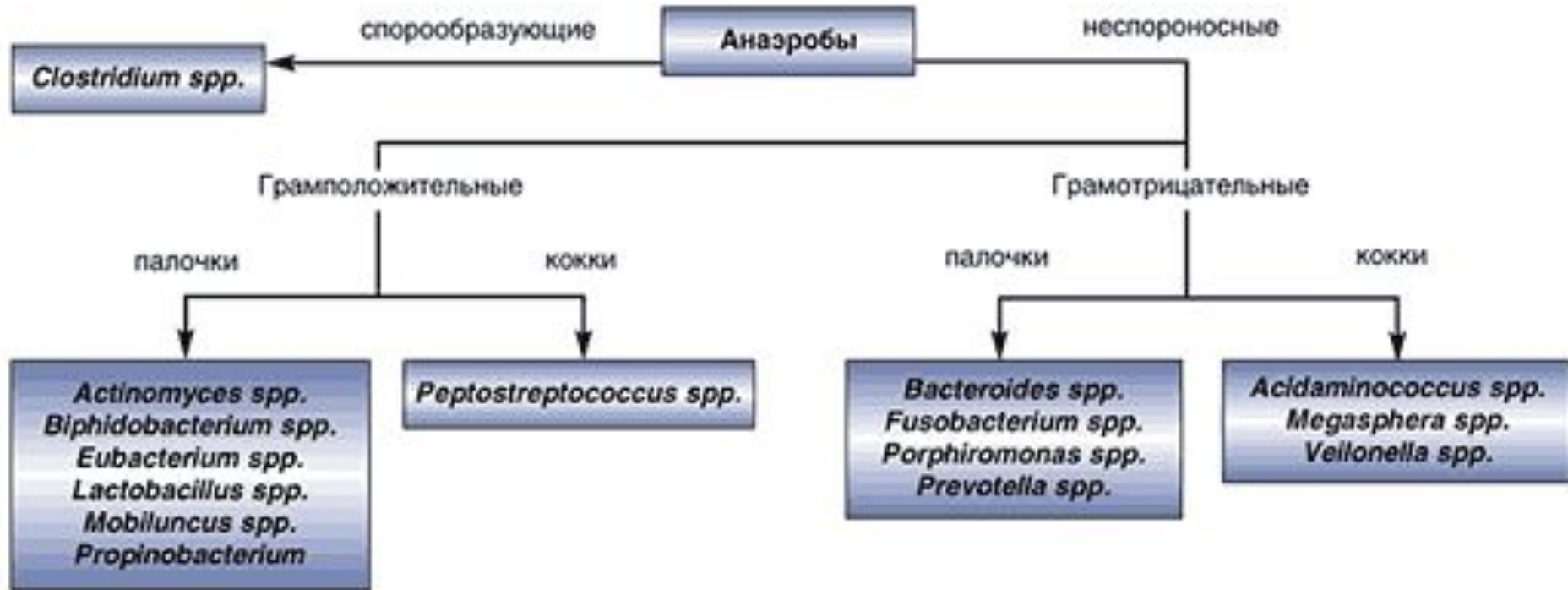


Анаэробная инфекция

Лабораторная диагностика

Классификация



Анаэробная инфекция

- Эндогенная инфекция
- Предрасполагающие факторы
 - ✓ Диабет, коллагенозы, лейкопения
 - ✓ Лечение аминогликозидами, цитостатиками, стероидами
 - ✓ Повреждение барьеров (операции, травмы, инъекции, укусы)
 - ✓ Некроз
 - ✓ Злокачественные новообразования
- Ассоциация микроорганизмов

Грамположительные анаэробные палочки

Род	Вид
Actinomycetaceae	
Actinomyces	<i>A.bernardiae</i> , <i>A.cardiffensis</i> , <i>A.europaeus</i> , <i>A.georgiae</i> , <i>A.gerencseriae</i> , <i>A.graevenitzii</i> , <i>A.israelii</i> , <i>A.meyeri</i> , <i>A.odontolyticus</i> , <i>A.pyogenes</i> , <i>A.radingae</i> , <i>A.suis</i> , <i>A.naeslundii</i> , <i>A.neuii</i> , <i>A.turicensis</i> , <i>A.viscosus</i>
Mobiluncus	<i>M.curtisii curtisii</i> , <i>M.curtisii holmesii</i> , <i>M.mulieris</i>
Bifidobacteriaceae	
Bifidobacterium	<i>B.adolescentis</i> , <i>B.angulatum</i> , <i>B.bifidum</i> , <i>B.denticolens</i> ^c , <i>B.dentium</i> , <i>B.infantis</i> , <i>B.inopinatum</i> ^H , <i>B.longum</i> , <i>B.scardovii</i> , <i>B.pseudocatenulatum</i> , <i>B.suis</i>
Clostridiaceae	
Clostridium	<i>C.difficile</i> , <i>C.histolyticum</i> , <i>C.perfringens</i> , <i>C.septicum</i> , <i>C.sordellii</i> , <i>C.sporogenes</i> , <i>C.tetani</i> и др. (всего 60 ВИДОВ)

Грамположительные анаэробные палочки

(продолжение)

