

# Микробиологическая характеристика и лабораторная диагностика стафилококковых и стрептококковых инфекций

Цель: ознакомится с понятием  
«гноеродные бактерии», их  
этиологией и лабораторной  
диагностикой

# Стафилококки

семейство Micrococaceae

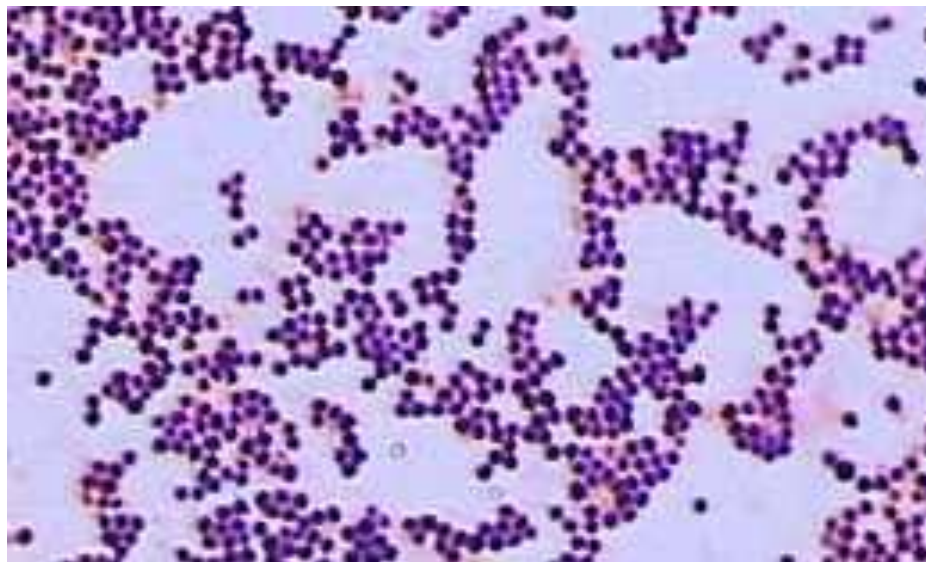
род Staphylococcus

Факультативные анаэробы. Разделяются на виды *Staphylococcus aureus* (наиболее патогенный для человека), *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* и др.

- **Биохимические свойства:**  
осуществляют ферментацию углеводов (лактозу, глюкозу, мальтозу), не разлагают индол, выделяют аммиак

# Окраска по Грамму

Мазок чистой культуры  
*S.aureus*

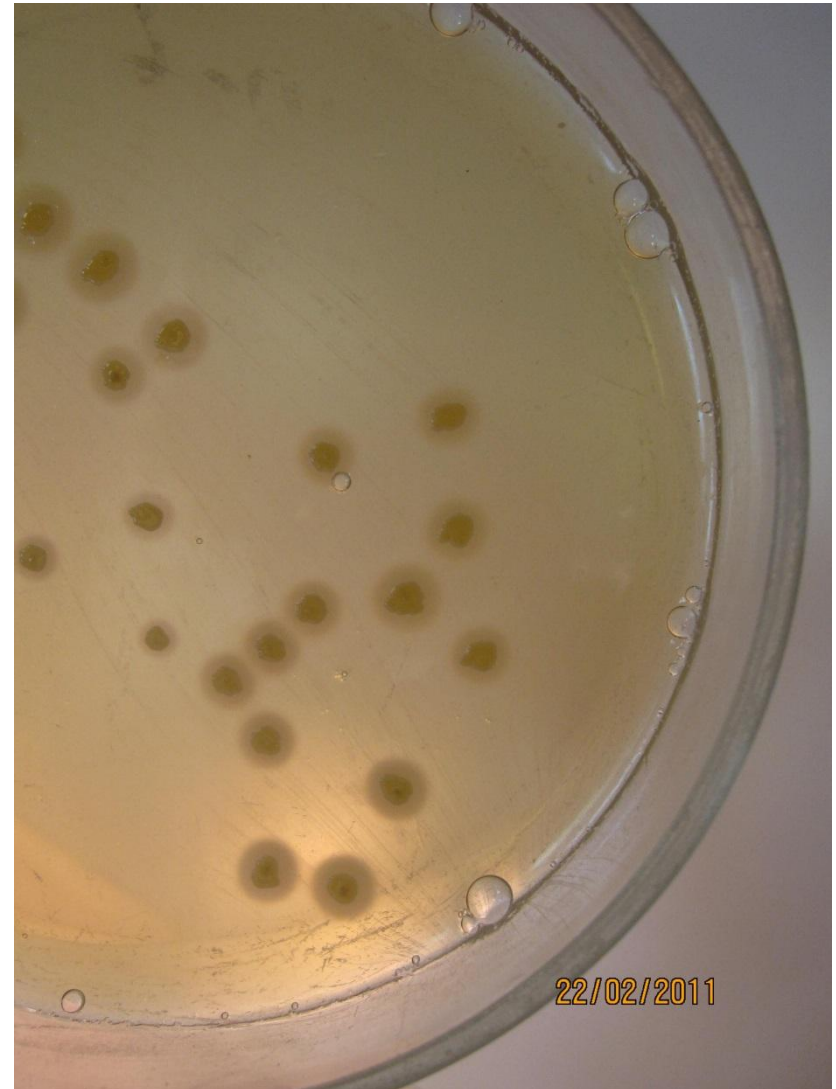


Грамположительные  
круглые кокки диаметром  
1мкм, располагающиеся в  
чистой культуре в виде  
скоплений,  
напоминающих  
виноградные гроздья, а в  
патологическом  
материале -  
небольшими скоплениями  
кокков. Неподвижны.  
Красятся всеми  
анилиновыми красками.

