Микробиологическая характеристика и лабораторная диагностика стафилококковых и стрептококковых инфекций

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

Стафилококки

семейство Micrococcaceae

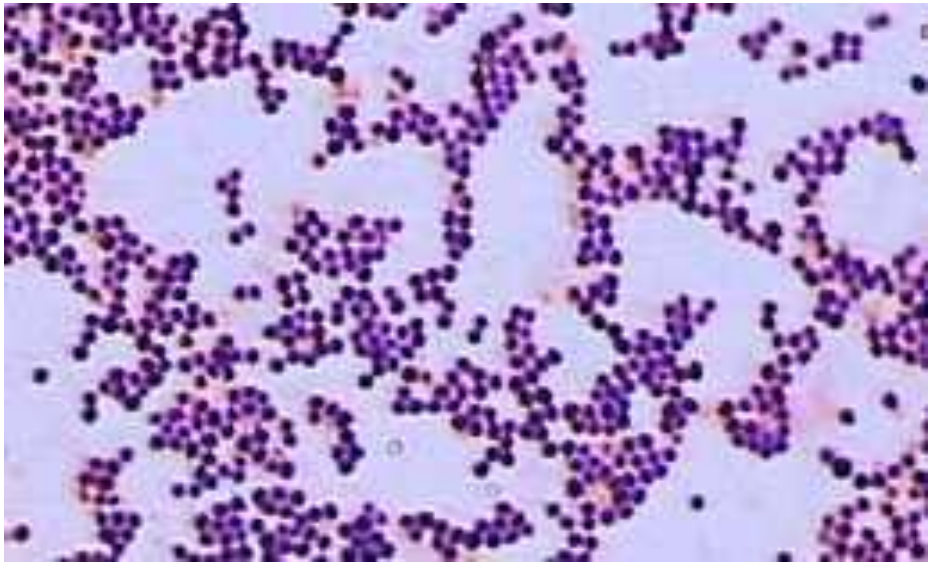
род Staphylococcus

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

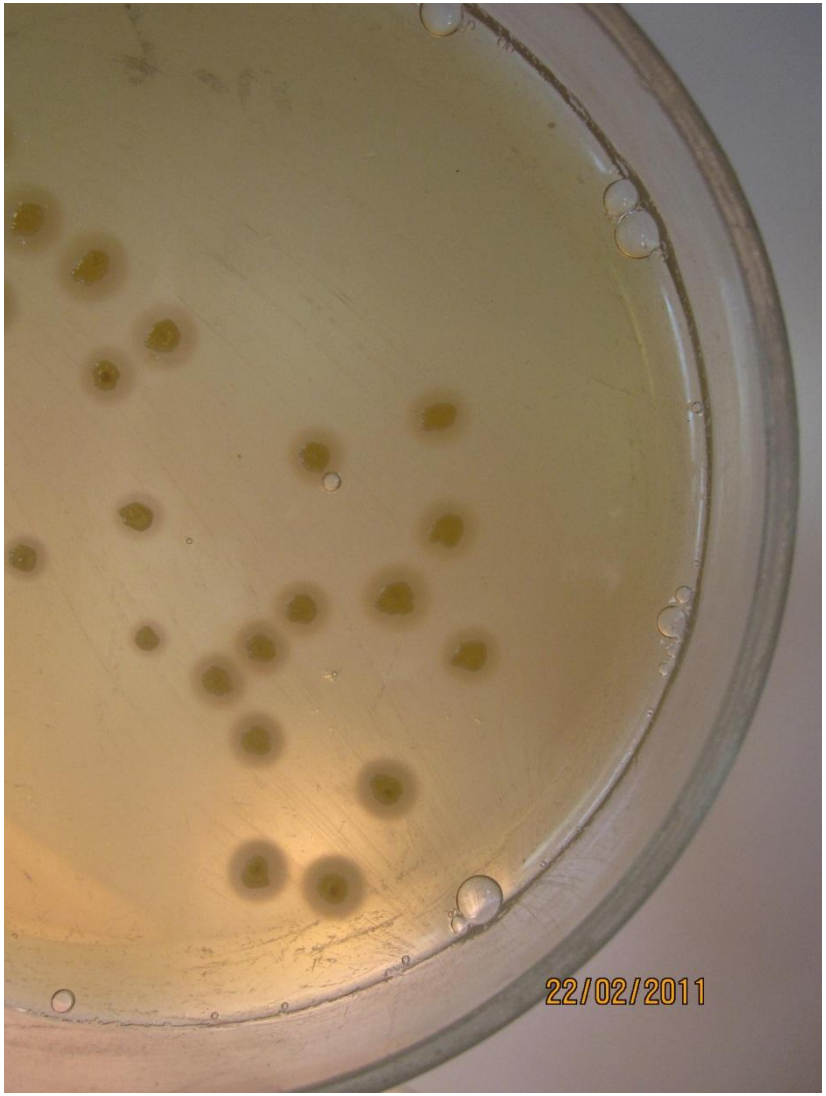


Грамположительные круглые кокки диаметром 1мкм, располагающиеся в чистой культуре в виде скоплений, напоминающих