Род	Вид
<i>Erysipelotrichaceae</i>	
<i>Erysipelothrix</i>	<i>E.rhusiopathiae</i>
<i>Eubacteriaceae</i>	
<i>Eubacterium</i>	<i>E. barkeri</i> , <i>E.biforme</i> , <i>E.brachy</i> , <i>E.budayi</i> , <i>E.combessii</i> , <i>E.contortum</i> , <i>E.dolichum</i> , <i>E.eligens</i> , <i>E.hadrum</i> , <i>E.hallii</i> , <i>E.infirmum</i> , <i>E.limosum</i> , <i>E.minutum</i> , <i>E.moniliforme</i> , <i>E.multiforme</i> , <i>E.nitrogenes</i> , <i>E.nodatum</i> , <i>E.ramulus</i> , <i>E.rectale</i>
<i>Lactobacillaceae</i>	
<i>Lactobacillus</i>	<i>L.acidophilus</i> , <i>L.brevis</i> , <i>L.casei</i> , <i>L.cateniformis</i> , <i>L.fermentum</i> , <i>L.gasseri</i> , <i>L.iners</i> , <i>L.jensenii</i> , <i>L.leichmannii</i> , <i>L.oris</i> , <i>L.plantarum</i> , <i>L.ramosus</i> , <i>L.salivarius</i> , <i>L.vaginalis</i>
<i>Propionibacteriaceae</i>	
<i>Propionibacterium</i>	<i>P.acnes</i> , <i>P.avidum</i> , <i>P.granulosum</i> , <i>P.propionicus</i>

Грамположительные анаэробные кокки

Род	Вид
<i>Clostridiaceae</i>	
<i>Sarcina</i>	<i>S.ventriculi</i>
<i>Lachnospiraceae</i>	
<i>Coprococcus</i>	<i>C.eutactus, C.catus, C.comes</i>
<i>Ruminococcus</i>	<i>R.albus, R.bromii, R.calidus, R.flavifaciens, R.gnavus, R.hansenii^A, R.hydrogenotrophicus, R.lacteris, R.luti, R.obeum, R.productus^A, R.torques</i>
<i>Peptococcaceae</i>	
<i>Peptococcus</i>	<i>P.niger</i>

Грамположительные анаэробные кокки

(продолжение)

Род	Вид
<i>Peptoniphilaceae</i>	
<i>Anaerococcus</i>	<i>A. hydrogenalis</i> , <i>A. lactolyticus</i> , <i>A. prevotii</i> , <i>A. tetradius</i> , <i>A. vaginalis</i>
<i>Finegoldia</i>	<i>F. magna</i>
<i>Parvimonas (Micromonas)</i>	<i>P. micra</i>
<i>Peptoniphilus</i>	<i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. harei</i> , <i>P. indolicus</i> , <i>P. lacrimalis</i> , <i>P. ivorii</i>
<i>Peptostreptococcaceae</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. anaerobius</i>

Грамотрицательные анаэробные палочки

Род	Вид
Bacteroidaceae	
Bacteroides	<i>B. caccae</i> , <i>B. tectus</i> , <i>B. capillosus</i> , <i>B. coagulans</i> , <i>B. distasonis</i> , <i>B. eggerthii</i> , <i>B. fragilis</i> , <i>B. galacturonicus</i> , <i>B. merdae</i> , <i>B. ovatus</i> , <i>B. pectinophilus</i> , <i>B. putredinis</i> , <i>B. pyogenes</i> , <i>B. splanchnicus</i> , <i>B. stercoris</i> , <i>B. thetaiotaomicron</i> , <i>B. uniformis</i> , <i>B. ureolyticus</i> , <i>B. vulgatus</i>
Desulfovibrionaceae	
Bilophila	<i>B. wadsworthia</i>
Fusobacteriaceae	
Fusobacterium	<i>F. gonadiaformans</i> , <i>F. mortiferum</i> , <i>F. naviforme</i> , <i>F. ulcerans</i> , <i>F. necrogenes</i> , <i>F. necrophorum</i> , <i>F. nucleatum</i> , <i>F. perfoetens</i> , <i>F. periodonticum</i> , <i>F. russii</i> , <i>F. varium</i> , <i>F. pseudonecrophorum</i>
Leptotrichiaceae	
Leptotrichia	<i>L. amnionii</i> , <i>L. buccalis</i> , <i>L. goodfellowii</i>

Грамотрицательные анаэробные палочки

(продолжение)

Род	Вид
<i>Porphyromonadaceae</i>	
<i>Porphyromonas</i>	<i>P.asaccharolytica, P.cangingivalis, P.canoris, P. cansulci, P.catoniae, P.circumdentaria, P.crevioricanis, P.endodontalis, P.gingivalis, P.gigivcanis, P.levii, P.macacae</i>
<i>Tannerella</i>	<i>T.forsythia</i>
<i>Prevotellaceae</i>	
<i>Prevotella</i>	<i>P.bivia, P.buccae, P.buccalis, P.corporis P.dentalis, P.denticola, P.distens^A, P.enoeca, P.heparinolytica, P.intermedia, P.nigrescens, P.melaninogenica, P.oralis, P.oris, P.oulorum, P.pallens, P.tannerae, P.veroralis</i>
<i>Veillonellaceae</i>	
<i>Megamonas</i>	<i>M.hypermegale</i>