# Культуральные свойства

## ЖСА – элективна *S.aureus* среда

Высокое содержание натрия хлорида подавляет большинство бактерий, а присутствие яичного желтка выявляет свойственный этому роду фермент лецитиназу. При росте на желточно-солевом агаре вокруг колоний *S.aureus* образуются радужные венчики.



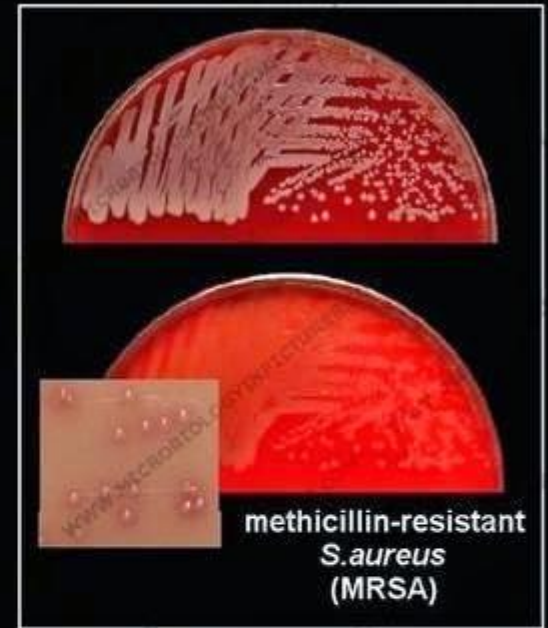
# Кровяной агар

©

www.microbiologyinpictures.com



Columbia agar with 5% sheep blood, 24 h., 37°C



methicillin-resistant  
*S.aureus*  
(MRSA)



Hans N.



beta-hemolysis



*Staphylococcus aureus*

production of the golden-yellow pigment staphyloxanthin

# Классификация стафилококков

Признак	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Плазмокоагулаза	+	-	-
Анаэробное сбраживание	+	-	-
ДНК-аза	+	-	-
Чувствительность к новобиоцину	+	+	-
Роль в патологии человека	Вызывает гнойные процессы в органах и тканях	Вызывает сепсис, гнойные инфекции мочевыводящих путей, эндокардит, конъюнктивит	Острый цистит, уретрит

# Факторы вирулентности *Staphylococcus aureus*

## ФЕРМЕНТЫ

- **Плазмокоагулаза (коагулаза)**-Конверсия фибриногена в фибрин, препятствующего контакту с фагоцитами ("псевдокапсула")
- **Гиалуронидаза**- Разрушение соединительной ткани
- **Липазы** - Гидролиз липидов
- **Стафилокиназа (фибринолизин)** -Разрушение фибриновых сгустков
- **Дезоксирибонуклеаза** -Расщепление ДНК, разжижение гноя
- ДРУГИЕ КОМПОНЕНТЫ:
- **Каратиноидные пигменты**- Инактивация бактерицидных форм кислорода. Устойчивость к NaCl, жирным кислотам. Размножение в потовых и сальных железах

# Факторы вирулентности *Staphylococcus aureus*

## Токсины

- **Альфа-, бета-, гамма-, дельта-токсины, лейкоцидин-**Токсичны для многих клеток, включая лейкоциты, эритроциты, макрофаги и фибробласты
- **Альфа-токсин** - пример порообразующего токсина.
- **Эксфолиативный токсин-** Вызывает синдром "ошпаренной кожи", разрушая межклеточные контакты - десмосомы в гранулярном слое эпидермиса. [Суперантиген](#) (поликлональная активация Т-лимфоцитов, стимуляция продукции цитокинов)
- **Токсин синдрома токсического шока** -Нейротропные, вазотропные эффекты. Суперантиген.
- **Энтеротоксины (А - Е)** - Нейротропные эффекты, действие на энтероциты (стафилококковая пищевая интоксикация). Суперантиген