виноградные гроздья, а в патологическом материале - небольшими скоплениями кокков. Неподвижны. Красятся всеми анилиновыми красками.

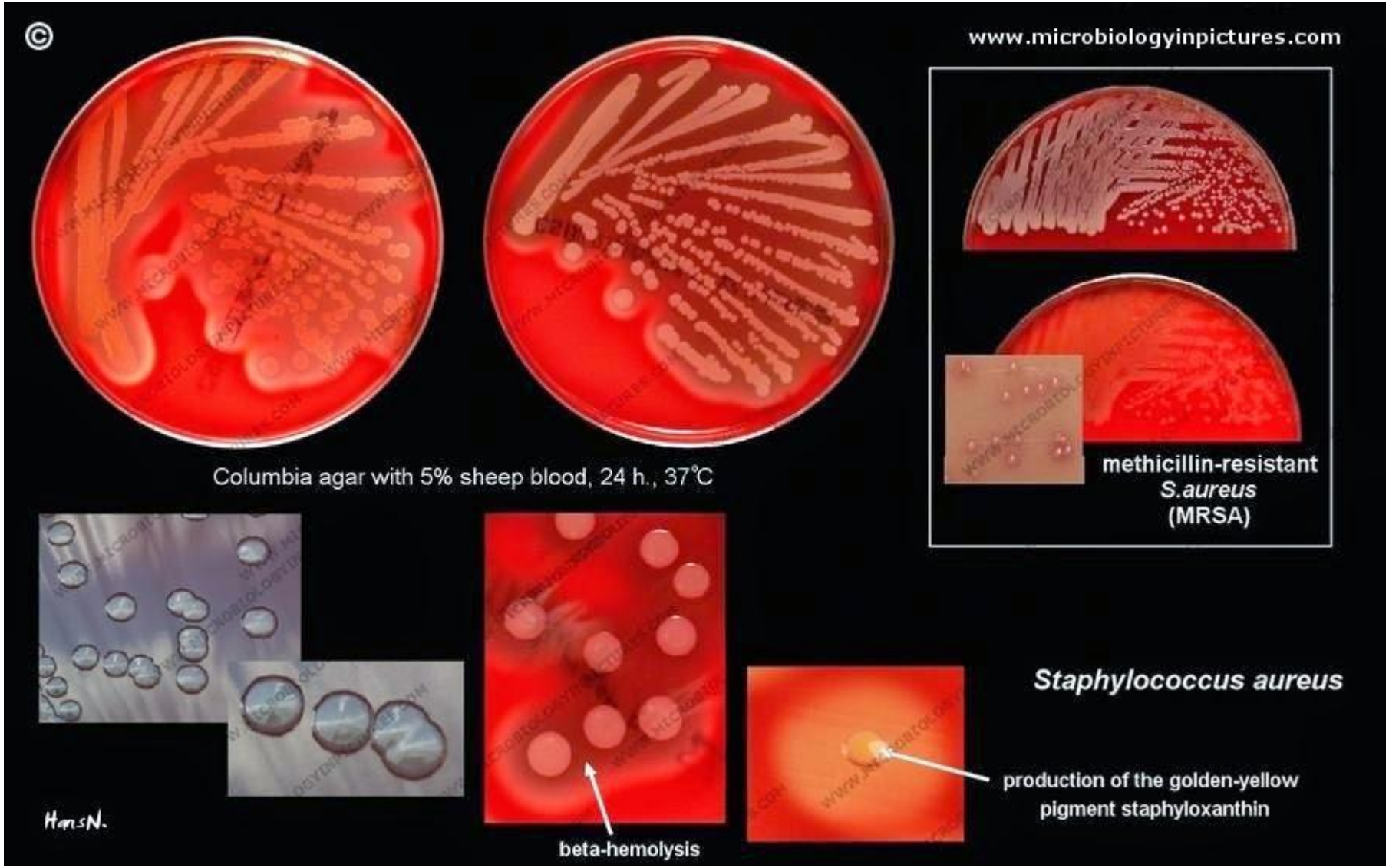
Культуральные свойства S.aureus

ЖСА – элективная 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



Классификация стафилококков

Признак	S. aureus	S. epidermis	S. saprophyticus
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, коньюктевит	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.

