

ПИОГЕННЫЕ КОККИ

(Лекция 8)

Лектор: *Захарова Ю.В.*, к.м.н., доцент
кафедры микробиологии, иммунологии и
вирусологии

*ФГБОУ ВО КеМГМУ
Кемерово, 2020 г.*

План лекции

Понятие пиогенные кокки, таксономия и классификация кокков, вызывающих ГВЗ.

Таксономия и биологические свойства стафилококков, эпидемиология, патогенез ГВЗ стафилококковой этиологии. Принципы лабораторной диагностики и профилактики инфекций.

Таксономия, классификация и биологические свойства стрептококков, эпидемиология, патогенез стрептококковых инфекций. Принципы лабораторной диагностики и профилактики инфекций.

Таксономия и биологические свойства пневмококков, эпидемиология, патогенез пневмококковых инфекций.

Систематическое положение и классификация патогенных для человека кокков

Грамположительные

Факультативно-анаэробные

Семейство *Staphylococcaceae*

род *Staphylococcus*

Семейство *Streptococcaceae*

род *Streptococcus*

Семейство *Enterococcaceae*

род *Enterococcus*

Анаэробные

Семейство *Peptostreptococcaceae*

род *Peptostreptococcus*

Семейство *Peptococcaceae*

род *Peptococcus*

Грамотрицательные

Факультативно-анаэробные

Семейство *Neisseriaceae*

род *Neisseria*

Анаэробные

Семейство *Veillonellaceae*

род *Veillonella*

СТАФИЛОКОККИ

(греч. *Staphylos* – гроздь, *coccus* – зерно)



Обнаружены

1878 – Р. Кох

1880 – Л. Пастер

Изучены

1884 – Ф. Розенбах – обнаружил 2 типа пигментированных колоний стафилококка:

S. aureus (золотистый) и *S. albus* (белый), позднее названный *S. epidermidis*

Таксономическое положение стафилококков

Домен **Bacteria**

Тип **Firmicutes**

Класс **Bacilli**

Порядок **Bacillales**

Семейство **Staphylococcaceae**

Род **Staphylococcus**

- ферментирует глюкозу в анаэробных условиях в
отличии от рода *Micrococcus*

Таксономическое положение стафилококков

По международной классификация Клоса-Шлейфера различают

Виды: более 30

Российская классификация Бэрда-Паркера:

- **S.aureus**
- **S.epidermidis**
- **S.saprophyticus**

Стафилококки: классификация по патогенности

- Коагулазо+ (3 вида)

S. aureus,

S. intermedius

S. hyicus (не все штаммы)

- Коагулазо- (26 видов)

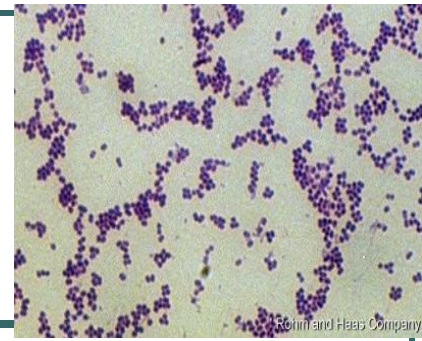
S. saprophyticus

S. hominis

S. haemolyticus

S. epidermidis

Стафилококки: свойства



- **морфологические:**

круглые грамположительные кокки, располагающиеся в мазке скоплениями в виде гроздьев винограда, спор и макрокапсул не образуют, неподвижны

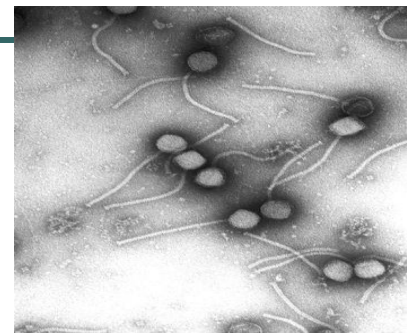
- **культуральные:**

растут на простых питательных средах при 37⁰С, образуют через сутки крупные пигментированные S-колонии; селективная среда – солевая (5 – 10 % NaCl)

- **биохимические:**

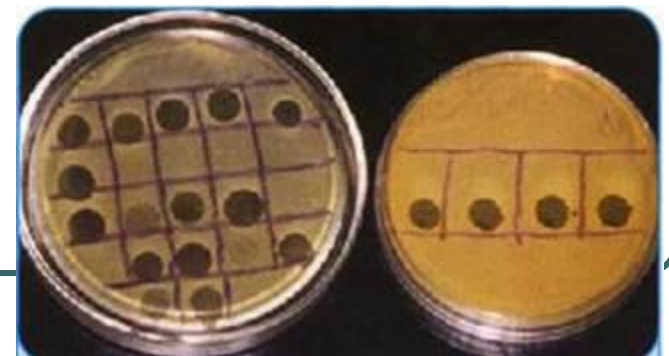
большой набор ферментов, S.aureus – коагулазоположительный

Стафилококки: свойства



- Внутривидовое разнообразие – фаговары (только для *S. aureus*)

Бактериофагам присвоены определенные номера, и штаммы стафилококка, лизирующиеся определенным фагом, имеют этот номер фага и обозначаются как соответствующий фаговар. Существуют международная классификация фаговаров *S. aureus*



Основные поверхностные антигены *S.aureus*

- **Пептидогликан (муреин, мукопептид, гликопептид)**

Функция: эндотоксиноподобная активность: пирогенность, обеспечение неспецифической резистентности, активация компонента. Сенсibiliзирующий эффект.

- **Капсула**

Функция: антифагоцитарное действие, стимуляция появления в сыворотке крови опсопинов и протективных антител.

Основные поверхностные антигены *S.aureus*

- **Тейхоевые кислоты**

Функция: сильный тимус-независимый антиген, активация комплемента, обладает видовой антигенной специфичностью.

- **Белок А**

Функция: свойства преципитиногена, агглютиногена благодаря неспецифическому взаимодействию с Fc-фрагментом сывороточных иммуноглобулинов и связывание комплемента.

Патогенетическая роль поверхностных факторов патогенности *S. aureus*

- **Пептидогликан (мурейн, мукопептид, гликопептид)** – воспалительные кожные реакции, повреждение внутренних органов, подавление фагоцитоза, торможение миграции макрофагов и нейтрофилов. Непатогенные феномены с потенциальной пользой для хозяина: противоопухолевая и митогенная активность.
- **Капсула** – обеспечение адгезии и распространение инфекта. Ингибиция фагоцитоза.

Патогенетическая роль поверхностных факторов патогенности *S.aureus*

- **Тейхоевые кислоты** – обеспечение взаимодействия с рецепторами эпителия слизистой оболочки.
- **Белок А** – повреждение тромбоцитов крови (повышенная свертываемость крови, развитие воспалительных тромбоземболических реакций), ингибция фагоцитоза, иммунологическая маскировка инфекта и развитие местных и системных реакций (феномен Артюса, анафилаксия), антимитогенное действие.