# Стрептококки

**Семейство** – Streptococcaceae содержит 7 родов.

**Род** – Streptococcus включает 21 вид, в том числе -

**Виды**– S. pyogenes, S. pneumoniae, S. faecalis, S. agalactiae и др.

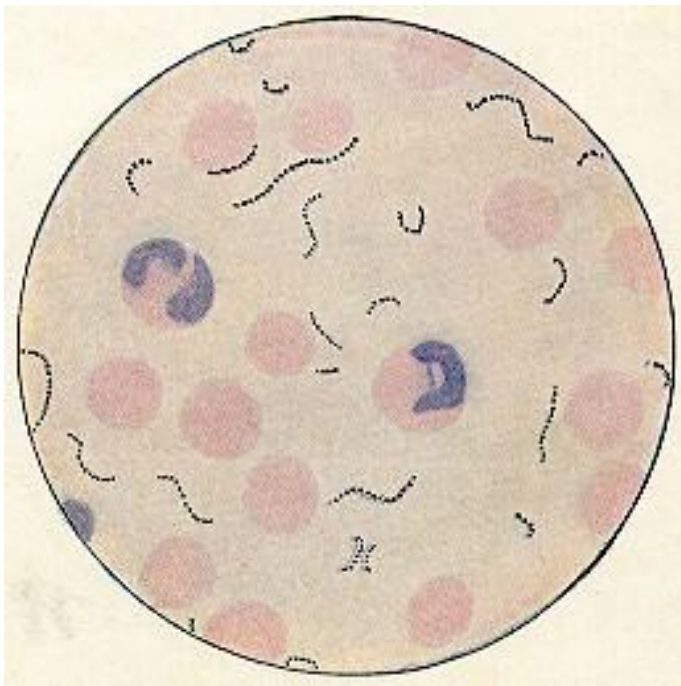
## ***Биохимические свойства.***

Ферментативная активность неодинакова: наименьшей биохимической активностью обладают наиболее патогенные стрептококки. Они ферментируют ряд углеводов (глюкозу, лактозу, манит, мальтозу) с образованием кислоты без газа. Однако ферментация углеводов не является стабильным и четким признаком, поэтому не используется для дифференциации и идентификации стрептококков. Стрептококки обладают слабой протеолитической активностью, в частности не

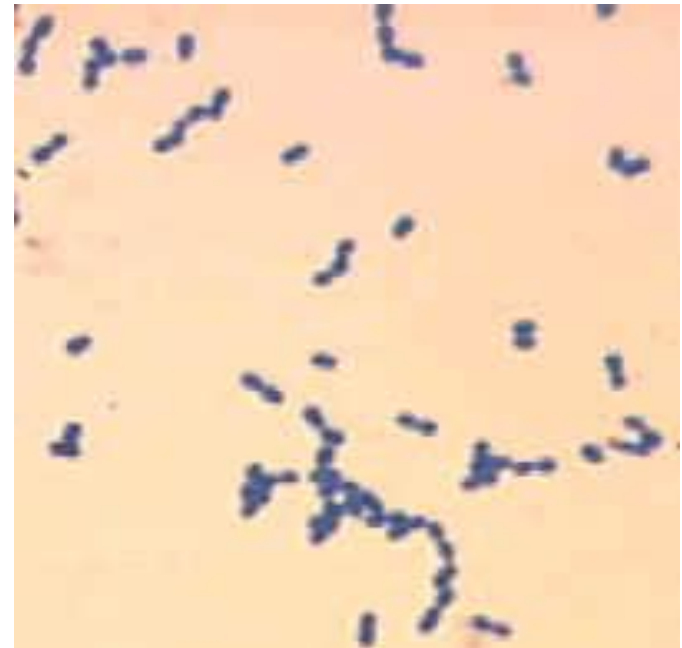
# Морфологические свойства

**Стрептококки** - кокки неправильной круглой формы, располагающиеся в виде цепочек или попарно, размеры 0,5-2,0 мкм. Неподвижны, спор не имеют, некоторые образуют капсулы. Грамположительные, факультативные анаэробы

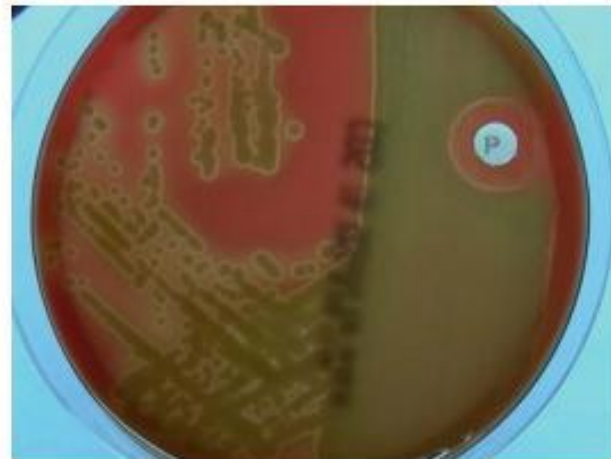
**Стрептококк в гное.** Окраска по Граму