Грамотрицательные анаэробные кокки

Род	Вид
<i>Acidaminococcaceae</i>	
<i>Acidaminococcus</i>	<i>A.fermentans</i>
<i>Veillonellaceae</i>	
<i>Anaeroglobus</i>	<i>A.geminatus</i>
<i>Megasphaera</i>	<i>M.elsdenii, M.micronuciformis</i>
<i>Veillonella</i>	<i>V.atypica, V.dispar, V.parvula</i>
<i>Victivallaceae</i>	
<i>Victivalis</i>	<i>V.vadensis</i>

Таблица 2. Частота участия анаэробов при инфекциях разной локализации [19–21]

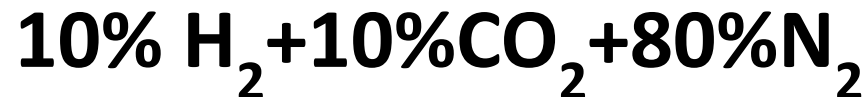
Вид инфекции	Частота (%)
Бактериемия	5 - 20
Центральная нервная система	
Абсцесс мозга	89
Субдуральная эмпиема	10
Менингит	Низкая*
Голова и шея	
Глазная инфекция	38
Хронический синусит	50
Хронический средний отит	30 - 60
Периодонтальный абсцесс	100
Грудная полость	
Аспирационная пневмония	85 - 90
Абсцесс легкого	93
Некротическая пневмония	85
Эмпиема плевры	76
Брюшная полость	
Перитонит, абсцессы	90 - 95
Абсцесс печени	>50
Панкреатит-ассоциированные инфекции	15
Генитальный тракт женщин	>55
Сальпингит, пельвиоперитонит	92
Тубоовариальный абсцесс	74
Вульвовагинальный абсцесс	73
Септический аборт	
Мягкие ткани	100
Газовая гангрена (мионекроз)	Высокая*
Крепителирующий целлюлит	Высокая*
Некротизирующий фасциит	
Кости и суставы	20 - 40
Хронический остеомиелит	30
Септический артрит	<1
Мочевой тракт	

