

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

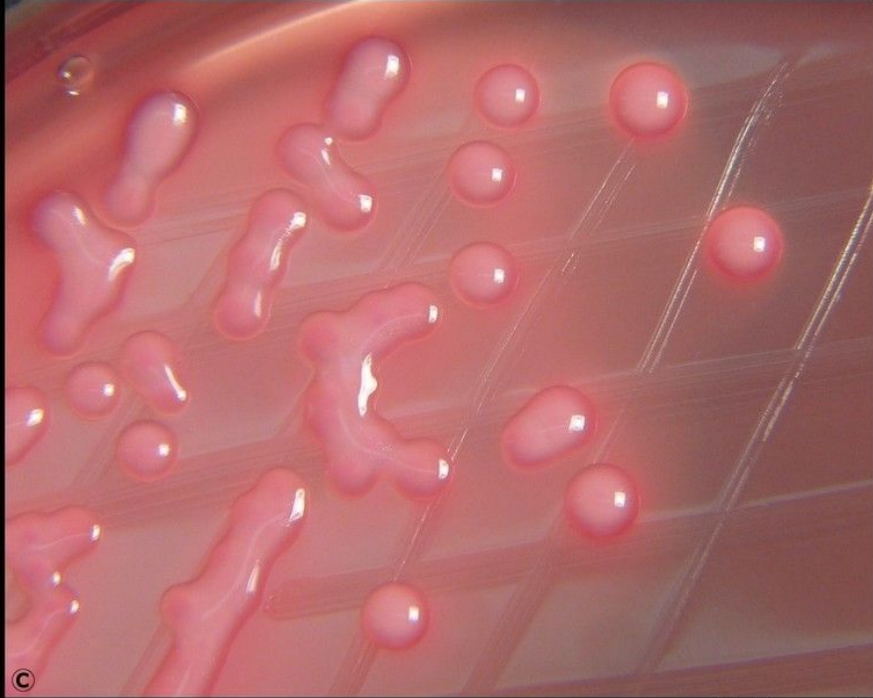
- Толстые короткие палочки с закругленными концами
- Располагаются попарно или поодиночке
- Грамотрицательные
- Спор не образуют
- Неподвижны
- Имеют выраженную капсулу

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 $+37^{\circ}\text{C}$ (мезофилы), оптимальная рН 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.