**Streptococcus pyogenes.** Чистая культура. Окраска метиленовым синим.



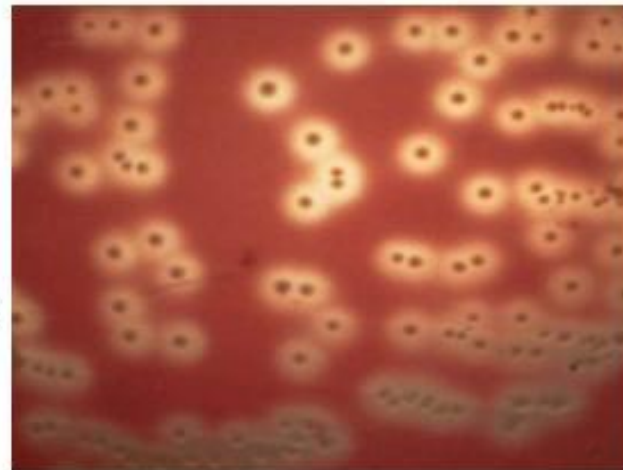
# Кровяной агар для определения гемолитической активности стрептококков



$\alpha$  - гемолиз



$\gamma$  - гемолиз,  
без гемолиза



$\beta$ -гемолиз

Группы стрептококков	Основные виды	Гемолиз	Роль в патологии человека
Энтерококки	<i>S. fecalis</i> <i>S. faecium</i>	Альфа гемолиз, зеленение среды	Эндокардиты, ГСИ, пищевые отравления, токсикоинфекции
Пневмококки	<i>S. pneumoniae</i>	Альфа гемолиз	Пневмонии, менингиты
Зеленящие стафилококки	<i>S. mitis</i> <i>S. mutans</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. sanguinis</i>	гамма гемолиз, альфа гемолиз	ГСИ, кариес

# Упрощенная классификация СТРЕПТОКОККОВ

Группы стрептококков	Основные виды	Гемолиз	Серогруппа по Ленсфильд	Роль в патологии человека
Стрептококки группы А	<i>S. pyogenes</i>	Бета гемолиз	А	Тонзиллиты, скарлатина, рожа, ГСИ, ревматизм,
Стрептококки группы В	<i>S. agalacticae</i>	Альфа и бета гемолиз	В	Сепсис новорожденных менингит

# Факторы вирулентности стрептококков.

- **Капсула** - антифагоцитарная активность
- **М-белок** - антифагоцитарная активность, разрушает С3b-компонент комплемента.
- **F-протеин** опосредует прикрепление стрептококка к эпителиальным клеткам
- **Пирогенные экзотоксины (эритрогенины)** -обладают пирогенным эффектом, усиливают гиперчувствительность замедленного типа и чувствительность к эндотоксину, иммуносупрессивный эффект на функции В-лимфоцитов, появление сыпи.
- **стрептолизин S** - разрушает лейкоциты, тромбоциты и эритроциты; стимулирует освобождение лизосомальных ферментов; не иммуногенен.
- **Стрептолизин O** - разрушает лейкоциты, тромбоциты и эритроциты; стимулирует освобождение лизосомальных ферментов; иммуногенен
- **Стрептокиназа** - разрушает кровяные сгустки (тромбы), облегчает распространение бактерий в тканях
- **ДНК-аза**- деполимеризует внеклеточную ДНК в гное

# Лабораторная диагностика стрептококков

**Биоптат:** слизь с рото- и носоглотки, гной, раневое содержимое, кровь, мокрота, моча.

**Посевы** на сахарный бульон и кровяной агар.

Выделенные чистые культуры идентифицируют по их морфологическим признакам, характеру гемолиза, биохимической активности, что дает возможность определить отдельные виды.

Обязательно исследуют чувствительность к антибиотикам.

# Питательные среды для посева крови

Двухфазная среда

(МПБ+глюкоза+МП  
А)



Сахарный  
бульен  
(МПБ+глюкоза)



## Среды для посева облигатно анаэробных бактерий



Тиогликолевая  
среда



# Схема исследования отделяемого из раны

## 1 этап.

А) Микроскопия мазка по Граму

Б) Посев на питательные

Среда среды	Для выделения каких микроорганизмов используется
Кровяной агар	Грам+ бактерии, стрептококки, стафилококки и др.
Сахарный бульен	Стрептококки
ЖСА	Стафилококки
Солевой бульен	Элективная среда ля стафилококков

## 2 этап.

Выделение чистой культуры

## 3 этап.

Определение антиотикорезистентности

# Диагностика пневмококковой инфекции

Пневмококк в мокроте.  
Окраска по Граму



Пневмококк в органах мыши



Рост пневмококка на кровяном агаре



# Микробиологическая характеристика грамотрицательных кокков

Цель занятия: Изучить микробиологические особенности возбудителей менингококковой и гонококковой инфекций, а также методы их диагностики.

# Семейство Neisseriaceae

Род *Neisseria*

Вид *Neisseria meningitidis*

**Менингококки** - мелкие до 1мкм диплококки, располагающиеся в виде пары кофейных зерен, обращенных вогнутыми поверхностями друг к другу. Неподвижны, грамотрицательны, спор не образуют, имеют пили, микрокапсулу; капсула непостоянна.