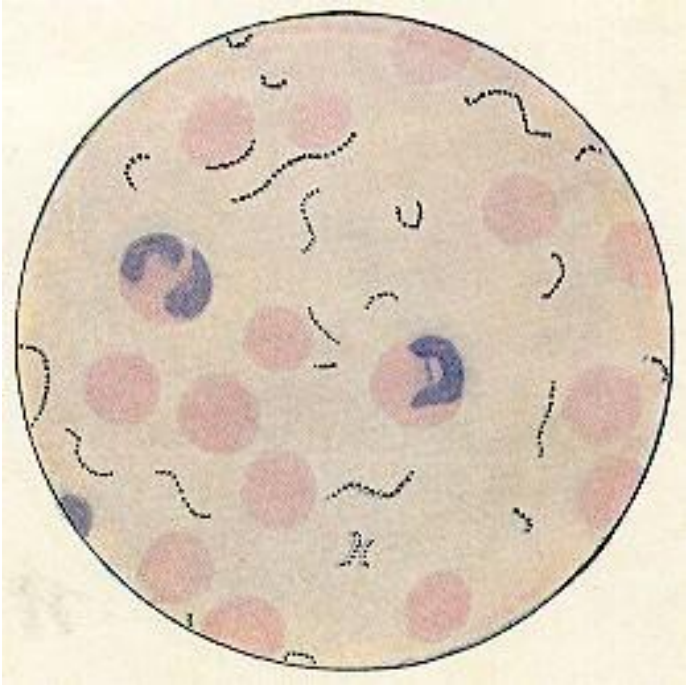
Биохимические свойства.

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

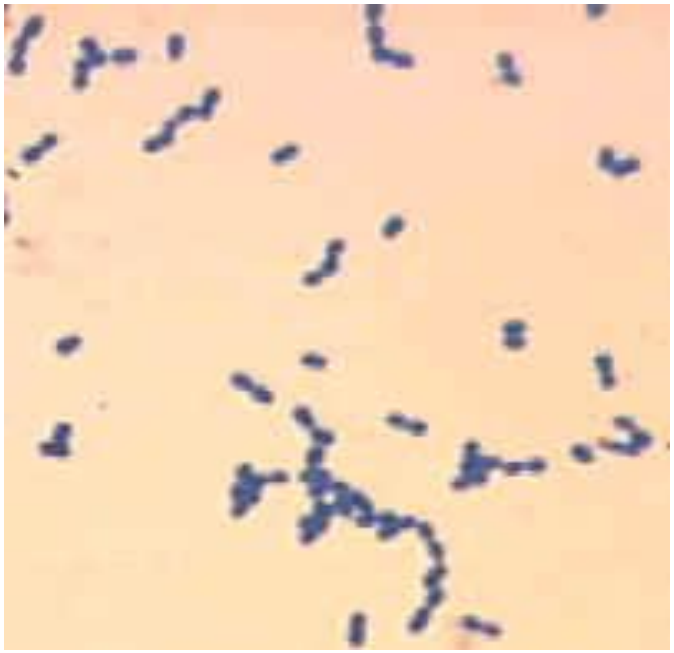
Морфологические свойства

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

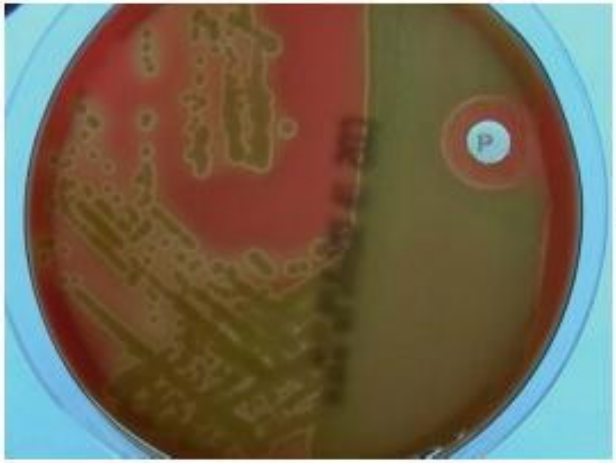
Стрептококк в гное. Окраска по Граму



Strepococcus pyogenes. Чистая культура. Окраска метиленовым синим.