Факторы, способствующие адгезии стафилококка к тканям

- **Clumping-фактор.** фибриноген-связывающий фактор, в конечном итоге индуцирующий агрегацию тромбоцитов.
- **CAN-белок.** коллаген-связывающий фактор, продуцируется не всеми штаммами (всегда участвует в патогенезе остеомиелита и септического артрита)

Факторы, способствующие адгезии стафилококка к тканям

- **Eap.** высокоаффинный к экстрацеллюлярным белкам (фибронектин, фибриноген) ответственный за прикрепление к клетке; угнетает клеточный иммунитет.
- **Ebp-белки (elastin-binding proteins).** эластин-связывающий фактор, способствует бактериальной колонизации.
- **FnBP-белки (fibronectin-binding proteins).** фибронектин-связывающий фактор, ингибирует фагоцитоз.

Биопленки

- Способность продуцировать **биопленку** (особенно при хронических формах инфекции) – важнейший **фактор вирулентности** стафилококка;
- **Значение:** облегчает адгезию и формирование микроколоний микроорганизма на слизистых оболочках и раневой поверхности;
- **Биопленка** – экзополисахаридный матрикс, продуцируемый стафилококками, внутри которого возбудитель очень устойчив к воздействию иммунной системы и факторов окружающей среды;

Токсины *S. aureus*

- **α-Токсин (цитотоксин, гемолизин).** *Свойства:* вызывает лизис эритроцитов и моноцитов; индуцирует продукцию IL-1β, IL-6, IL-8.
- **Panton-Valentine-лейкоцидин.** *Свойства:* экзотоксин; вызывает лизис клеточных мембран, а также лизис моноцитов и гранулоцитов.
- **Пиротоксины.** *Свойства:* действуют как суперантигены, связываясь с МНС II класса, вызывают Т-клеточную пролиферацию и высвобождение цитокинов.

Токсины *S. aureus*

- **Энтеротоксины (А – V, за исключением F).** *Свойства:* суперантигены; продуцируются штаммами, вызывающими пищевые токсикоинфекции при попадании в ЖКТ.
- **Эксфолиатины (А и В).** *Свойства:* суперантигены; ответственны за возникновение эксфолиативного дерматита, «синдрома ошпаренной кожи»; повреждают гранулезный слой кожи.
- **Токсин синдрома токсического шока (ТСТШ).** *Свойства:* суперантиген; причина возникновения синдрома токсического шока; из-за структурной схожести с энтеротоксинами иногда упоминается как энтеротоксин F или SEF.

Факторы инвазии *S. aureus*

- **Гиалуронидаза.** *Свойства:* разрушение основного вещества соединительной ткани.
- **Каталаза.** *Свойства:* защита от действия O₂-зависимых бактерицидных механизмов фагоцитов.
- **Липаза.** *Свойства:* способствование адгезии и попаданию инфекта в ткани организма.

Факторы инвазии *S. aureus*

- **Коагулаза.** *Свойства:* свертывание плазмы в результате продукции тромбиноподобного вещества без взаимодействия с фибриногеном; способствует развитию локальных очагов инфекции; обладает антигенными свойствами.
- **Лецитиназа.** *Свойства:* деструкция лецитина в мембране лейкоцита → лейкопения.

СТАФИЛОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Характеризуются гнойным воспалением любых органов и систем с тенденцией к прогрессирующему распространению и септическому течению.

Принимают участие в смешанных гнойных процессах челюстно-лицевой области



Стафилококковые инфекции

Эпидемиология

- **Источник инфекции**

Человек: больные, носители (большинство которых относится к временным, постоянное носительство характерно для медперсонала, больных атипичными дерматитами, лиц, регулярно применяющих инъекции)

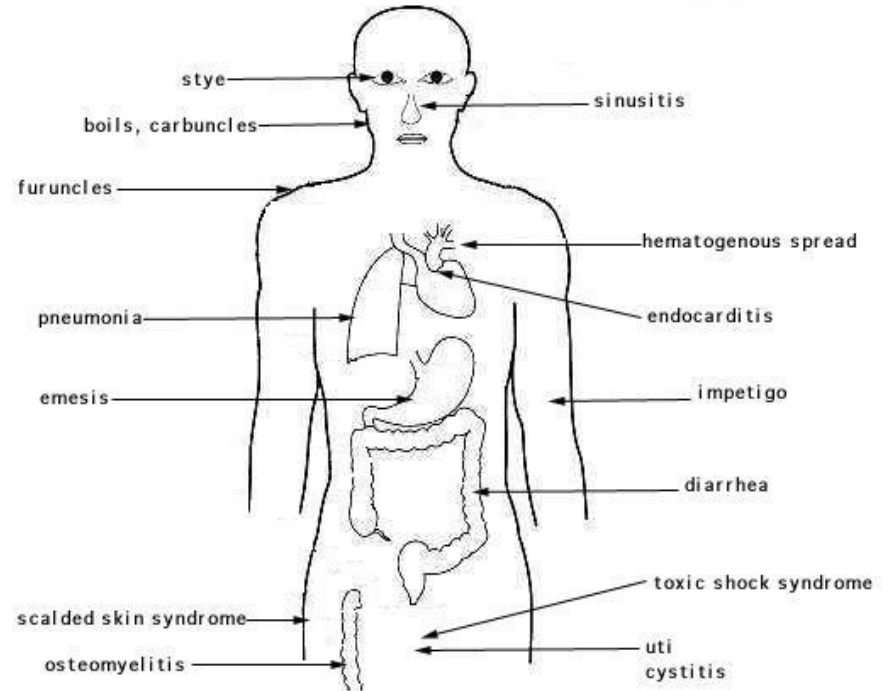
- **Механизмы передачи**

Животные

- Аэрогенный, контактный, фекально-оральный (алиментарный)