**Аэробы. Повышенная концентрация CO<sub>2</sub> стимулирует рост менингококков.**

По капсульным полисахаридным антигенам менингококки делят на основные серогруппы А, В, С, D и дополнительные X, Y, Z, W-135, 129 и др. (всего 13 серогрупп).

По антигенам клеточной стенки менингококки разделяются на серовары 1, 2, 3 и так далее.

**Наиболее частыми возбудителями менингококковых инфекций являются представители серогрупп А, В, С, X, Y и W-135.**

## Биохимические свойства

- Глюкозу, мальтозу ферментируют до кислоты
- Индол, сероводород не выделяют
- Желатин не разжижают

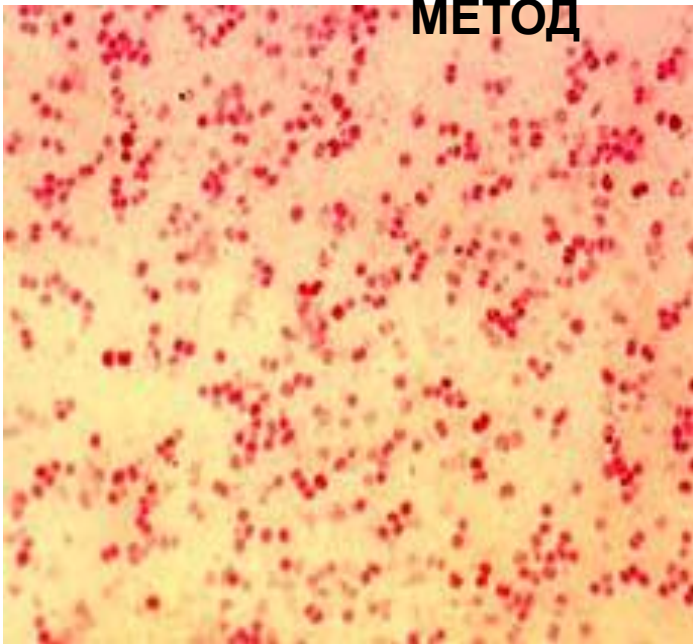
**Neisseria** вызывают **менингококковую инфекцию**, характеризующуюся поражением слизистой оболочки носоглотки, оболочек головного мозга, септицемией, бактерионосительством.

- Человек - единственный природный хозяин менингококков.
- Путь передачи - воздушно-капельный.
- Необходимо дифференцировать патогенные менингококки от других видов нейссерий (*N. sicca* и *N. mucosa*), являющихся комменсалами ротоглотки

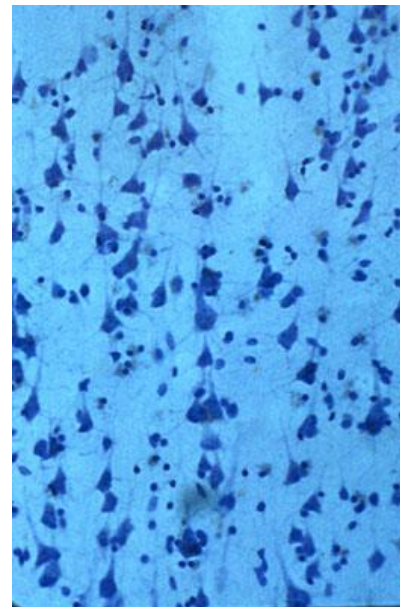
# Лабораторная диагностика менингококкового менингита

- Исследуемый материал – носоглоточная СЛИЗЬ

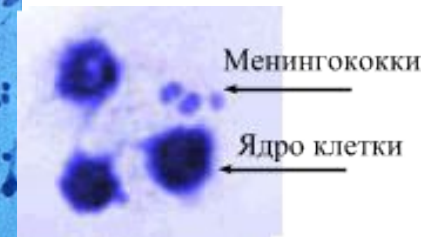
## БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД



Чистая культура  
*Neisseria meningitidis*.  
Окраска по Граму

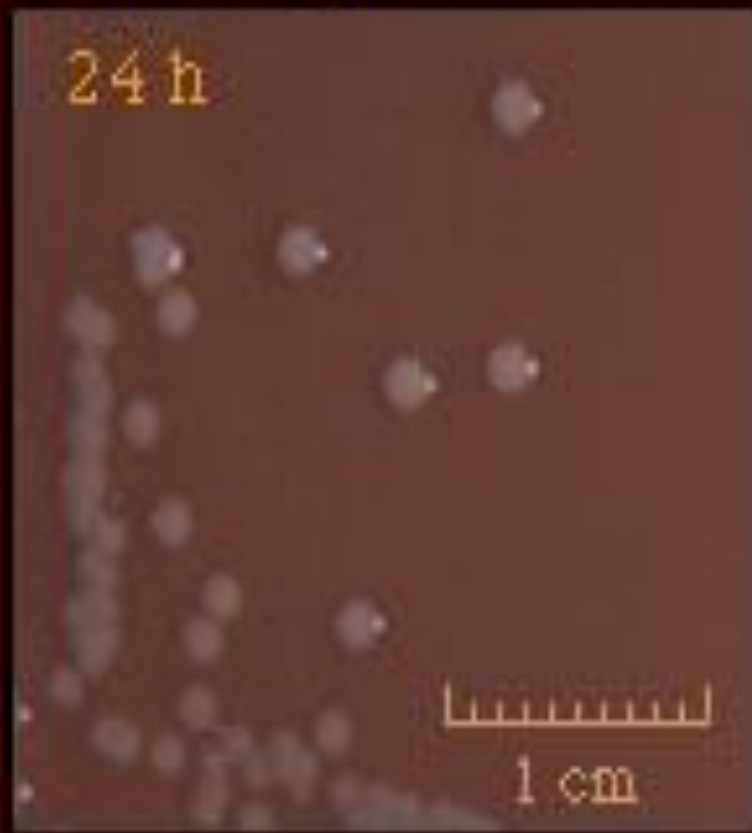


Мазок из спинномозговой жидкости при  
эпидемическом цереброспинальном  
менингите. Окраска метиленовым синим.

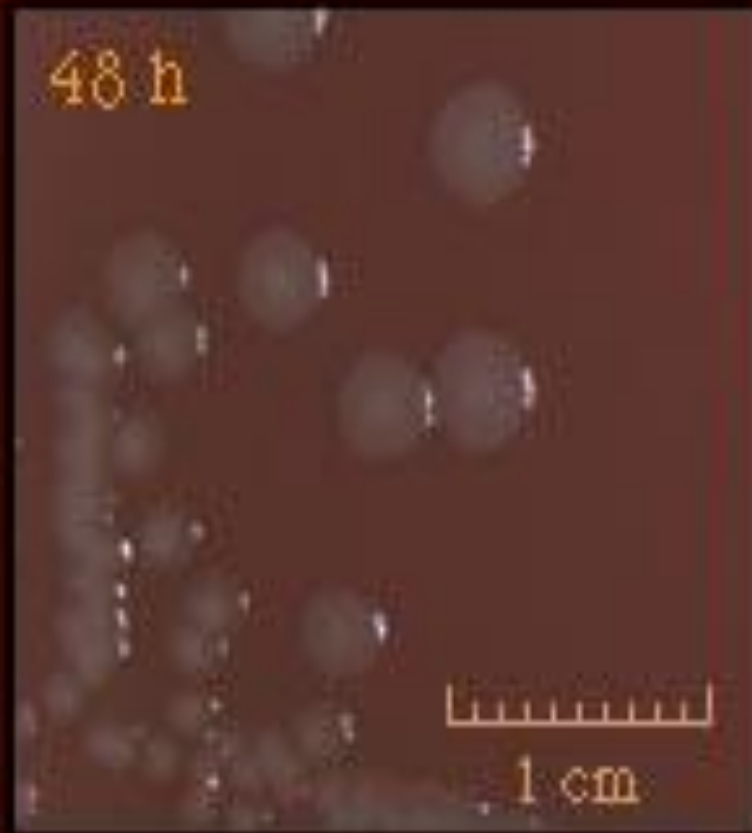


# *N. meningitidis*

24 h



48 h



*N. meningitidis* рост на шоколадном агаре



Чистая культура *Neisseria meningitidis*. Рост на сывороточном агаре.



# БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ МЕТОД

1. Посев на сывороточный агар с мальтозой, кровяной агар.
2. Инкубация посевов в атмосфере CO<sub>2</sub>
3. Выделение чистой культуры

Биохимические свойства:

	Глюкоза	Лактоза	Мальтоза	Сахароза
<b><i>N. meningitidis</i></b>	+	-	+	-
<b><i>N. gonorrhoeae</i></b>	+	-	-	-

# Лабораторная диагностика менингококкового бактерионосительства

- Исследуемый материал: носоглоточная слизь, ликвор, кровь, гной с мозговых оболочек, экссудат геморрагической сыпи на коже.
- Посев исследуемого материала на сывороточный агар с мальтозой и ристомицетином, с последующим выделением чистой культуры.

