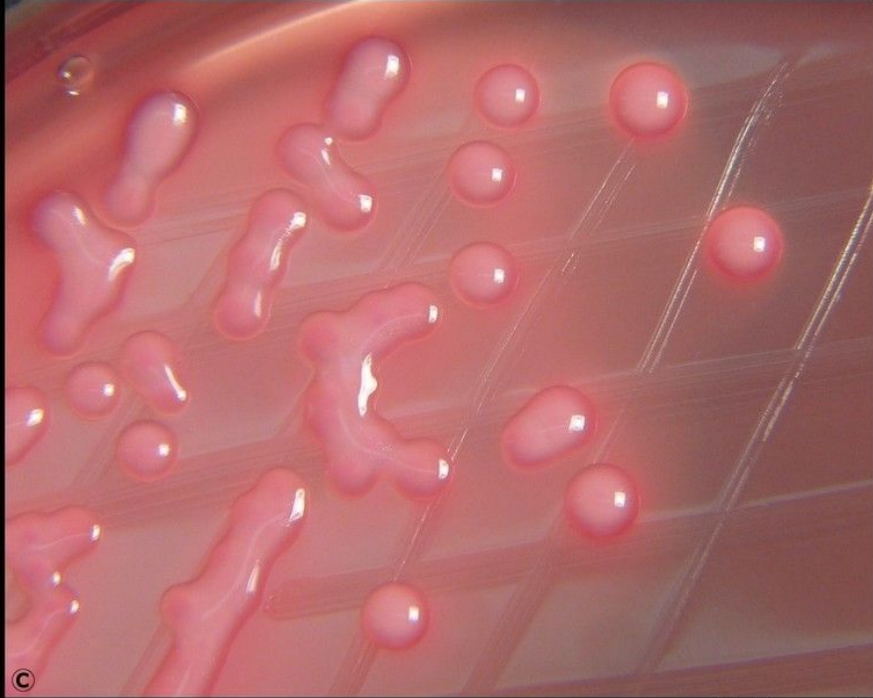
- Толстые короткие палочки с закругленными концами
- Располагаются попарно или поодиночке
- Грамотрицательные
- Спор не образуют
- Неподвижны
- Имеют выраженную капсулу

# Культуральные свойства

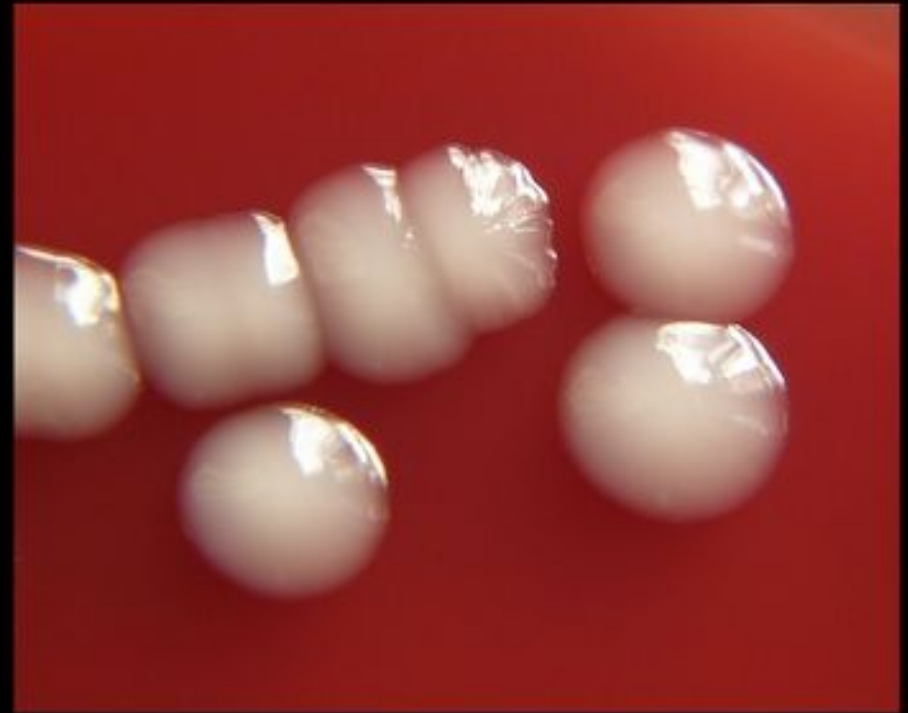
- Факультативные анаэробы
- Хорошо растут на простых питательных средах
- Колонии на агаре круглые, пышные, часто сливающиеся друг с другом, мутные, **слизистые**
- Рост на бульоне в виде диффузного помутнения (иногда – со слизистой плёнкой на поверхности)
- Температурный оптимум для роста +37°C (мезофилы), оптимальная pH 7,2 – 7,4