Местные инвазии

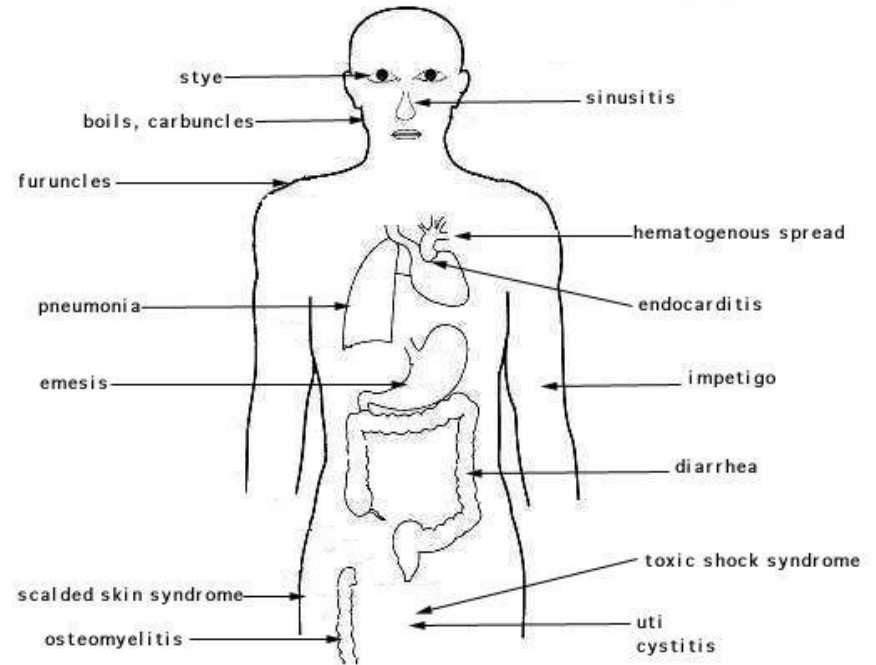
- Фолликулит;
- Сикоз;
- Фурункул;
- Ячмень;
- Карбункул;
- Гидраденит;
- Пузырчатка (пемфигус) новорожденных;
- Синдром ошпаренной кожи;



Системные инвазии

- Сепсис;
- Септикопиемия;
- Септицемия

- Остеомиелит;
- Энцефалит;
- Менингит;
- Поражение клапанов сердца;
- Пневмония;



Стафилококковые инфекции

- **Иммунитет**
 - не считаются острозаразными, здоровые взрослые люди устойчивы к ним (благодаря механизмам неспецифической резистентности и антителам, появляющимся в результате постоянного контакта с больными и носителями стафилококков), кроме этого, стафилококки входят в состав нормального микробиоценоза тела человека.
 - противостафилококковый иммунитет обусловлен всеми факторами иммунного реагирования.

Стафилококковые инфекции

- **Профилактика**

- **неспецифическая**

- выявление и санация носителей (главным образом среди медперсонала больниц и родовспомогательных учреждений)
 - особое внимание – профилактике стафилококковых инфекций у новорожденных

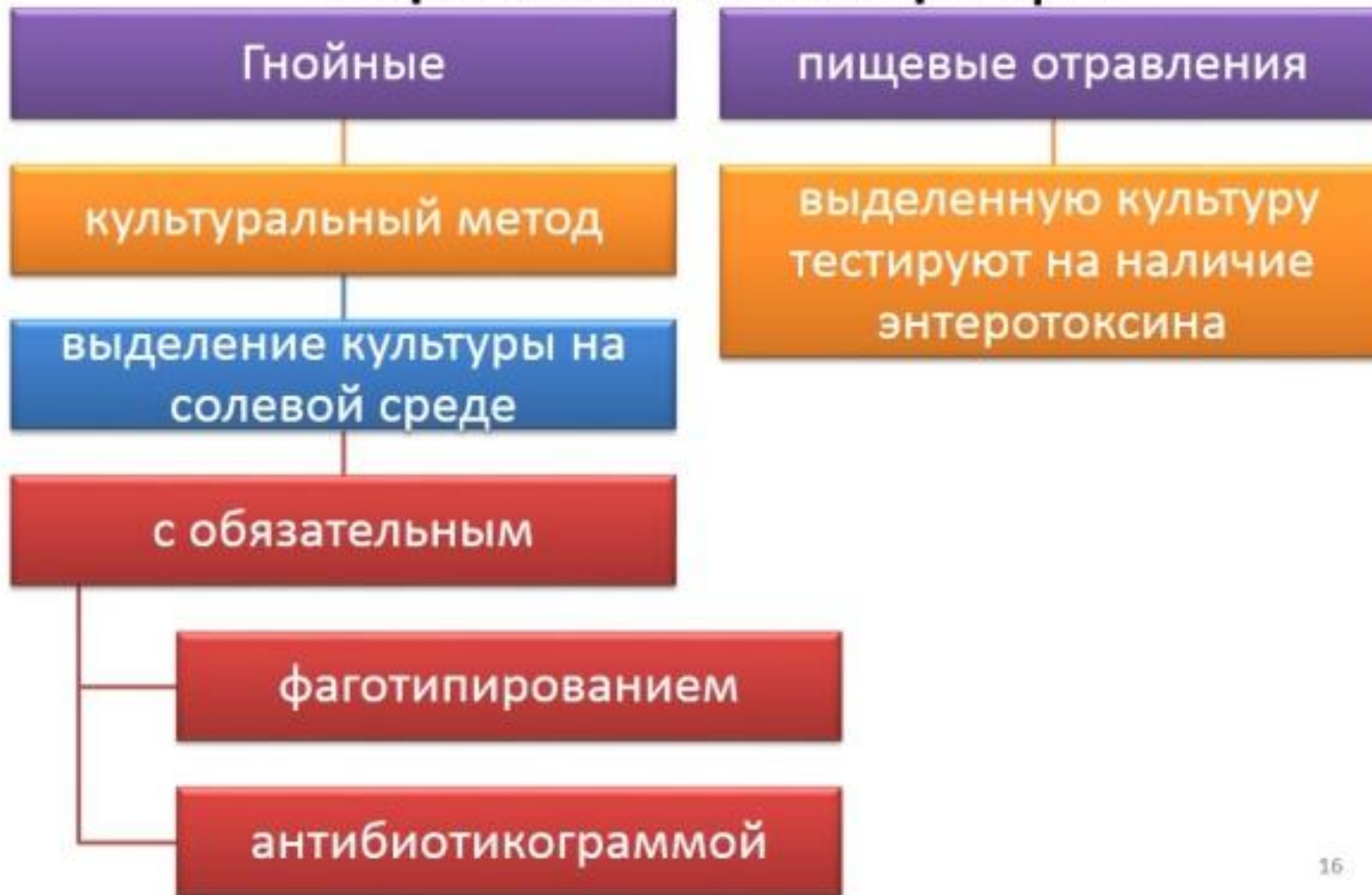
- **специфическая**

- стафилококковый анатоксин

- **Этиотропная терапия**

- **острые инфекции**: антибиотики (по результатам антибиотикограммы),
 - **хронические и тяжелые инфекции**: аутовакцина, стафилококковый анатоксин, противостафилококковый человеческий иммуноглобулин, антистафилококковая плазма, стафилококковый бактериофаг.

Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций



Микробиологическое исследование при стафилококковой инфекции

I этап

Гной, раневое отделяемое, экссудат, моча, и др.