# Лабораторная диагностика гонореи

Семейство Neisseriaceae

Род Neisseria

Вид *N. gonorrhoea*

**Биохимические свойства:**

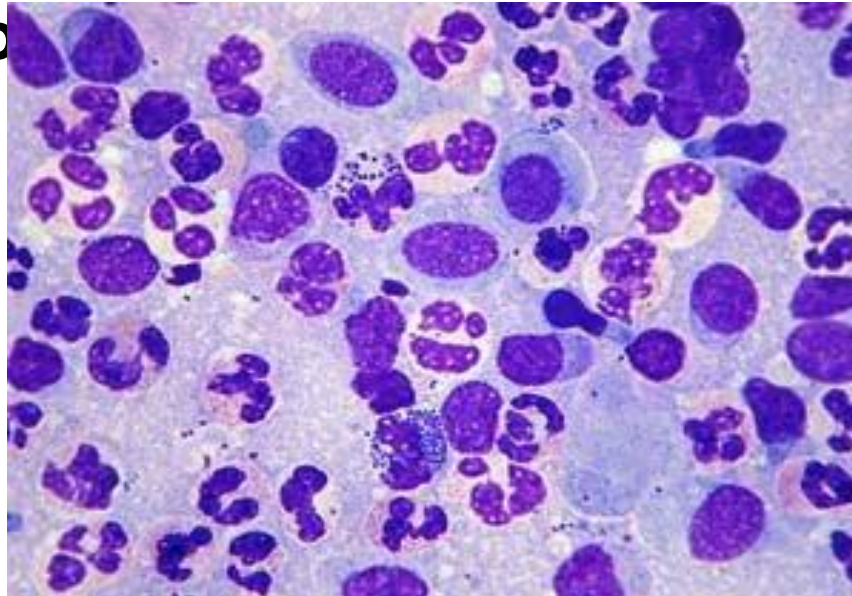
Слабо выражены ферментируют глюкозу.

**Культуральные свойства:**

Аэробы, рост на воздухе в обогащённом CO<sub>2</sub>, с добавлением крови, асцитической жидкости.



- Исследуемый материал (гной из уретры) красят по Граму и Леффлеру.
- При положительном результате в поле зрения препарата видны многочисленные лейкоциты и диплококки бобовидной формы, расположенные преимущественно внутри лейкоцитов

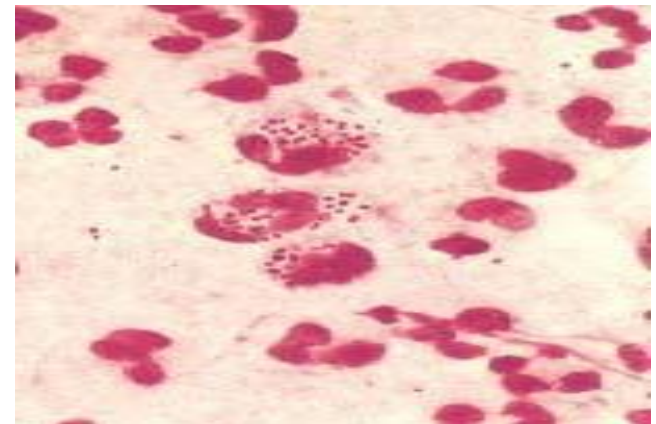
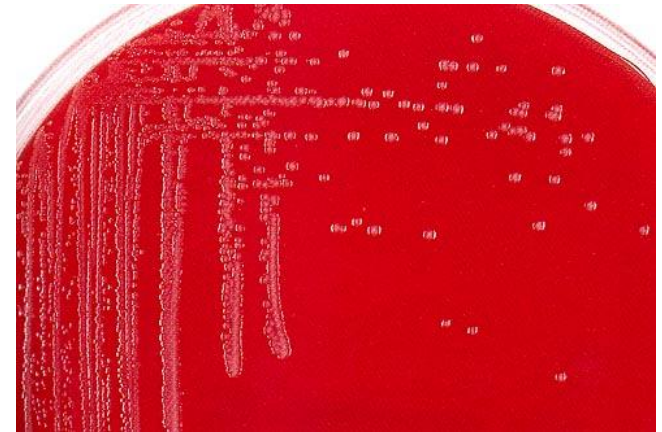


- При свежей острой гонорее этот метод является окончательным.

# Бактериологический метод

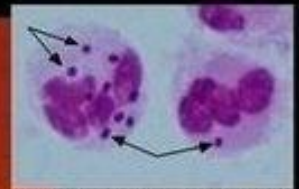
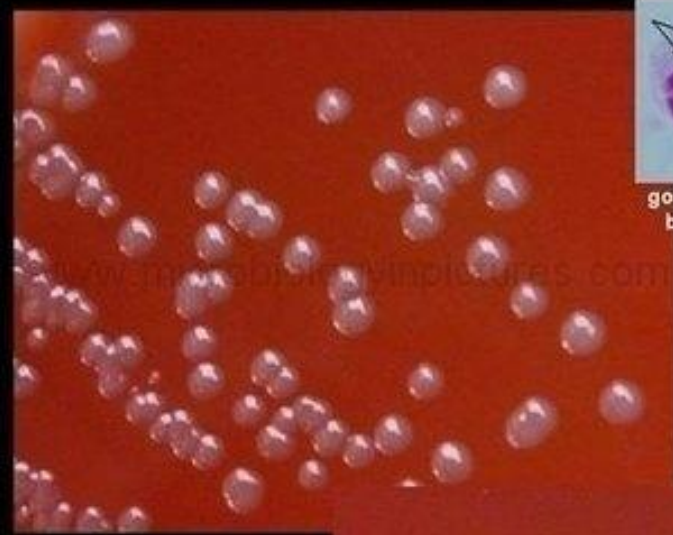
1. Исследуемый материал засевают на селективные питательными средами в чашки Петри, инкубируют при 37 С в атмосфере 10% CO<sub>2</sub> 2-5 суток. Выросшие колонии напоминают капли росы (вирулентные штаммы).