# Слизистые колонии клебсиелл

www.bacterialphotos.com



*Klebsiella pneumoniae*



*Klebsiella pneumoniae*

gamma hemolysis

# АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА

- О-АГ – 11 сероваров
- К-АГ – 82 серовара

## Биохимические признаки клебсиелл

Признак	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>ozuenaе</i>	<i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i>
Ферментация:			
глюкозы (кислота, газ)	+	d	–
лактозы (кислота)	+	+	–
Уреаза	+	d	–

Примечание. (+) – признак положительный; (–) – признак отсутствует; d – признак непостоянный.

- Желатин не разжижают
- НЕ образуют индол и  $H_2S$

# Заболелвания, вызываемые клебсиеллами

Первоначально *K. pneumoniae* была определена, как микроорганизм вызывающий пневмонию (отсюда и ее название). Однако её роль не сводится только к инфекциям респираторной системы.

*K. pneumoniae* классифицируется как условно-патогенный микроб, находящийся в норме и в определенных органах (например, в кишечнике) в симбиотическом отношении с человеческим организмом, а в иных ситуациях являющийся причиной инфекционных заболеваний.

*K. pneumoniae* — один из возбудителей внутрибольничных инфекций, чаще всего мочевыводящих путей, мозговых оболочек, суставов, могут вызывать сепсис и гнойные послеоперационные осложнения.

В молочных продуктах клебсиеллы могут размножаться даже при хранении в холодильнике и могут вызывать пищевые токсикоинфекции.

*K. ozaenae* вызывает озену - хронический атрофический ринит (зловонный насморк).

*K. rhinoscleromatis* вызывает риносклерому - хроническое гранулематозное заболевание дыхательных путей, поражает глотку, гортань, трахею.

# Факторы патогенности клебсиелл

- Факторы адгезии и колонизации:
  - пили
  - белки наружной мембраны
  - полисахариды капсулы
- Защита клебсиелл от фагоцитоза (агрессины)
  - полисахариды капсулы – К-АГ
- Эндотоксин  
ЛПС
- Экзотоксин  
*энтеротоксин* стимулирует активность аденилатциклазы и отвечает за развитие диареи



# Эпидемиология клебсиеллёзных инфекций

- **Источник**

при внутрибольничных инфекциях – человек больной или бактерионоситель. Может быть экзо- и эндогенное заражение

- **Пути передачи:**

1. воздушно-капельный
2. алиментарный (пищевой)
3. контактный

- **Восприимчивый коллектив**

– любой человек. При внутрибольничных инфекциях – человек со сниженным иммунитетом

# Лабораторная диагностика

Исследуемый материал: зависит от клиники и

локализации: мокрота, слизь из носа, испражнения, моча, ликвор, гнойное отделяемое, кровь и т.д.