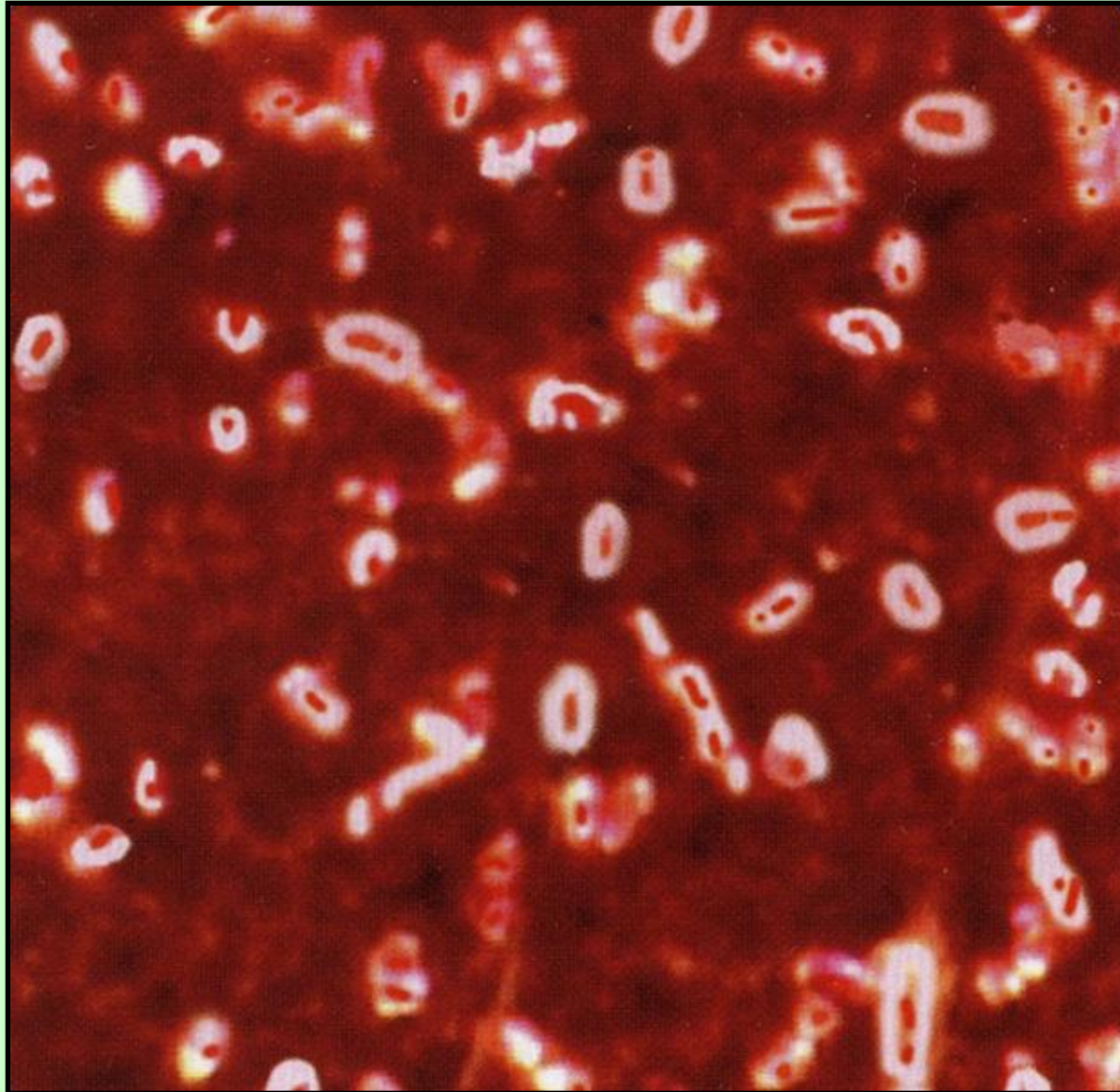
Методы диагностики:

.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

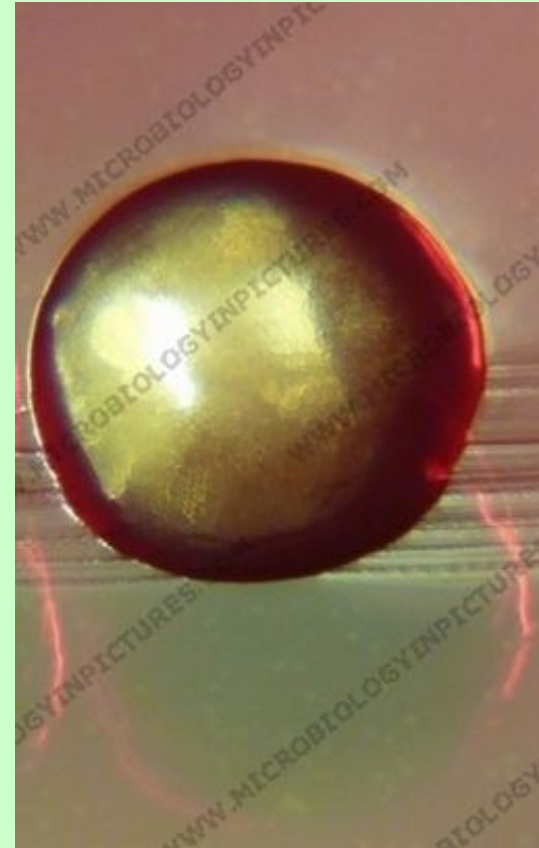
Колонии сочные и блестящие, цвет колоний клебсиелл, не расщепляющих лактозу, - голубой, а лактозопозитивные колонии *K. pneumoniae* желтого цвета.