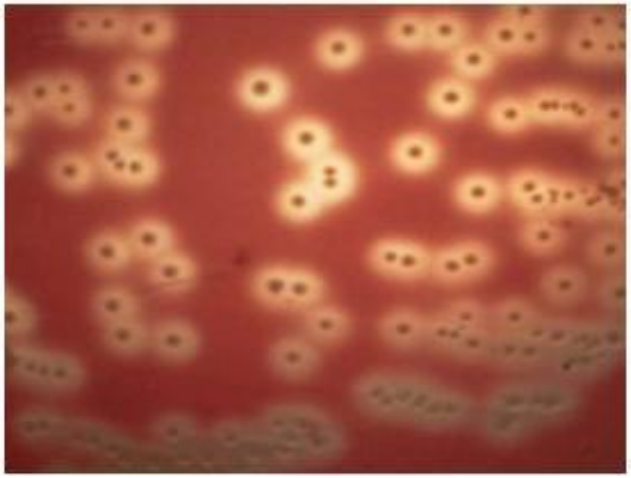


Кровяной агар для определения гемолитической активности стрептококков



α – гемолиз

γ – гемолиз,
без гемолиза



β-гемолиз

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

Упрощенная классификация стрептококков

Группы стрептококков	Оснвные виды	Гемолиз	Серогруппа по Ленсфильд	Роль ав патологии человека
Стрептококки группы А	S. pyogenes	Бета гемолиз	А	Тонзилиты, скарлатина, рожа, ГСИ, ревматизм,
Стрептококки группы В	S. agalacticae	Альфа и бета гемолиз	В	Сепсис новорожденных менингит

Факторы вирулентности стрептококков.

- **Капсула** - антифагоцитарная активность
- **М-белок** - антифагоцитарная активность, разрушает C3b-компонент комплемента.
- **F-протеин** опосредует прикрепление стрептококка к эпителиальным клеткам
- **Пирогенные экзотоксины** (**эритрогенины**) -обладают пирогенным эффектом, усиливают гиперчувстивительность 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 О** - 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+МПА)

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 среды

Среда	**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 антииотикорезистентности

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_2 стимулирует рост менингококков.

По капсульным полисахаридным антигенам менингококки делят на основные серогруппы A, B, C, 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 A, B, C, 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.

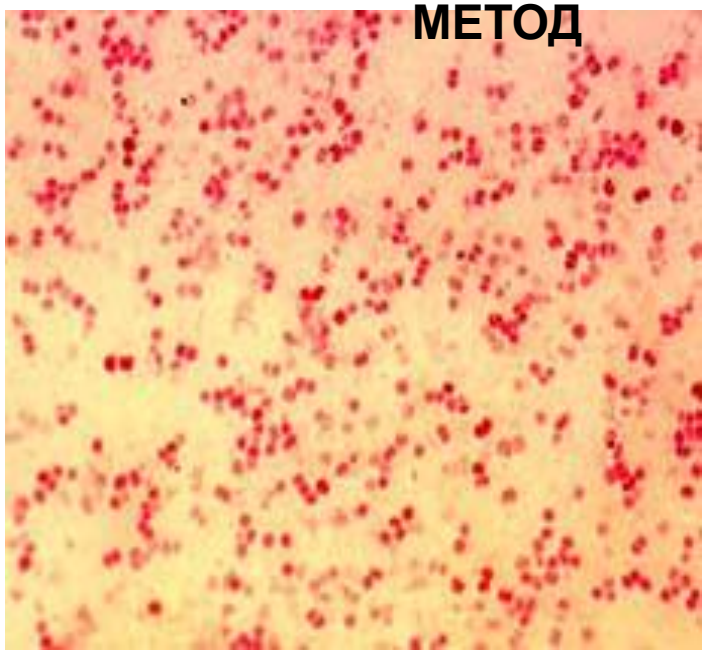
- Человек - единственный природный хозяин менингококков.
- Путь передачи - воздушно-капельный.