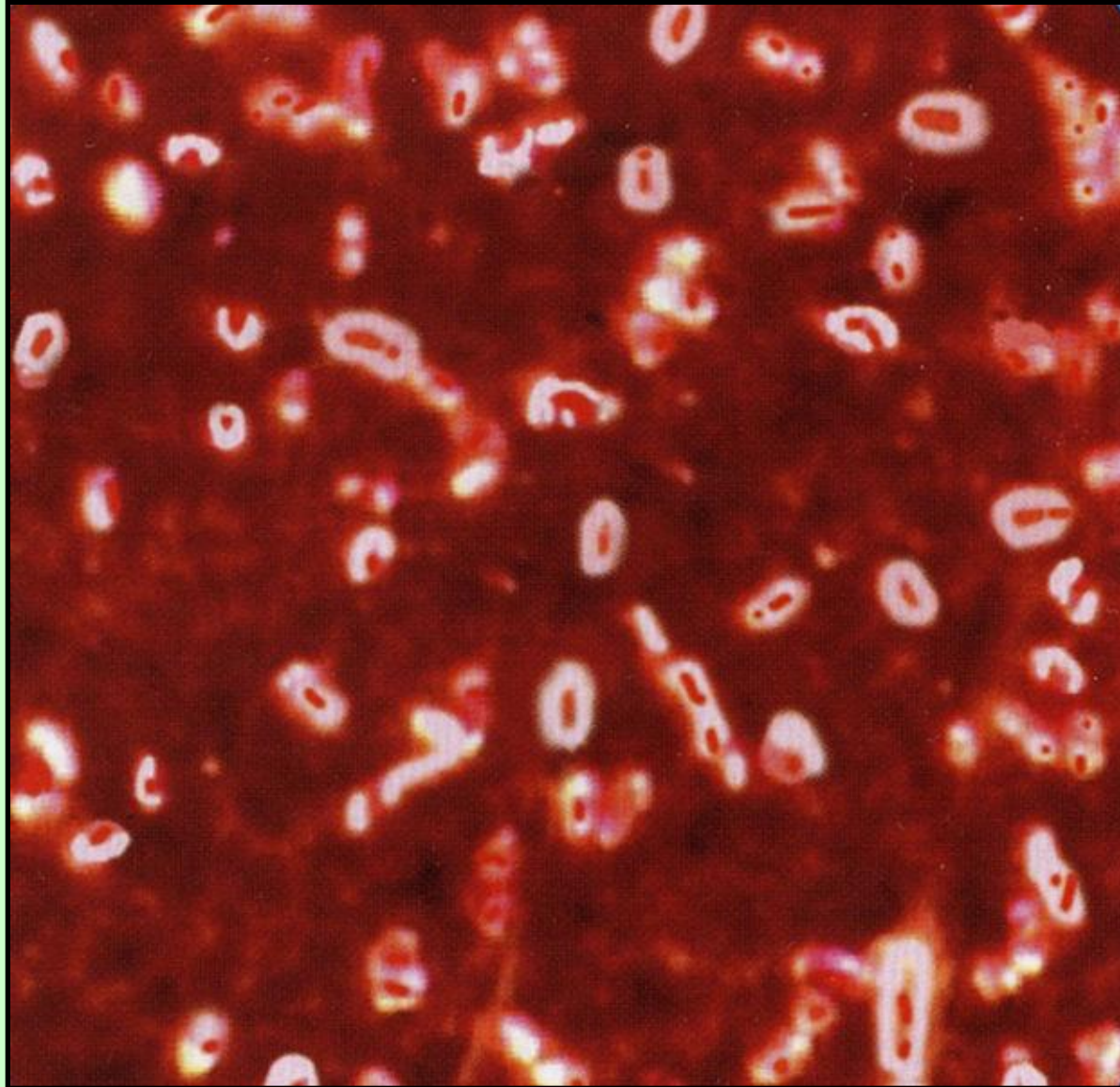
Методы диагностики:

.Микроскопический

.Бактериологический

.Серологический

# 1. Микроскопический метод (окраска по **Бурри-Гинсу**)



## 2. Бактериологический метод - основной

Посев производят на:

дифференциально-диагностическую среду К-2 (с мочевиной, рафинозой и бромтимоловым синим)

Колонии *K. pneumoniae*, выделяющей уреазу и расщепляющей мочевины, - голубые, а клебсиелл, не имеющих уреазы, - желтые.