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

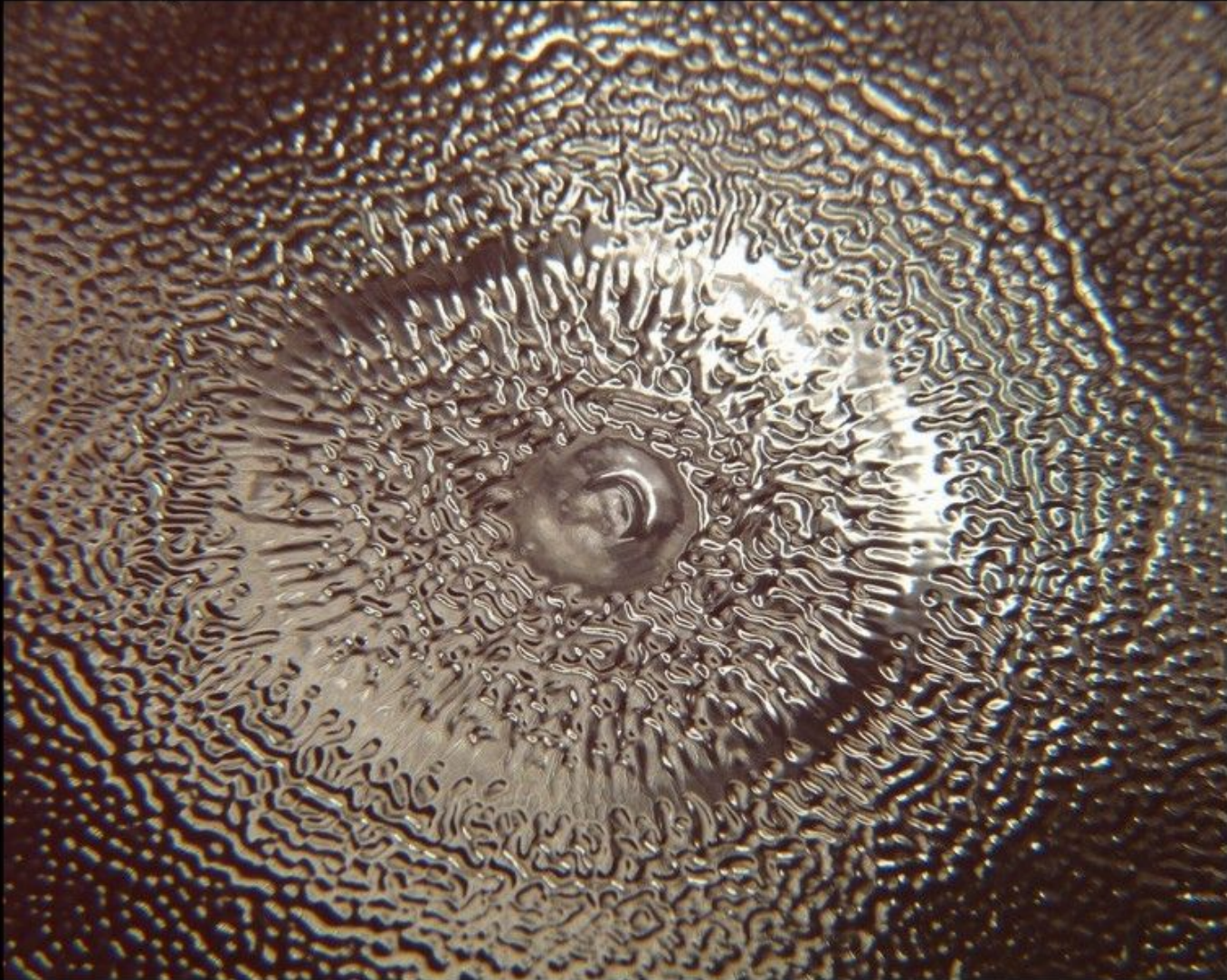
- Мелкие палочки с закруглёнными концами
- Грамотрицательные
- Спор не образуют
- Капсулы не имеют
- Имеют жгутики (**перитрихи**)
- Встречаются неподвижные формы (О-формы)

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°C (мезофилы), оптимальная рН 7,2 – 7,4

Ползучий рост протея

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 ₂ 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 посеваы 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, протей, 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">• Бактерии группы кишечной палочки (БГКП)• Энтерококки
• Почва	<ul style="list-style-type: none">• БГКП• Энтерококки• Анаэробы группы <i>Clostridium perfringens</i>
• Воздух	<ul style="list-style-type: none">• Стрептококки• Стафилококки
• Пищевые продукты	<ul style="list-style-type: none">• БГКП• Энтерококки• Стафилококки• Протей
• Предметы обихода	<ul style="list-style-type: none">• БГКП• Энтерококки• Стафилококки

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°.
- 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°. 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”.