* % не установлен

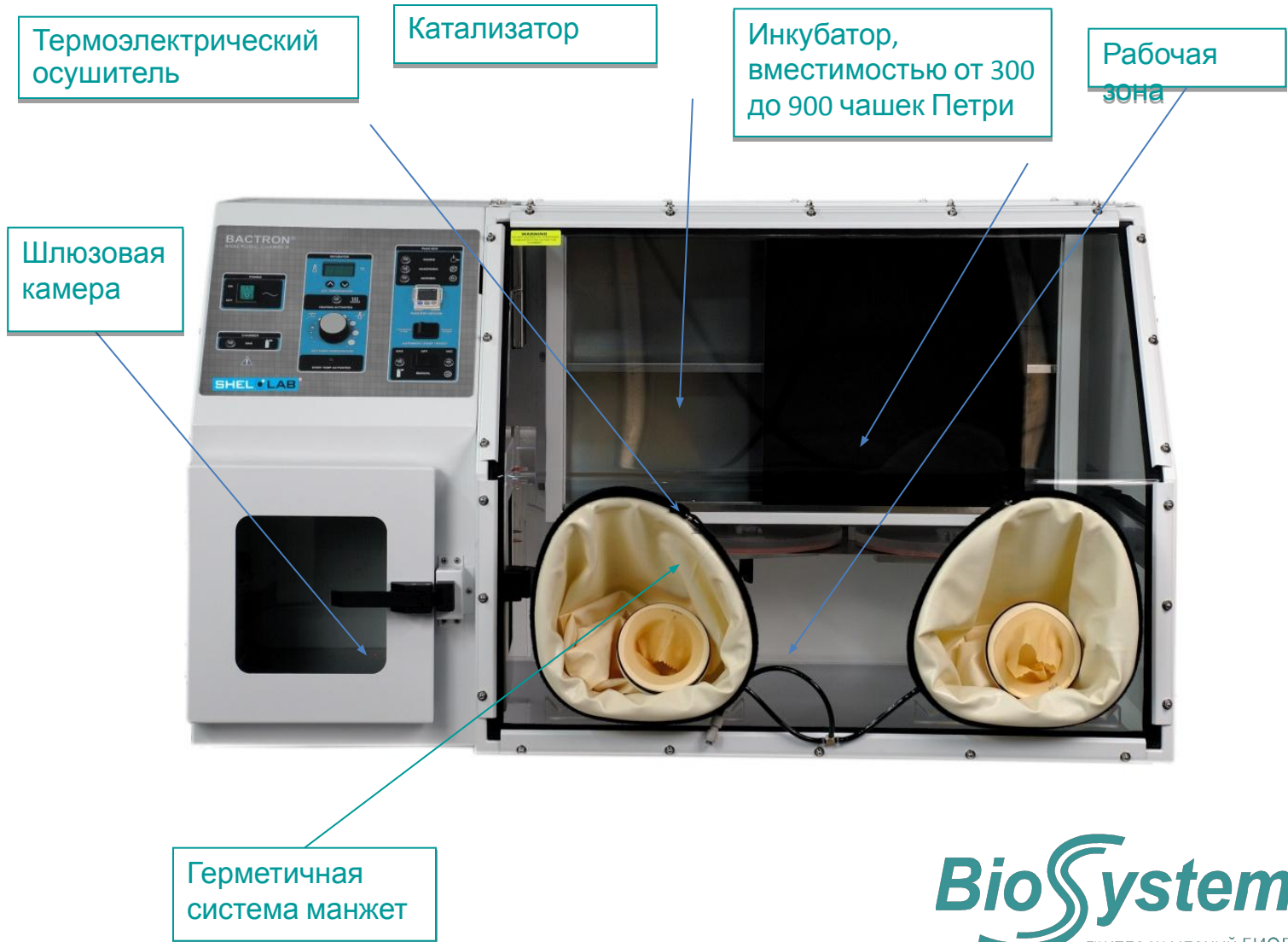
Лабораторная диагностика

Анаэробная атмосфера

- Анаэробная станция
- Анаэростат
- ✓ Готовая газовая смесь
- ✓ Газогенераторные пакеты



Анаэробная станция BACTRON, производства Sheldon Manufacturing Inc., США



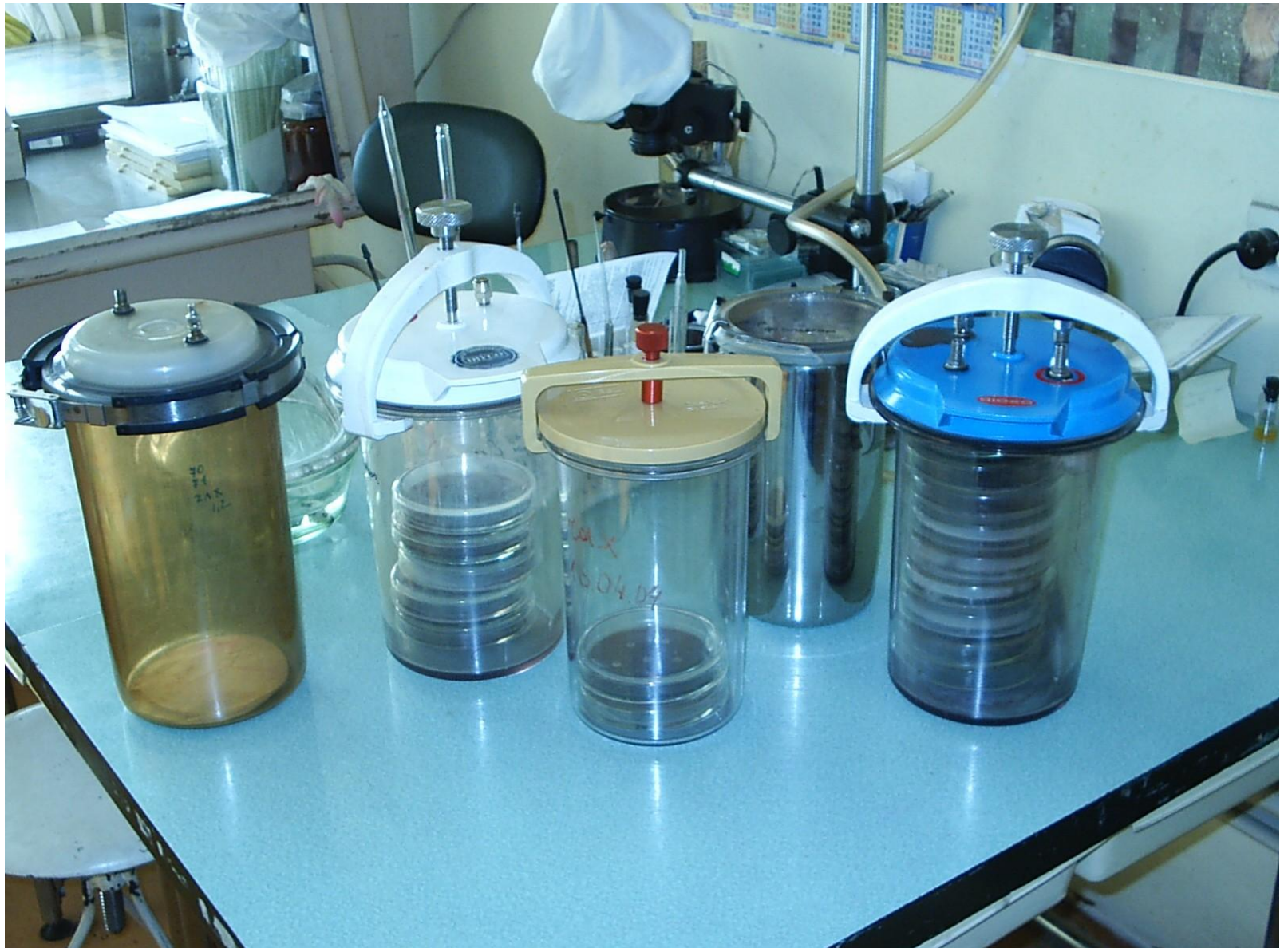
Анаэростаты

Готовая газовая смесь

Анохомат



Анаэробы



Анаэробная система (Himedia)