2. дифференциально-диагностическую среду с лактозой и бромтимоловым синим

Колонии сочные и блестящие, цвет колоний клебсиелл, не расщепляющих лактозу, - голубой, а лактозопозитивные колонии *K. pneumoniae* желтого цвета.

3. среду Эндо – лактозонегативные колонии – бесцветные, лактозопозитивные – красные с металлическим блеском.

Из подозрительных колоний делают мазки, окрашивают их по Граму и Бури-Гинсу и пересевают на скошенный агар или среду Ресселя для получения чистой культуры.

Идентификацию чистой культуры проводят по:

# Лактозопозитивные колонии на среде Эндо



### **3. Серологический метод.**

- 1. РСК с О-антигеном клебсиелл (с химическим склеромным диагностикумом)**
- 2. РА с бактериальным диагностикумом**  
**Диагностически значимо четырехкратное**  
**увеличение титра АТ в динамике**



# Специфическое лечение

**Бактериофаг  
клебсиеллёзный  
поливалентный**



**Пиобактериофаг**



**ПРОТЕЙ**



# КЛАССИФИКАЦИЯ

- 5 группа по Берджи – факультативно-анаэробные Грампалочки
- Семейство: **Enterobacteriaceae**
- Род: **Proteus**
- Виды:
  - **P. vulgaris**
  - **P. mirabilis**
- Ранее относящиеся к роду **Proteus** бактерии вида Proteus morganii перенесены в род Morganella morganii семейства энтеробактерий, а Proteus rettgeri классифицированы в Providencia rettgeri.

# Морфологические и тинкториальные свойства

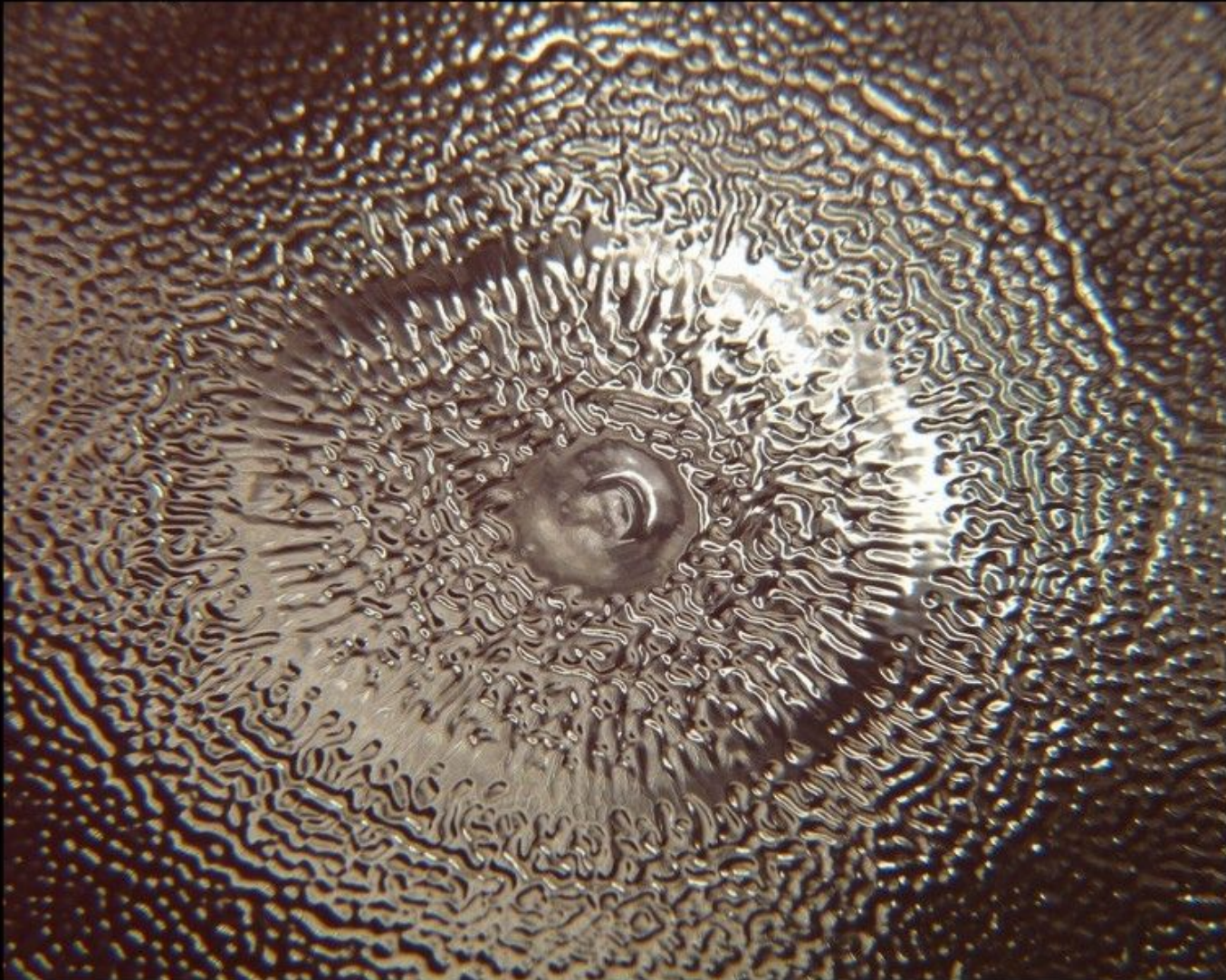
- Мелкие палочки с закруглёнными концами
- Грамотрицательные
- Спор не образуют
- Капсулы не имеют
- Имеют жгутики (**перитрихи**)
- Встречаются неподвижные формы (О-формы)