Бактериоскопическое исследование

Мазок, окраска по методу Грама

Ориентировочное заключение

Бактериологическое исследование

Первичный посев на ЖСА и кровяной агар для получения изолированных колоний

Экспресс-методы диагностики

Биохимические и молекулярно-биологические исследования: ПЦР

Предварительный ответ

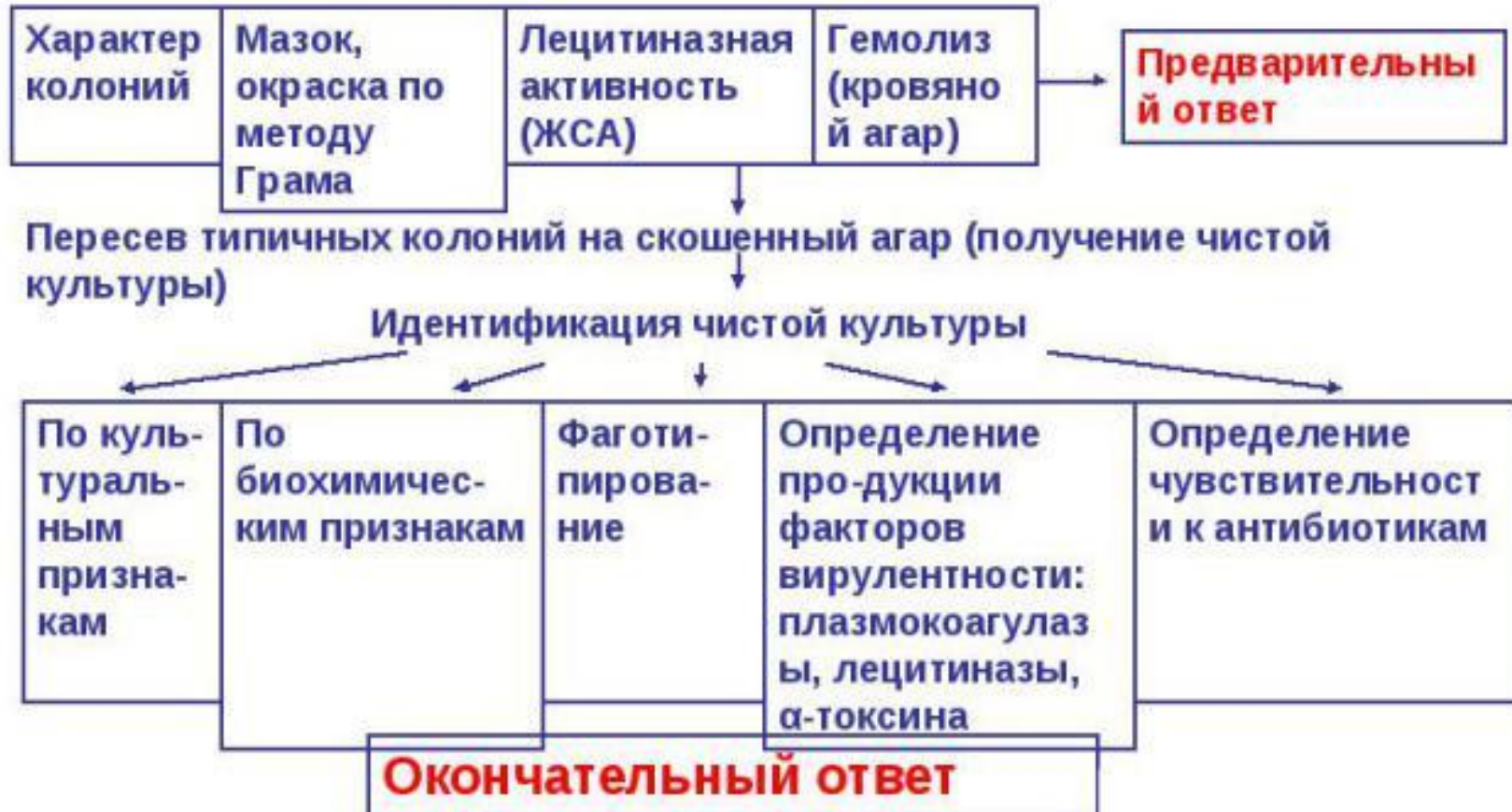
Иммунохимические исследования : определение антигенов стафилококков

Предварительный ответ

Микробиологическое исследование при стафилококковой инфекции

II- III этапы

Учёт результатов посева



СТРЕПТОКОККИ

(греч. streptos – цепочка, ожерелье, kokkos – зерно)

Обнаружили

1874 – Т. Бильрот

1878 – Л. Пастер

**Получил в чистом виде и
дал название**

1884 – Ф. Розенбах



Стрептококки: таксономическое положение

Домен **Bacteria**

Тип **Firmicutes**

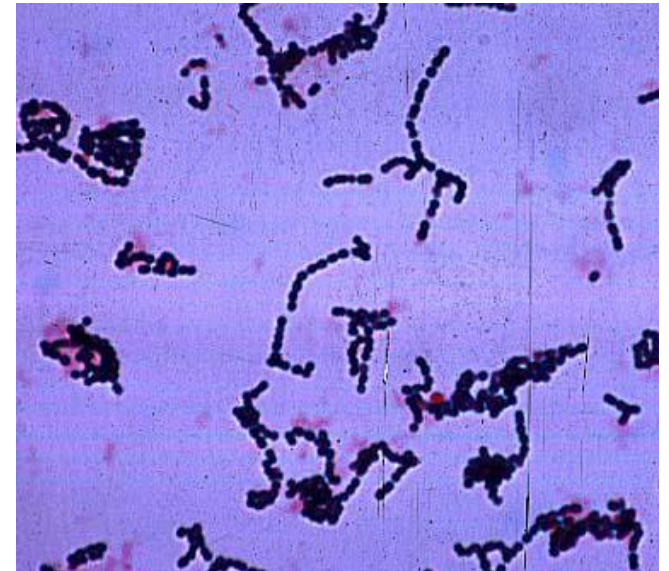
Класс **Bacilli**

Порядок **Lactobacillales**

Семейство **Streptococcaceae**

Род **Streptococcus**

Типовой вид: ***S. pyogenes***,



Общая характеристика бактерий рода *Streptococcus*

- Наиболее известные классификации стрептококков: NCBI и Bergey.
- В «Определителе бактерий Берджи» (1994 г.) род *Streptococcus* включен в 17-ю группу «Грамположительные кокки» и содержит 38 видов, объединенных в **4 группы**:
- **Пиогенные стрептококки**, к которым относятся традиционные представители патогенных и условно-патогенных видов, обладающие β-гемолитической активностью.

продолжение

- **Оральные стрептококки**, входящие в состав микробных ценозов пищеварительного тракта, дыхательных путей и половых органов, обладающие α -гемолитической активностью;
- **Анаэробные стрептококки** представлены анаэробными и аэротолерантными видами, объединенными на основании особенностей процессов энергетического метаболизма;
- **Прочие стрептококки**, для которых не предложены четкие критерии объединения.

Общая характеристика бактерий рода *Streptococcus*

- Согласно материалам Национального центра информации по биотехнологии (NCBI, США), на конец 2007 года в род *Streptococcus* входит 240 видов, имеющих персональный идентификационный номер.
- Медицинское значение имеют 49 видов стрептококков, среди которых основными патогенами человека являются *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*.