Системы инкубации и генераторы атмосферы

“ . . . / . . . \



Катализаторы и индикаторы анаэробного роста



Лабораторная диагностика

Материал, непригодный для исследования:

- Отделяемое поверхностных ран, язв
- Мазки из зева, носа, ротовой полости
- Мазки из влагалища, цервикального канала
- Мокрота, бронхиальные смывы
- Моча
- Содержимое желудка, тонкого и толстого кишечника
- Фекалии

Лабораторная диагностика

Материал для исследования:

- Кровь
- Ликвор
- Плевральная, перитонеальная, синовиальная жидкости
- Гной из абсцессов и других закрытых полостей
- Материалы из глубоких отделов свища
- Фрагменты костной и мышечной ткани размером 1x1 см, взятые из глубокого очага воспаления во время операции

Лабораторная диагностика

Транспортировка материала

- Тупферы с транспортной средой
- Флаконы с жидкой питательной средой, заполненные газовой смесью
- В шприце, с предварительно удаленным из него воздухом с загнутой под углом иглой или воткнутой в стерильную резиновую пробку (в данном случае материал доставляется в лабораторию немедленно)

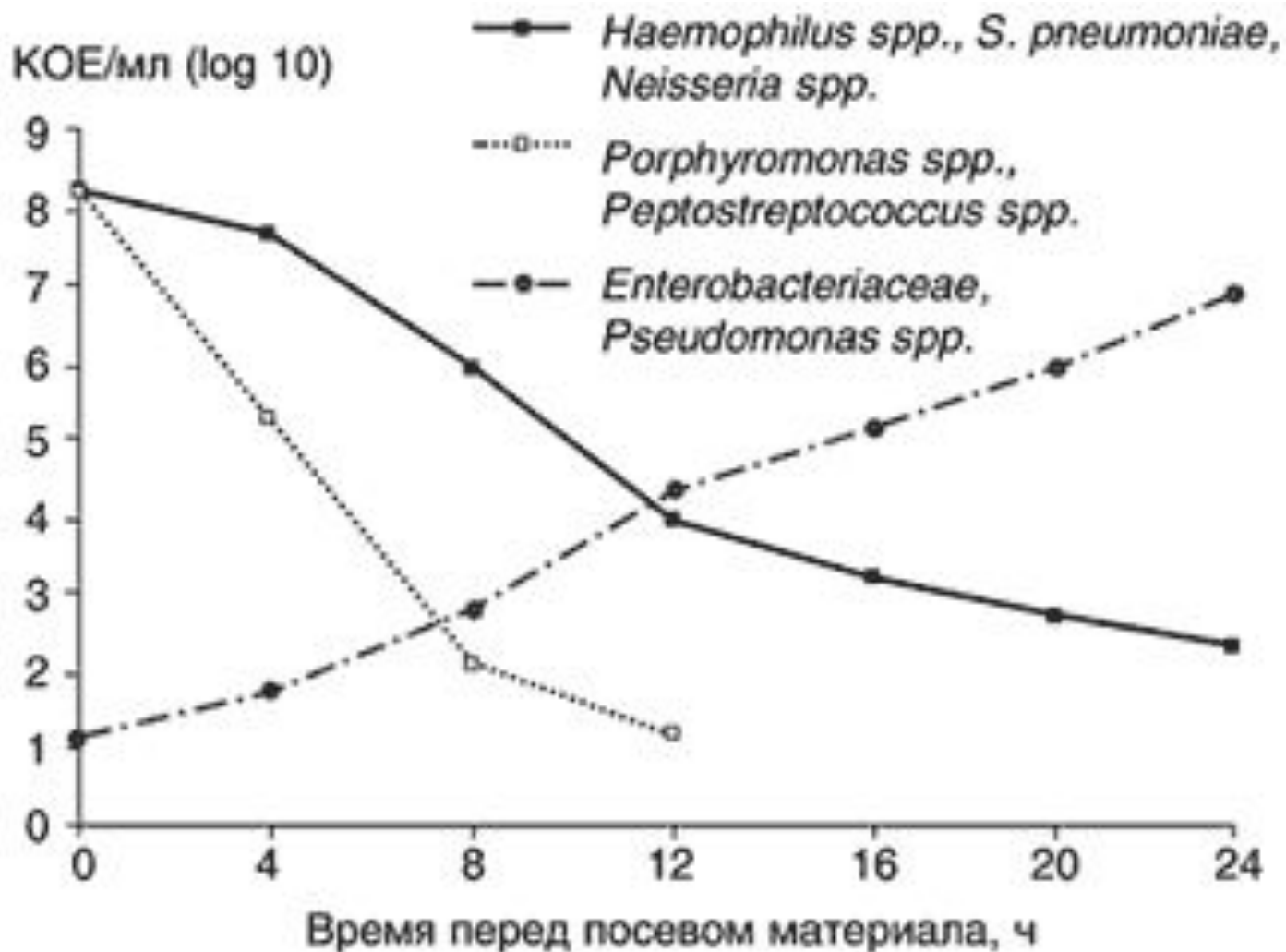
Лабораторная диагностика

Транспортные среды

- *Amies*
- *Cary-Blair*
- *Тиогликолевая среда «СКС-199»*

(33,0 г среды СКС растворяют в 1 л дистиллированной воды, стерилизуют при 1 атм в течение 20 мин. Затем в стерильных условиях к 900 мл свежеприготовленной СКС добавляют 100 мл среды 199 для культур клеток, и, размешав, разливают в пробирки высоким столбиком (по 10-12 мл). Хранят среду в холодильнике)