# Культуральные свойства

- Факультативные анаэробы
- Хорошо растут на простых питательных средах
- На плотных питательных средах дают **феномен роения** – ползучий рост в виде нежной вуали голубовато-дымчатого цвета
- Для выявления ползучего роста используют посев **по Шукевичу** (в конденсационную воду у основания скошенного агара)
- Рост на бульоне в виде диффузного помутнения с густым белым осадком на дне
- Температурный оптимум для роста  $37^{\circ}\text{C}$  (мезофилы), оптимальная рН 7,2 – 7,4

# Ползучий рост протея

[www.bacteriainphotos.com](http://www.bacteriainphotos.com)



FN

*Proteus mirabilis*

# Антигенные свойства

- О-АГ – 49 сероваров
- Н-АГ – 19 сероваров

## Биохимические свойства

Микроорганизмы	Сбраживание углеводов					Разжижение желатина	Выделение H <sub>2</sub> S	Образование индола	Расщепление мочевины
	лактозы	глюкозы	маннита	мальтозы	сахарозы				
<i>Proteus vulgaris</i>	—	КГ	—	КГ	КГ	+	+	+	+
<i>Pr. mirabilis</i>	—	КГ	—	—	К	+	+	—	+

- Протеи продуцируют фермент **фенилаланиндезаминазу** и дезаминируют фенилаланин до фенил-пировиноградной кислоты



# Заболевания, вызываемые протеем

- Являются условно-патогенными микроорганизмами.
- Могут вызывать пищевые токсикоинфекции
- Наиболее часто острые кишечные инфекции, вызываемые протеем, встречаются у детей раннего возраста: ослабленных или с пониженным иммунитетом.
- Являются возбудителями внутрибольничных (госпитальных) инфекций: вызывают инфекции мочевыводящих путей, вторичные септические поражения у пациентов с ожогами и после хирургических вмешательств, пневмонию, менингит и др.

# Факторы патогенности протей

- **Факторы адгезии и колонизации:**
  - пили
  - белки наружной мембраны
- **Ферменты патогенности:**
  - Уреаза
  - Протеазы, разрушающие IgA
- **Эндотоксин**
  - ЛПС

# Лабораторная диагностика

**Исследуемый материал:** зависит от клиники и

локализации: моча, гнойное отделяемое, кровь,

ликвор, промывные воды желудка, мокрота и т.

д.