- Необходимо дифференцировать патогенные менингококки от других видов нейссерий (N. sicca и N. mycosa), являющихся комменсалами ротоглотки

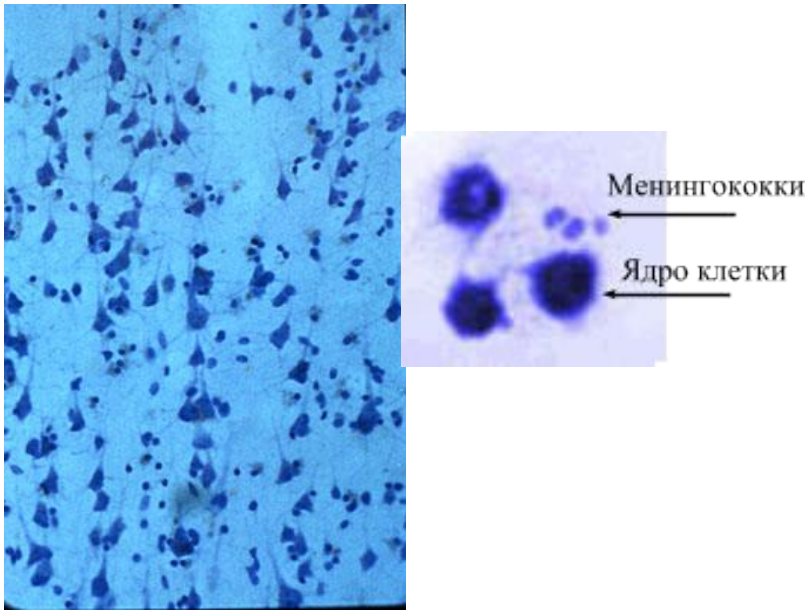
Лабораторная диагностика менингококкового менингита

- Исследуемы материал – носоглоточная слизь

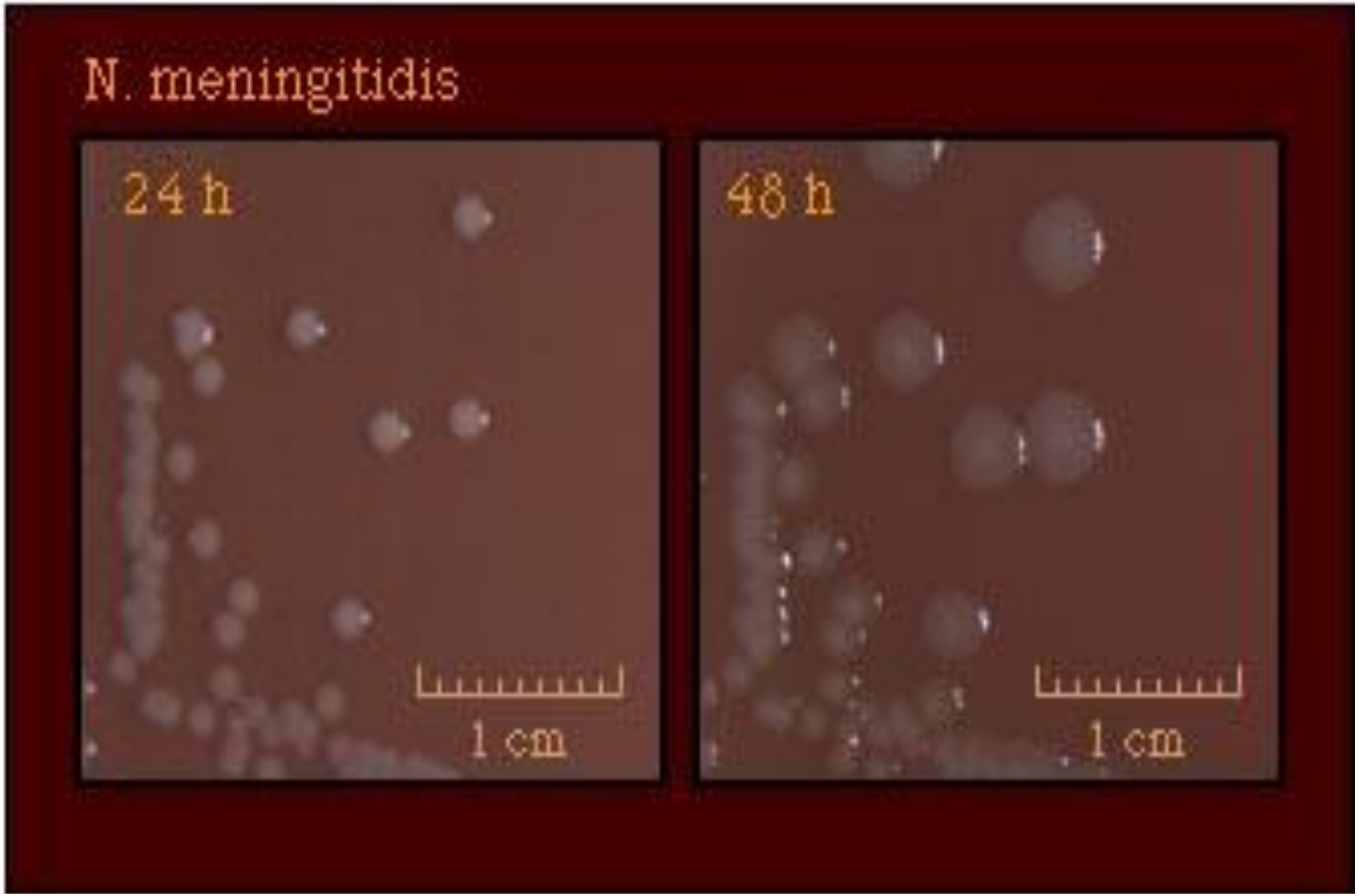
БАКТЕРИОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД



Чистая культура Neisseria meningitidis. Окраска по Граму



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



N. meningitidis рост на шоколадном агаре

Чистая культура Neisseria meningitidis. Рост на сывороточном агаре.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕКИЙ МЕТОД

1. Посев на сывороточный агар с мальтозой, кровяной агар.
2. Инкубация посевов в атмосфере CO_2
3. Выделение чистой культуры

Биохимические свойства:

	Глюкоза	**Лактоза**	**Мальтоза**	**Сахароза**
N. meningitidis	**+**	**-**	**+**	**-**
N. gonorrhoae	**+**	**-**	**-**	**-**

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 **Neisseriacea**

Род **Neisseria**

Вид **N. gonorrhoea**

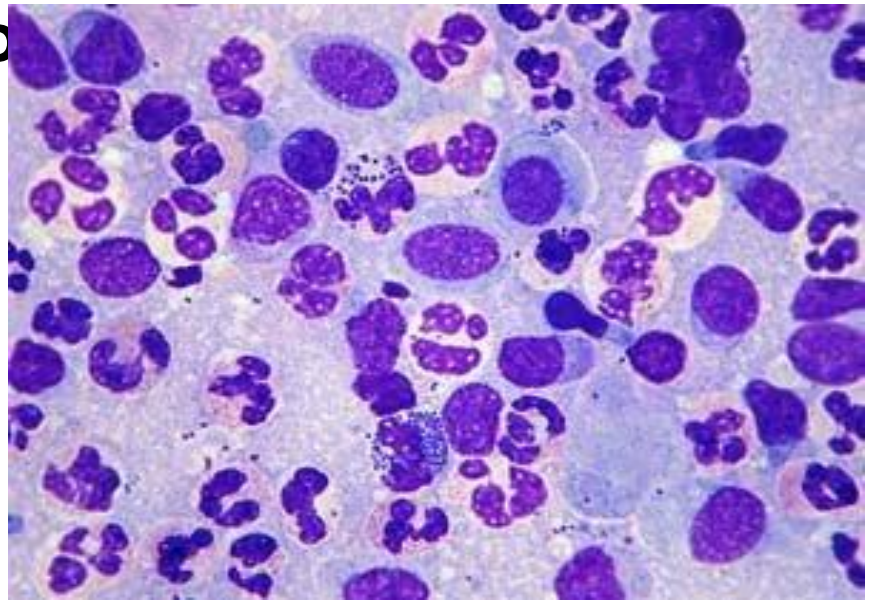
Биохимические свойства:

Слабо выражены ферментируют глюкозу.

Культуральные свойства:

Аэробы, рост на воздухе в обогащённом CO_2, с добавлением крови, асцитической жидкости.

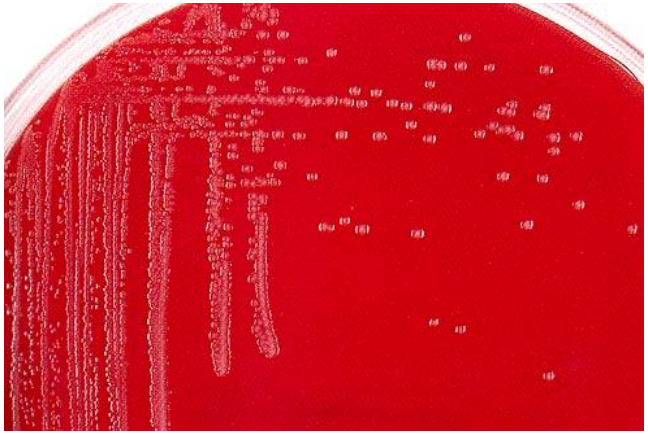
- **Исследуемый материал (гной из уретры) красят по Граму и Леффлеру.**
- **При положительном результате в поле зрения препарата видны многочисленные лейкоциты и диплококки бобовидной формы, расположенные преимущественно внутри лейкоцито**