Влияние сроков транспортировки материала на высеваемость микроорганизмов



Лабораторная диагностика

Тупферы с транспортной средой



Лабораторная диагностика

Питательные среды

- Обогачительные среды:

- ✓ СКС

- ✓ Среда Китт-Тароцци

- Плотные питательные среды общего назначения:

Brucella, Columbia, Schaedler и другие обогащенные среды с добавлением 5% дефибринированной **крови** барана, **витамина К** (10 мкг/мл) и **гемина** (5мкг/мл)

- Селективные среды:

- ✓ РЕА (агар с фенилэтиловым спиртом)

- ✓ ВВЕ (желче-эскулиновый агар для бактероидов)

- ✓ KVLB (кровяной агар с канамицином и ванкомицином)

Лабораторная диагностика

Характеристика питательных сред

Среды	Рост	Ингибирование
Brucella blood agar (BBA)	Все микроорганизмы	Нет
Phenylethyl alcohol agar (PEA)	Все анаэробы	Факультативно-анаэробные (ФА) грам(-) палочки
Bacteroides bile esculin agar (BBE)	<i>B.fragilis</i> группа, некоторые <i>Fusobacterium spp.</i>	Большинство микроорганизмов
Laked kanamycin vancomycin agar (LKV или KVLB)	<i>Bacteroides spp.</i> , некоторые <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Prevotella spp.</i>	Все грам(+), ФА грам(-) палочки
Тиогликолевая среда обогащенная	Все микроорганизмы	Нет

Лабораторная диагностика

Диски с антибиотиками для идентификации

Микроорганизм	Канамицин 1000 мкг	Ванкомицин 5 мкг	Колистин 10 мкг
<i>B.fragilis</i> группа	R	R	R
<i>B.ureolyticus</i> группа	S	R	S
<i>Fusobacterium spp.</i>	S	R	S
<i>Porphyromonus spp.</i>	R	S	R
<i>Prevotella spp.</i>	R	R	V
<i>Veillonella spp.</i>	S	R	S
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	R	S	R
Грам(+) анаэробные палочки	V	S	R
Грам(+) анаэробные кокки	S	S	R

Лабораторная диагностика

Ориентировочная идентификация

Канамицин, ванкомицин, колистин

RRR		SRR	RSR		RRS
↓ Желчь		↓	↓ Окраска по Граму		↓ <i>Prevotella spp.</i> или др. Грам(-) палочки
R	S	↓ <i>B. urealiticum</i> группа <i>Fusobacterium spp.</i>		↓ Грам (+)	↓ Пигментообразование и/или флюоресценция
↓	↓	↓ Редукция нитратов		↓ Грам(-) <i>Porphyromonas spp.</i> Пигментообразование и/или флюоресценция	
<i>B. fragilis</i> группа	<i>Prevotella spp.</i>	+	-	Я	
		<i>B. urealiticum</i> группа	<i>Fusobacterium spp.</i>		