**Метод диагностики:** бактериологический



# Бактериологический метод

Посев производят на:

## 1. Среду Плоскирева

Протей образует лактозонегативные колонии

## 2. Скошенный агар с фенилаланином

к культуре на среде с фенилаланином добавляют 10 - 12 капель **10% раствора хлорного железа** ( $\text{FeCl}_3 \times 6\text{H}_2\text{O}$ ).

При положительной реакции на фенилаланиндезаминазу через 2-3 мин. культура окрашивается в **зелено-синий** цвет, при отрицательной реакции цвет культуры не изменяется.

Для выявления ползучего роста используют посев **по Шукевичу** (в конденсационную воду у основания скошенного агара).

Идентификацию чистой культуры проводят по:

**1. Культуральным свойствам**

**2. Биохимическим свойствам**

**3. Антигенным свойствам:**

используют РА с агглютинирующими О-сыворотками и Н-сыворотками

# Специфическое лечение

## Бактериофаг коли-протейный



## Бактериофаг протейный



## Интестибактериофаг



# Санитарная микробиология

- **Санитарная микробиология** – направление медицинской микробиологии, изучающее **микрофлору окружающей среды** и ее влияние на здоровье человека и на состояние среды его обитания.
- **Задачи санитарной микробиологии:**
  - Исследование объектов внешней среды (воздух, почва, вода) для оценки их воздействия на здоровье человека.
  - Обследование здоровых лиц (работников пищевых, детских, лечебных учреждений) на носительство патогенных микроорганизмов.
  - Исследование пищевых продуктов с целью их гигиенической характеристики и эпидемиологической оценки; проведение специальных анализов на наличие патогенных микробов при пищевых отравлениях.
  - Контроль за дезинфекционными мероприятиями.

# Принципы проведения санитарно-микробиологических исследований

- Пробы отбирают с соблюдением всех условий, регламентированных для каждого исследуемого объекта.
- Исследования проводят быстро; допускается хранение материала в холодильнике не дольше 6 - 8 часов.
- Для получения объективных результатов отбирают **несколько проб** из разных участков объекта, а также проводят **повторные отборы и анализы проб**.
- Используют только стандартные и унифицированные методы исследования.
- В работе используют комплекс тестов:
  - а) **прямые** – выявляют патогенные микроорганизмы,
  - б) **косвенные** – указывают на загрязнение объектов окружающей среды выделениями человека и животных.
- Интерпретацию результатов санитарно-микробиологических исследований проводят с учетом других гигиенических показателей (химических, физических, органолептических и др.).

# Методы санитарной микробиологии

- Прямая и люминесцентная микроскопия
- **Бактериологический метод**
- Биологический метод (в основном для определения токсинов)
- Микологические методы
- Вирусологические методы

# Проведение санитарно-микробиологических исследований направлено на:

- Определение **общего микробного числа (ОМЧ)** исследуемого объекта;
- Определение **и титрование санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ)** в исследуемом объекте;
- Выявление в исследуемых объектах **патогенных микроорганизмов**

- **Общее микробное число (ОМЧ)** – это общее количество микроорганизмов в единице объема или массы исследуемого объекта (в 1 мл или в 1 г).
- Чем выше ОМЧ объекта, тем выше возможность присутствия в нём патогенных микроорганизмов.
- Методы определения ОМЧ:
  - **прямой подсчет** бактерий в счетных камерах с помощью обычного или фазово-контрастного микроскопа,
  - **количественный посев** на плотные питательные среды.



# Определение ОМЧ воздуха

- Проводится в закрытых помещениях
- Используют:

– **седиментационный метод**

открытые чашки Петри со стерильной питательной средой расставляют в помещении.

Бактерии из воздуха оседают на поверхность среды, затем чашки закрывают, инкубируют и подсчитывают количество выросших колоний.