Стрептококки: свойства

- **Морфологические**

овальные грамположительные кокки, располагающиеся в мазке цепочками, спор и макрокапсул не образуют, неподвижны

- **Культуральные**

растут на сложных средах (содержащих глюкозу, сыворотку или кровь) при 37⁰С, образуют через сутки мелкие S-формы колоний

- **Биохимические**

= стафилококки, но менее выражена протеолитическая активность

- **Резистентность** во внешней среде – высокая

Стрептококки: свойства

- Серологические
полисахаридные (групповые) антигены –
полисахарид КС
белковые типоспецифические антигены
(чаще всего для серологической
идентификации используется М-белок, по
нему различают около 100 сероваров)

Стрептококки: классификация R. Lancefield (по полисахаридному антигену)

Метод, разработанный Ребеккой Ленсфильд, дал возможность:

- подразделить стрептококки на 20 серологических групп, обозначенных заглавными буквами латинского алфавита от А до Н и от К до V).
- дифференцировать стрептококки на **патогенные** для человека (группа А), **условно-патогенные** (группы В, С, G, D, F) и **непатогенные** (прочие группы гемолитических стрептококков).

Наибольшую роль в патологии человека играют стрептококки группы А: *Streptococcus pyogenes* группы В: *S. agalactiae*

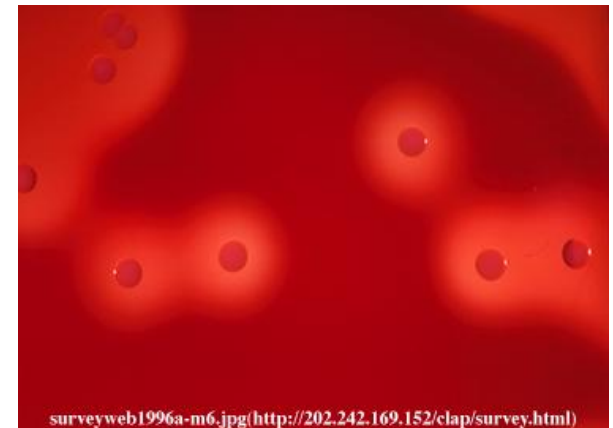
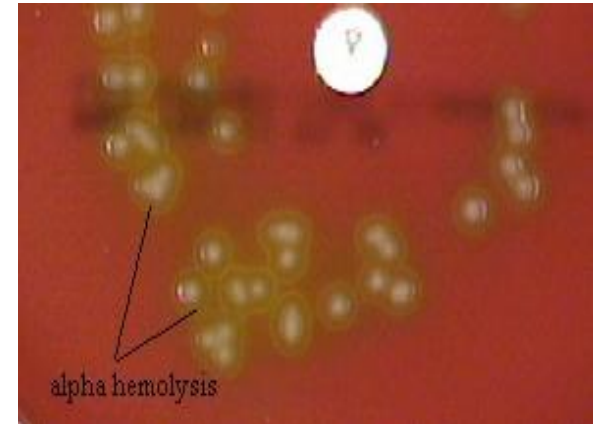
Стрептококки: классификация по отношению к эритроцитам

- По способности вызывать **гемолиз** на МПА с кровью барана:

∇ **α-гемолитические** – разлагают гемоглобин до метгемоглобина, вызывая появление вокруг колонии узкой зеленой каемки. **S.pneumoniae**

∇ **β-гемолитические** – вызывают полный гемолиз (широкая зона просветления вокруг колоний). **S.pyogenes**

∇ **γ-гемолитические** стрептококки не образуют на агаре с кровью барана визуально видимых зон гемолиза.



Стрептококки: дифференциальные тесты с энтерококками

- По **биохимическим свойствам**
- рост при t 10 и 45 град.,
- в присутствии 6,5% соли,
- при pH 9,6,
- при 40% желчи,
- рост на молоке с 0,1% метиленовым синим,
- рост после прогревания при t 60 град. в течение 30 мин.

Основные поверхностные факторы патогенности *S. pyogenes*

- **Капсула.** *Функции:* антифагоцитарная, адгезия к эпителию.
- **M-протеин.** *Функции:* антифагоцитарная, адгезия к эпителию, способность к внутриклеточной инвазии.
- **F-протеин.** *Функции:* фибронектин-связывающий протеин.

Основные поверхностные факторы патогенности *S. pyogenes*

- **G-протеин.** *Функции:* IgG-связывающий протеин.
- **Липотейхоевая кислота.** *Функции:* адгезия к эпителию.
- **Пептидогликан.** *Функции:* функция эндотоксина, пирогенные и токсические свойства.

М-белок (mucoid – слизистый)

Суперспирализованная молекула

Состоит:

4 участка повторяющихся аминокислотных последовательностей

(А-Г) – филаментозный вырост;

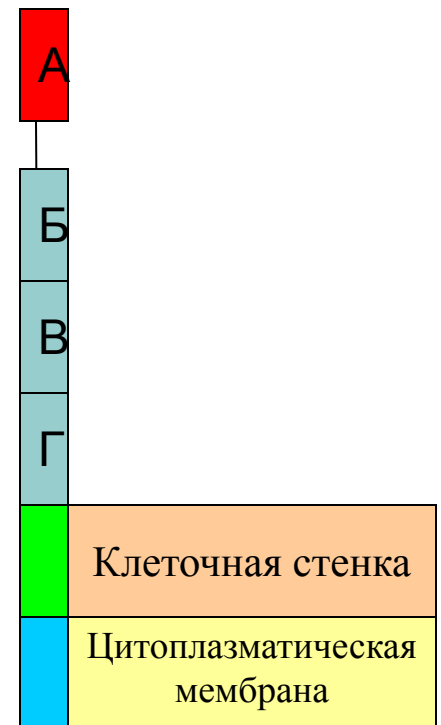
2 фрагментов, заякоривающие М-белок на мембране и в клеточной стенке.

Эпитопы:

Типоспецифический (протективный);

Перекрестно-реагирующие между М-белками стрептококков;

Перекрестно-реагирующие между М-белком стрептококка и сарколеммой миофибрилл сердца человека.



Токсины *S. pyogenes*

- **Стрептококковые пирогенные экзотоксины (эритрогенные токсины) – SPEs** (Streptococcal pyrogenic toxins, англ.). **Функции:** суперантигены; проявляют пирогенную активность, цитотоксичность, повреждают ткани, подавляют функции ретикулоэндотелиальной системы и миграцию макрофагов, повышают проницаемость клеточных мембран, вызывают расширение капилляров кожи, обладают иммуносупрессивностью. Они ответственны за появление кожных высыпаний.

Токсины *S. pyogenes*

- **Стрептолизин О (СЛО).** *Функции:* токсин-антиген, без доступа кислорода вызывает гемолиз эритроцитов; цитолизин с кардиотоксическими свойствами.
- **Стрептолизин S (СЛS).** *Функции:* неантигенный токсин; вызывает гемолиз эритроцитов в присутствии кислорода, лизирует миокардиоциты, тромбоциты, лимфоциты, нейтрофилы.