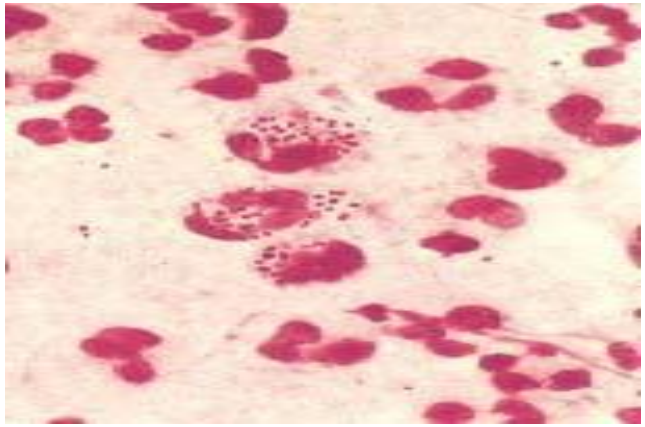
- ***При свежей острой гонореи этот метод является окончательным.***

Бактериологический метод

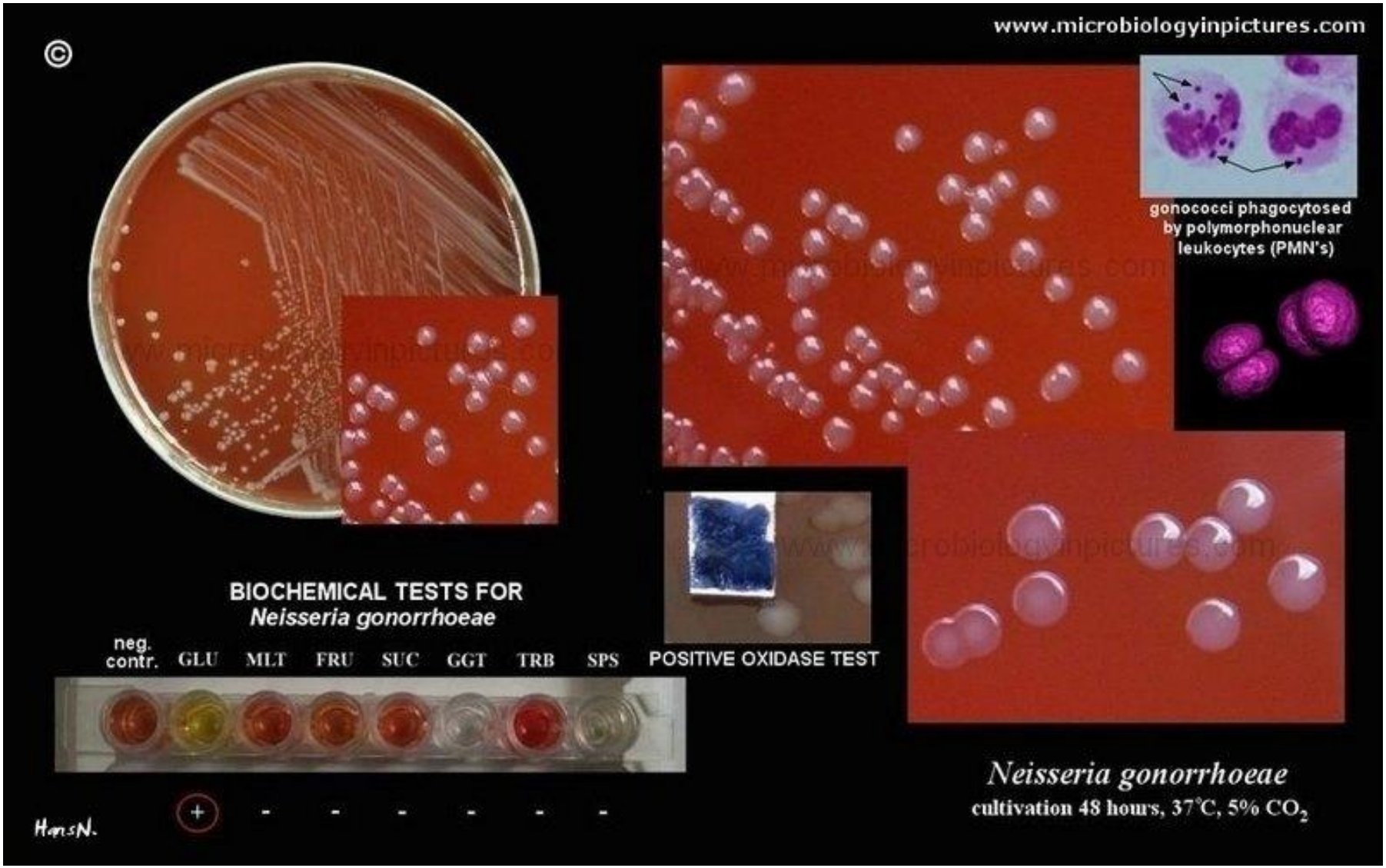
1. Исследуемый материал засевают на элективные питательными средами в чашки Петри, инкубируют при 37 С в атмосфере 10% CO_2 2-5 суток. Выросшие колонии напоминают капли росы (вирулентные штаммы).