## **– аспирационный метод**

**Используют специальные аппараты, например, аппарат Кротова.**

**ОМЧ определяют в 100 л воздуха.**

**Посев воздуха осуществляется через отверстие в отсеке на чашку Петри с питательной средой, закрепленную на вращающемся столике прибора.**

**Прокачка воздуха осуществляется с помощью встроенного в прибор пневмонасоса. Скорость протягивания воздуха 25 л/мин.**

**Затем инкубируют посе́вы и подсчитывают число колоний.**

- Нормы ОМЧ регламентированы для воздуха различных помещений.**

# Аппарат Кротова



# Санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ)

- это микроорганизмы, указывающие на загрязнение внешней среды выделениями человека или животных.

- Присутствие СПМ в объекте внешней среды указывает на возможность наличия в этом объекте других, в т.ч. патогенных для человека, микроорганизмов, непосредственное обнаружение которых затруднено.
- СПМ являются постоянные обитатели естественных полостей человека или животных, которые постоянно выделяются в окружающую среду.

## СПМ делят на 3 группы:

- группа А

включает **обитателей кишечника** человека и животных, их расценивают как индикаторы **фекального загрязнения** (эшерихии, энтерококки, протейи, клостридии и др.),

- группа В

включает **обитателей верхних дыхательных путей**, их расценивают как индикаторы **орального загрязнения** (стрептококки, стафилококки),

- группа С

включает **сапрофитические микроорганизмы**, обитающие во внешней среде, их расценивают как **индикаторы процессов самоочищения** (бактерии-аммонификаторы, бактерии-нитрификаторы и др.).

# СПМ различных объектов внешней среды

Исследуемые объекты	СПМ
• Вода	<ul style="list-style-type: none"><li>• Бактерии группы кишечной палочки (БГКП)</li><li>• Энтерококки</li></ul>
• Почва	<ul style="list-style-type: none"><li>• БГКП</li><li>• Энтерококки</li><li>• Анаэробы группы <i>Clostridium perfringens</i></li></ul>
• Воздух	<ul style="list-style-type: none"><li>• Стрептококки</li><li>• Стафилококки</li></ul>
• Пищевые продукты	<ul style="list-style-type: none"><li>• БГКП</li><li>• Энтерококки</li><li>• Стафилококки</li><li>• Протей</li></ul>
• Предметы обихода	<ul style="list-style-type: none"><li>• БГКП</li><li>• Энтерококки</li><li>• Стафилококки</li></ul>

При количественном определении СПМ результаты исследований выражаются в 2 величинах:

### **1. Индекс СПМ** (например, **коли-индекс**)

- это количество СПМ, обнаруженное в единице объема или массы исследуемого объекта.

Для определения индекса СПМ используют:

1) **метод мембранных фильтров**

2) **метод бродильных проб**

### **2. Титр СПМ** (например, **коли-титр**)

- это наименьшее количество исследуемого объекта, в котором обнаружена хотя бы одна особь СПМ.

- Сущность **метода мембранных фильтров** заключается в фильтровании определенных объемов исследуемой жидкости (или твердого вещества, разведенного в воде) через мембранные фильтры, на которых задерживаются бактерии.
- Фильтры переносят на чашки со средой Эндо, инкубируют при  $+ 37^{\circ}$ .
- Подсчитывают выросшие на фильтре колонии кишечной палочки и проводят перерасчет на 1 л, 1 кг или 1 г в зависимости от исследуемого материала.
- Сущность **метода бродильных проб** заключается в посеве определенных объемов исследуемого субстрата **на глюкозопептонную среду с индикатором и поплавком** (для определения ферментации глюкозы), которые выдерживают при  $+ 37^{\circ}$ . Из всех помутневших пробирок делают высевы на среду Эндо с последующей идентификацией и подсчётом выросших колоний.
- Коли-титр — величина, обратная коли-индексу.



# Патогенные микроорганизмы (ПМ)

- Обнаружение ПМ в объектах внешней среды производится:
  - путем прямого посева на питательные среды
  - путем посева после предварительной концентрации микроорганизмов с помощью фильтрации, центрифугирования, осаждения коагулянтами и т.д.
- Идентификация ПМ производится согласно общепринятым схемам.
- Согласно ГОСТу: “патогенные микроорганизмы и их токсины должны отсутствовать в питьевой воде и пищевых продуктах”.