Ферменты агрессии *S. pyogenes*

- **Гиалуронидаза.** *Функции:* фактор тканевой инвазии.
- **ДНКаза (стрептодорназа).** *Функции:* фактор тканевой инвазии; деполимеризует ДНК.
- **Стрептокиназа (фибринолизин).** *Функции:* активатор плазминогена; растворяет фибриновые сгустки.
- **Пептидаза С5а.** *Функции:* инактивирует хемотаксический фактор С5а компонента комплемента, нарушая процесс миграции нейтрофилов в очаг воспаления.

СТРЕПТОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ



Заболеваемость стрептококковыми инфекциями

- Стрептококки вызывают широкий спектр инфекционных проявлений и вызываемых ими осложнений.
- В МКБ-10 патологические состояния стрептококковой природы регистрируются в 16 из 21 класса болезней.

Заболеваемость стрептококковыми инфекциями

- По данным ВОЗ, в мире тяжелыми заболеваниями, вызванными стрептококками группы А (СГА), страдает 18,1 млн человек, из них 15,6 млн – ревматическими заболеваниями сердца.
- Ежегодно регистрируется около 1,8 млн новых случаев СГА-инфекции (умирает свыше 500 тыс. человек),
- Свыше 111 млн случаев – стрептодермии и 616 млн случаев фарингитов.

Клинические проявления стрептококковой инфекции

- **Негнойные воспалительные инфекции**

- Стрептококковый тонзиллит и ангина (89%).
- Скарлатина (англ. scarlet fever – пурпурная лихорадка).
- Рожа (erysipelas – erythros – красный, pella – кожа).
- Острая ревматическая лихорадка (ОРЛ)
- Острый стрептококковый гломерулонефрит (ОСГН)

- **Гнойно-воспалительные поражения кожи – пиодермии:**

- импетиго
- трещины в углах рта («заеды»)
- перианальный дерматит и вульвовагинит

Клинические проявления стрептококковой инфекции

- **Редкие формы стрептококковой инфекции:**

- сепсис
- некротизирующий фасцит
- миозит
- остеомиелит
- стрептококковый синдром токсического шока (СТШ).

Стрептококковые инфекции

- **Эпидемиология**

- **источники инфекции:** человек (больной, носитель), животные
- **механизмы передачи:** аэрогенный (основной), контактный (дополнительный)

- **Иммунитет**

- антитела к М-антигену обуславливают прочный и длительный, но типоспецифический иммунитет
- антитоксические антитела при скарлатине обеспечивают прочный и длительный иммунитет

- **Профилактика**

- **неспецифическая** – предупреждение хронизации процесса
- **специфическая** – не разработана

- **Этиотропная терапия**

Этапы микробиологической диагностики

- Адекватная техника отбора проб клинического материала;
- Соблюдение оптимальных условий и сроков их доставки в лабораторию;
- Применение стандартных, унифицированных методов лабораторного исследования;
- Грамотная интерпретация полученных результатов.

Отбор проб для бактериологического исследования

- Использование тампонов с наконечником из дакрона или искусственного шелка (вискозы);
- Транспортировать материал необходимо в транспортной среде Эймис или Стюарта.

Общая схема идентификации стрептококков

Выделяют:

- Экспрессные методы микробиологической диагностики;
- Скрининговые методы микробиологической диагностики;
- «Классические» микробиологической диагностики;