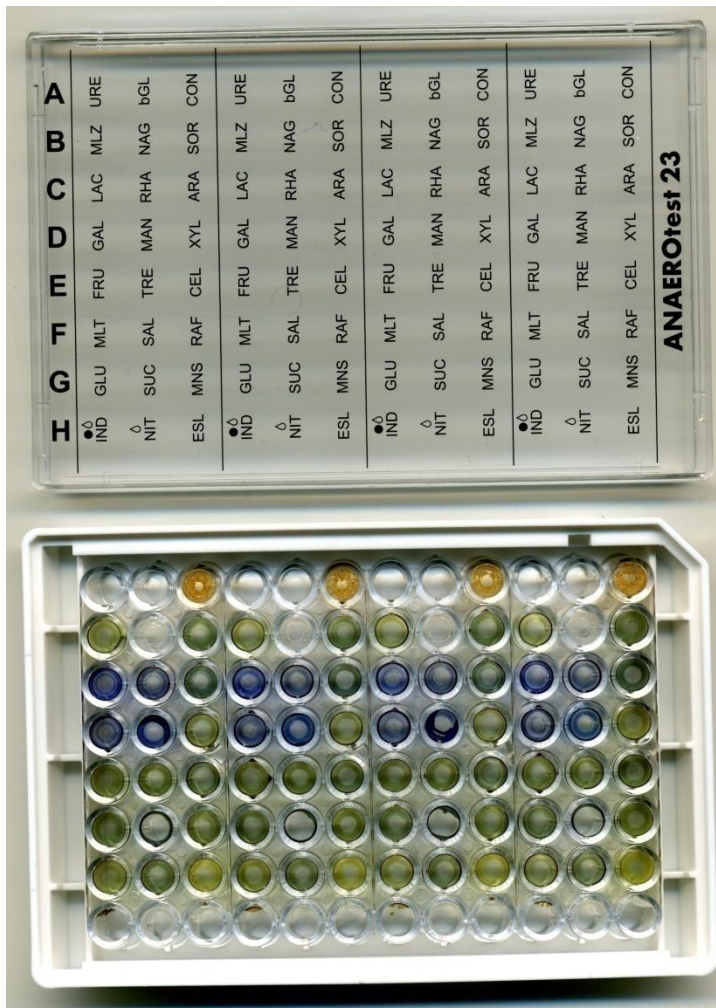
R - устойчивый
S - чувствительный

Лабораторная диагностика

Идентификация

- Биохимическая
- Газожидкостная хроматография
- MALDI-TOF масс спектрометрия

Тест-системы для биохимической идентификации анаэробов



MIKROTEST®

ANAEROtest 23

Datum/Dátum/Date/Дата Zprac./Sprac./Ref./Идент. провел

PLIVA-Lachema Diagnostika s.r.o.
Karásek 1
621 33 Brno, CZ

Kmen č./Kmeň č./Strain No./Ho. анализа

Poznámky/Notes/Отметки

	H	G	F	E	D	C	B	A
1	IND 1 D	GLU 1 U	MLT 1 T	FRU 1 U	GAL 1 L	LAC 1 C	MLZ	URE
2	NIT 2 T	SUC 2 C	SAL 2 L	TRE 2 E	MAN 2 N	RHA 2 A	NAG	bGL
3	ESL 4 L	MNS 4 S	RAF 4 F	CEL 4 L	XYL 4 L	ARA 4 A	SOR	CON
								=Profil/Profile/Профиль

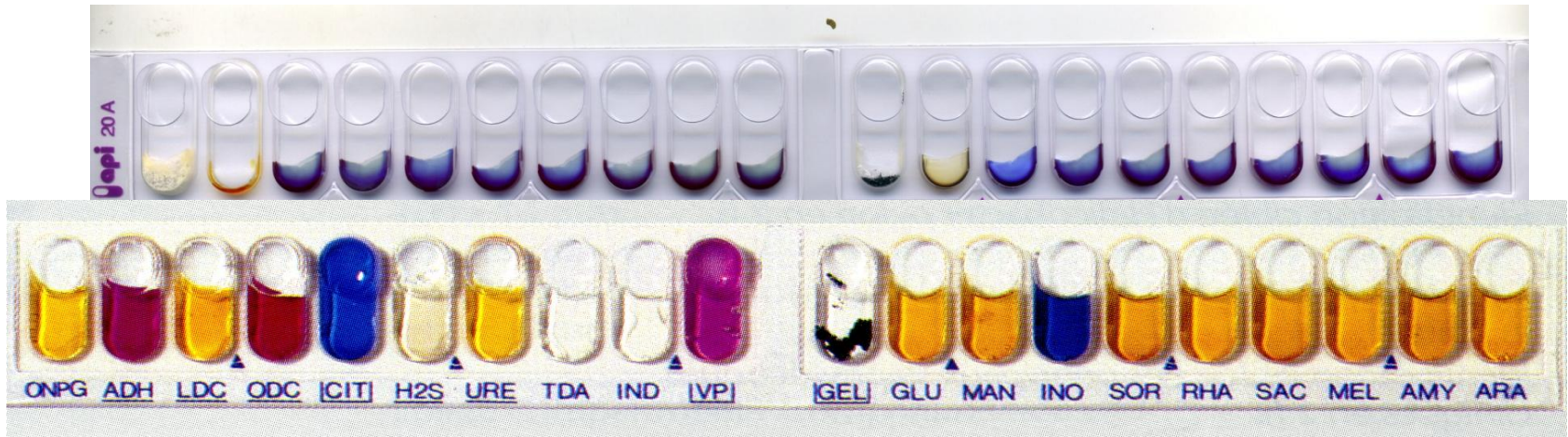
Dodatkové testy/Additional tests/Дополнительные тесты

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Identifikace/Identifikácia/Identification/Идентификация

3/06

Тест-системы для биохимической идентификации анаэробов



api 20 A

07225 REF. : _____
 Origine / Source / Herkunft / Origen / Prelievo : _____

bioMérieux

1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT	SPOR	GRAM	COCC						

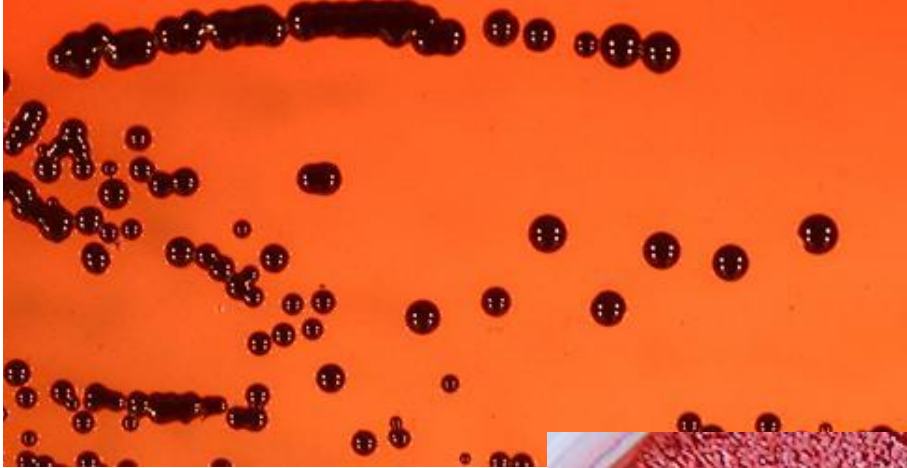
Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests : _____

Ident. : _____

Imprimé en France / Printed in France

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам

- Метод серийных разведений.
Стандарты.
 - ✓ CLSI
 - ✓ EUCAST
- Диско-диффузионный метод???