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

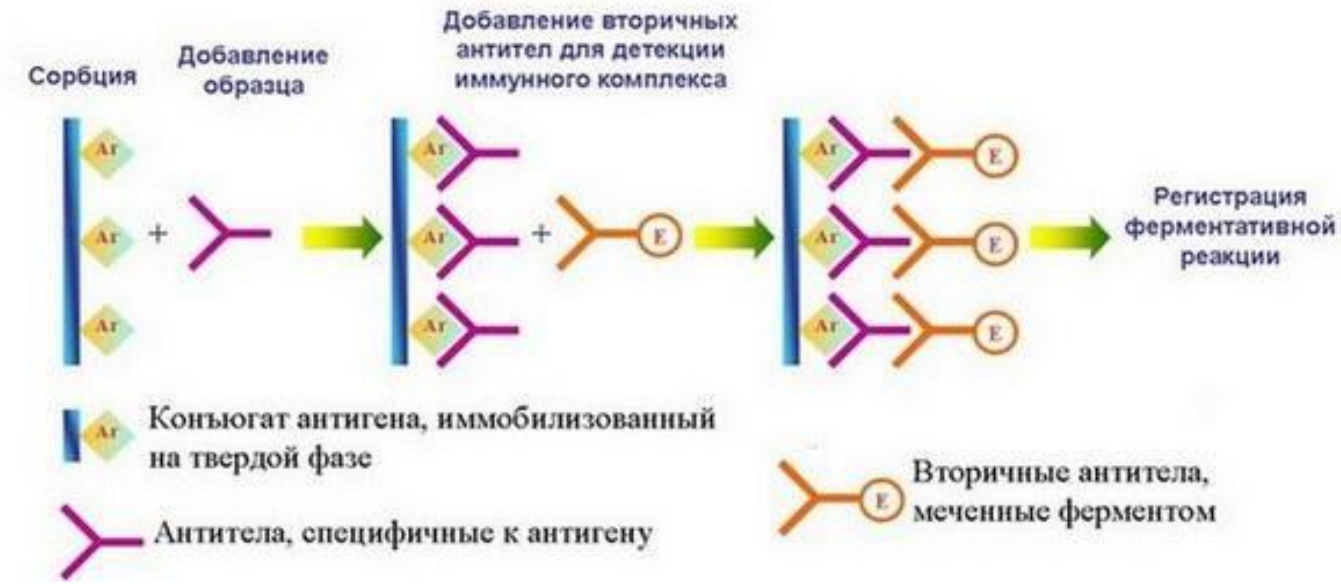


Гонококки (окраска по Грамму)


www.microbiologyinpictures.com
©
gonococci phagocytosed by polymorphonuclear leukocytes (PMN's)
BIOCHEMICAL TESTS FOR
Neisseria gonorrhoeae
neg. contr.
GLU
MLT
FRU
SUC
GGT
TRB
SPS
POSITIVE OXIDASE TEST
+
-
-
-
-
-
-
Neisseria gonorrhoeae
cultivation 48 hours, 37°C, 5% CO2
HansN.

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 инакти-вируется 30 минут при 56 °С на водяной бане.
2. Антиген — взвесь убитых гонококков.
3. Эритроциты барана получают из стерильно взятой де-фибринированной 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 вытитровы-вается 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.