Схема идентификации стрептококков

Экспресс-методы

С тампонов
из зева

Определение
группового
полисахарида
в экстрактах

На основе

Коаггулинац
ии

Латекс-
агглютинации

Дот-блот
иммуноанализа

Металлозоль
иммуноанализа

Определение
продукции
пирролидонил-
аминопептидаз

ы

На основе

Колориметрически
х
субстратов

Флуоресцентных
субстратов

В мазках
на стеклах

На основе

Имунофлуоресценци
и
Имунопероксидазно
го
теста

Культуральные методы

Отбор колоний
с β -гемолизом
на кровяном агаре

Биотипирование

Серогруппирование

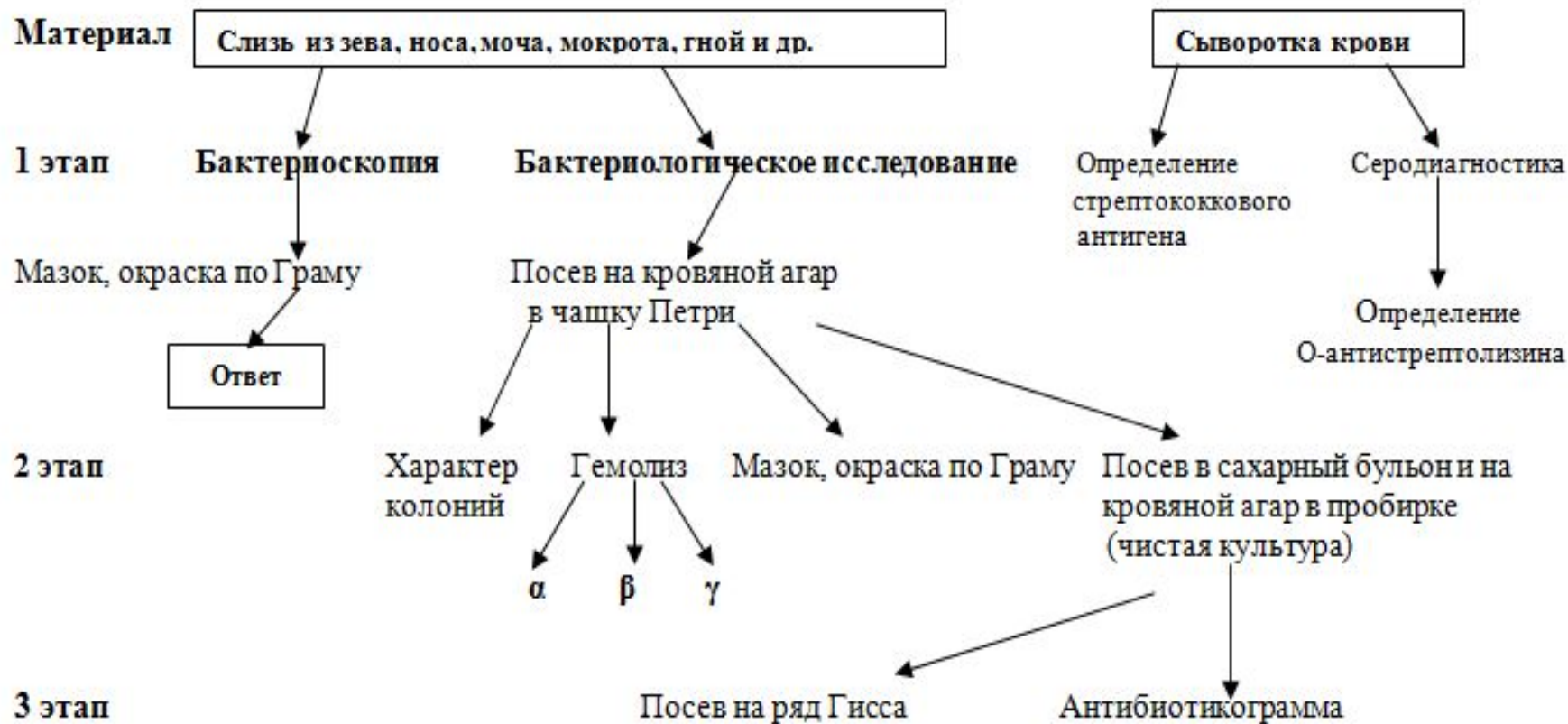
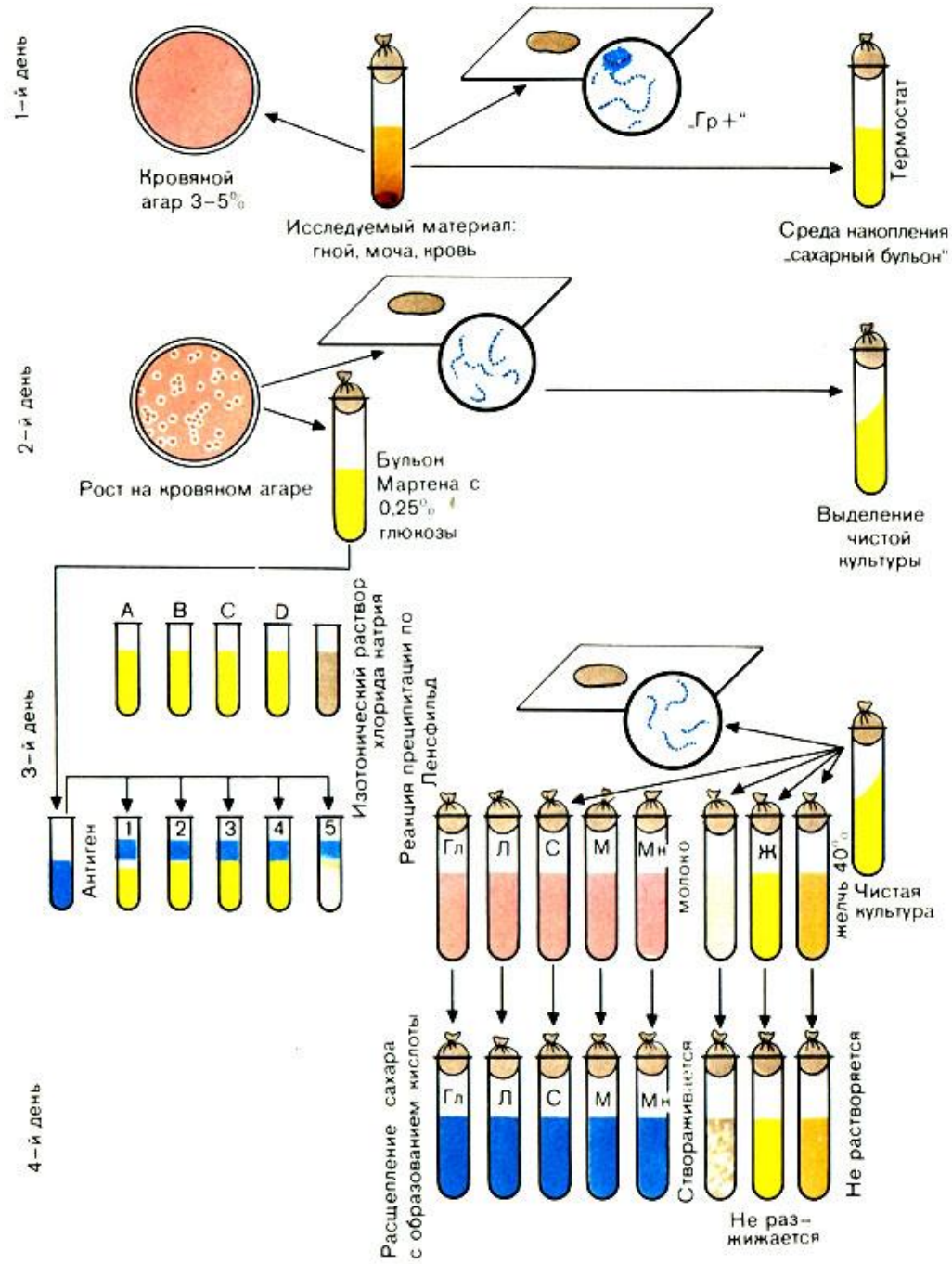


Схема микробиологического исследования при стрептококковых инфекциях



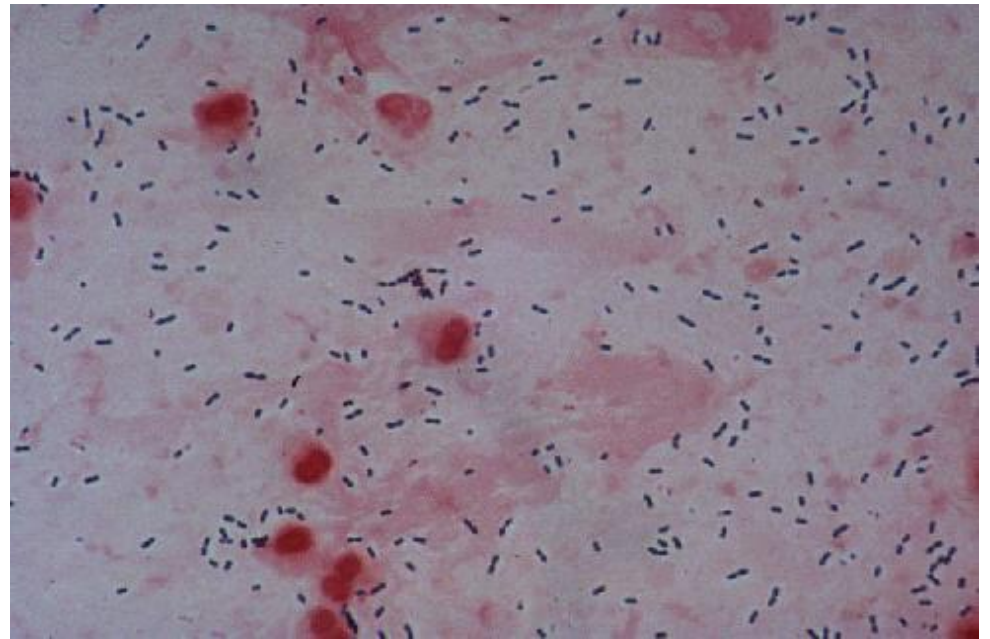
ПНЕВМОКОКК

Обнаружен:

1881 – Л. Пастер

Изучен:

1886 – А. Френкель,
А. Вейксельбаум



Пневмококк: свойства

- **морфологические:**

ланцетовидные грамположительные кокки, располагающиеся в мазке попарно, спор не образуют, характерная черта - макрокапсула, неподвижны

- **культуральные:**

растут на сложных (содержащих кровь или сыворотку + 0,1% глюкозы) питательных средах при 37⁰С, образуют через сутки мелкие S-колонии с α-гемолизом

- **биохимические:**

умеренно выражены, характерно ферментация инулина

- **серологические:**

по К-антигену (полисахарид капсулы) подразделяется на более 80 сероваров

- **факторы патогенности**

капсула,

субстанция С (тейхоевая кислота КС)

- **резистентность во внешней среде**

не устойчивы



ПНЕВМОКОККОВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Пневмококковые инфекции

- **Эпидемиология**

- **источник инфекции:** больные, носители (до 50% детей дошкольного возраста, до 25% взрослых)
- **механизмы передачи:** аэрогенный (воздушно-капельный, особенно при вспышках), контактный
- **предрасполагающие условия:** снижение резистентности, на фоне др. патологии, алкоголизм

- **Клинические проявления**

- пневмония, менингит, ползучая язва роговицы, поражения других органов

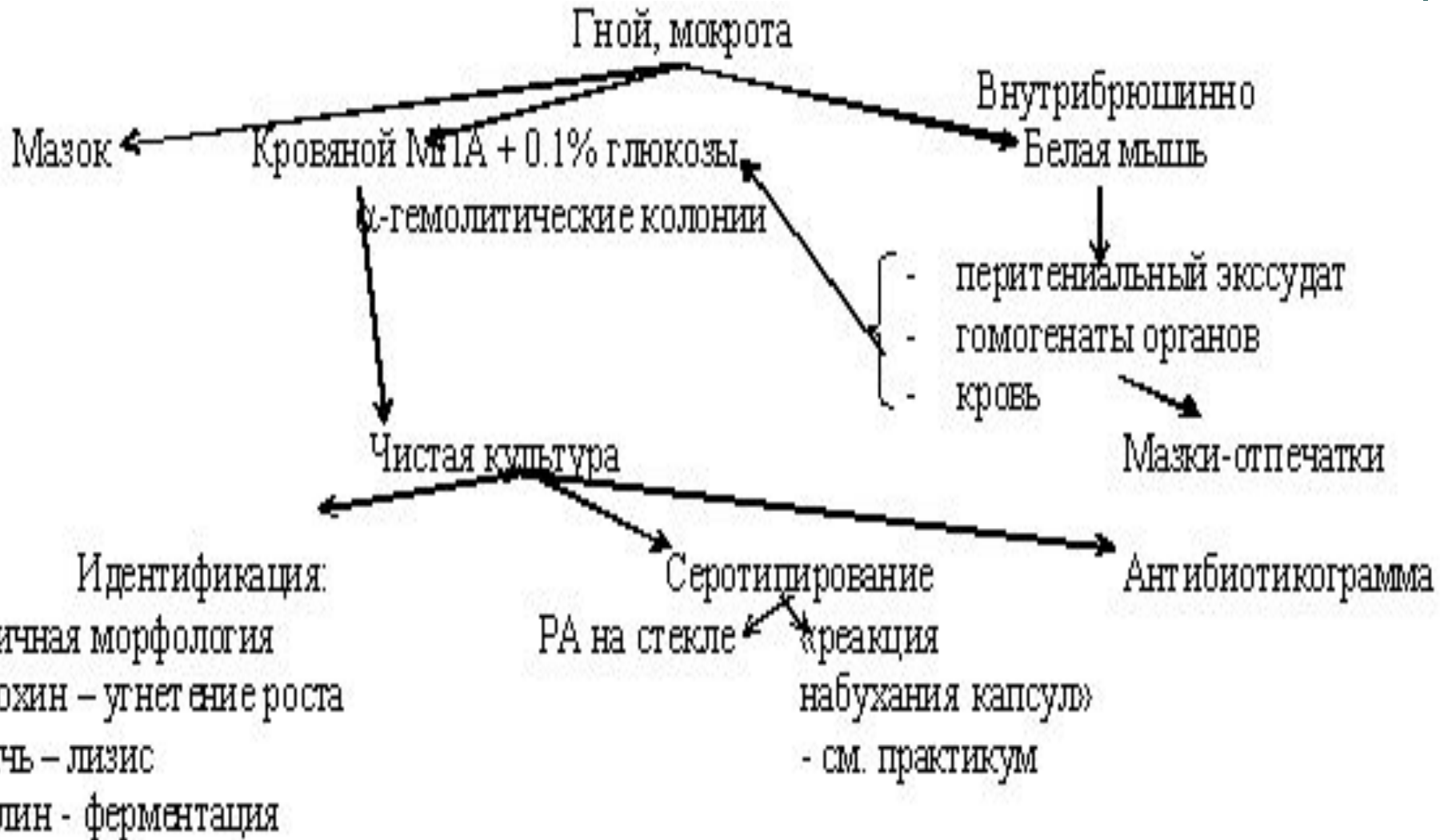
- **Специфическая профилактика**

поливалентная полисахаридная вакцина «Пневмо-23» или «Pneumar»

- **Этиотропная терапия**

- антибиотики (по результатам антибиотикограммы)

Микробиологическая диагностика пневмококковой инфекции



Критерии определения пневмококковой этиологии инфекционного процесса

(Л.А. Вишнякова и соавт., 1990)

- Обнаружение монокультуры *S. pneumoniae* в крови или плевральном экссудате;
- Выделение пневмококка в концентрации 10^6 КОЕ/мл из мокроты или 10^4 КОЕ/мл из трахеобронхиальных смывов;
- Обнаружение в мокроте или трахеобронхиальных смывах низких концентраций ($<10^6$ и $<10^4$ КОЕ/мл) пневмококков с последующим их снижением не менее, чем в 100 раз у больных острой пневмонией на поздних сроках болезни и на фоне этиотропной антибактериальной терапии.

Контрольные вопросы:

- 1.** Назовите таксономию патогенных грамположительных кокков.
- 2.** Чем стафилококки отличаются от микрококков?
- 3.** Какие виды стафилококков являются коагулазоположительными?
- 4.** Какой токсин играет главную роль в патогенезе «синдрома ошпаренной кожи»?
- 5.** Какой метод диагностики является основным при гнойных стафилококковых инфекциях?
- 6.** Как классифицируют стрептококки по отношению к эритроцитам?
- 7.** Какой антиген стрептококков является перекрестно-реагирующим с сарколеммой миофибрилл сердца?
- 8.** По какому антигену выделяют серовары у пневмококков?

Спасибо

за внимание