2. Далее получают чистую культуру, которую идентифицируют по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам, определяют чувствительность к антибиотикам.



**Гонококки (окраска по Грамму)**

©



gonococci phagocytosed by polymorphonuclear leukocytes (PMN's)



**BIOCHEMICAL TESTS FOR *Neisseria gonorrhoeae***

neg. contr. GLU MLT FRU SUC GGT TRB SPS



POSITIVE OXIDASE TEST



Hans N.

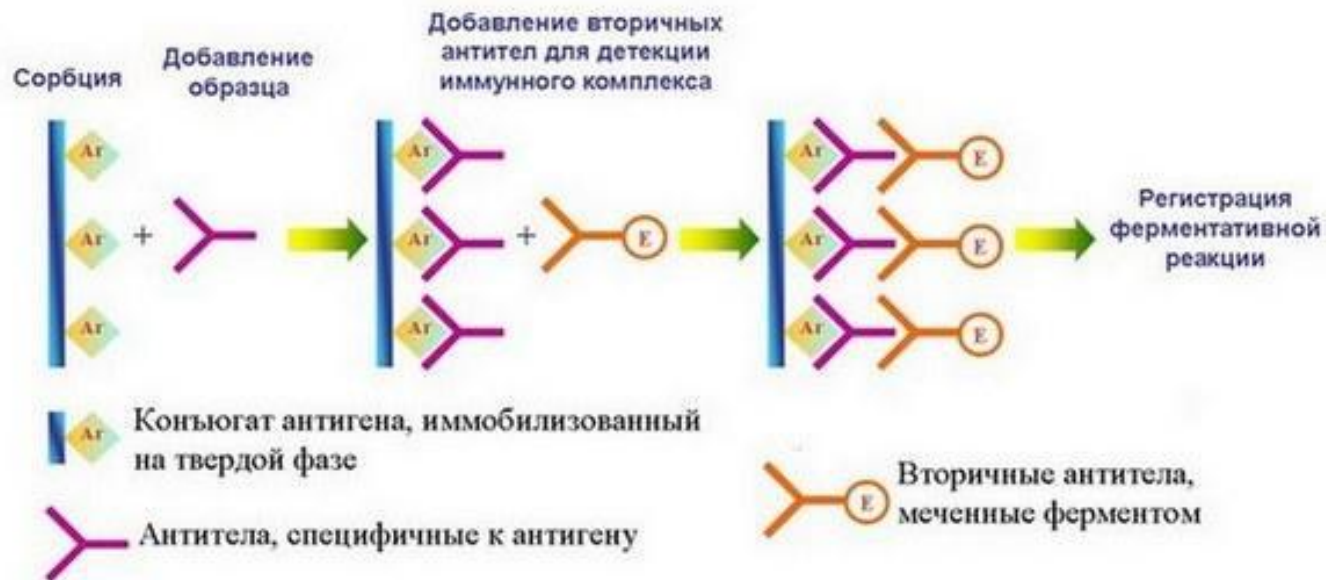
⊕ - - - - -

*Neisseria gonorrhoeae*  
cultivation 48 hours, 37°C, 5% CO<sub>2</sub>

# Индикация гоноантигена

Набор реагентов для выявления возбудителя *Neisseria Gonorrhoeae* в моче, соскобах со слизистых человека.

Метод: твердофазный непрямой иммуноферментный анализ.



# Реакция Борде-Жангу

В РСК участвуют 2 системы: основная система — испытуемая сыворотка, антиген, комплемент и вспомогательная, индикаторная или гемолитическая система — гемолитическая сыворотка и эритроциты барана.

Если в первой системе образуются специфический комплекс антиген + антитело, то комплемент адсорбируется (соединяется с этим комплек





# Для реакции требуется:

1. Испытуемая сыворотка, которая получается из крови, взятой пункцией локтевой вены больного. После свёртывания крови сыворотка отсасывается в отдельную пробирку и инактивируется 30 минут при 56 °С на водяной бане.
2. Антиген — взвесь убитых гонококков.
3. Эритроциты барана получают из стерильно взятой дефибринированной крови. Их отмывают, центрифугируя 3 раза с новыми порциями физиологического раствора. В реакции используют 3 %-ю взвесь эритроцитов.
4. Гемолитическая сыворотка готовится заранее путём иммунизации кроликов эритроцитами барана. Перед употреблением производится титрование сыворотки.
5. Комплемент — свежая сыворотка морской свинки. Из сердца морской свинки шприцем насасывается кровь, после свёртывания отделяется сыворотка. Перед опытом вытитровывается рабочая доза комплемента. Для этого берут основное разведение комплемента 1:10 и разливают его по пробиркам от 0.1 до 0,5, после чего объем в каждой пробирке доводят физиологическим раствором до 1,5 мл.