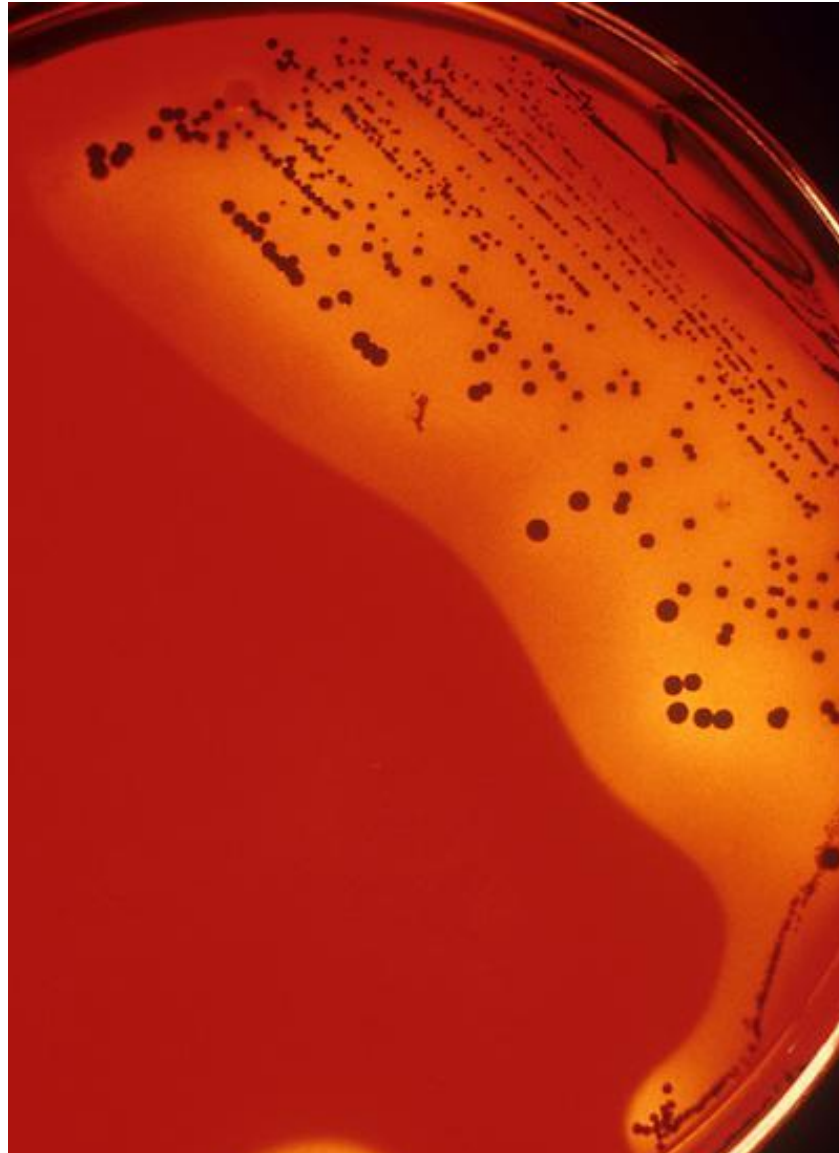


*Prevotella
melaninogenica*



Porphyromonas gingivalis

Prevotella melaninogenica



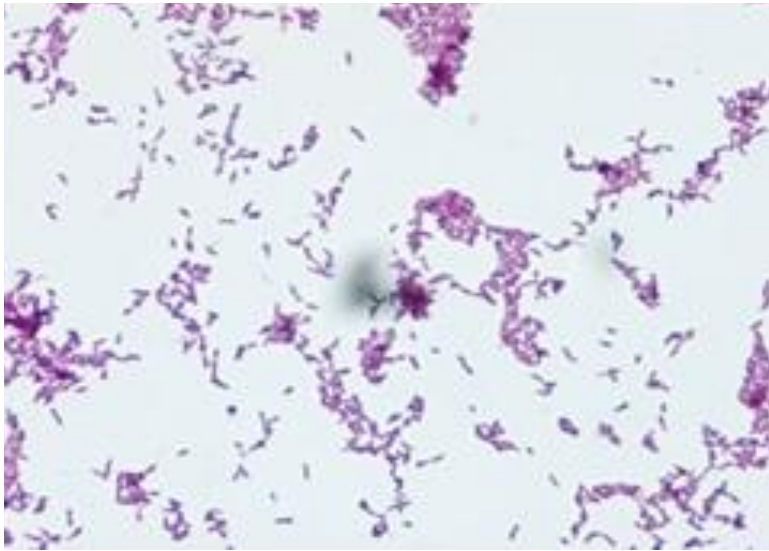
Fusobacterium nucleatum

Prevotella denticola

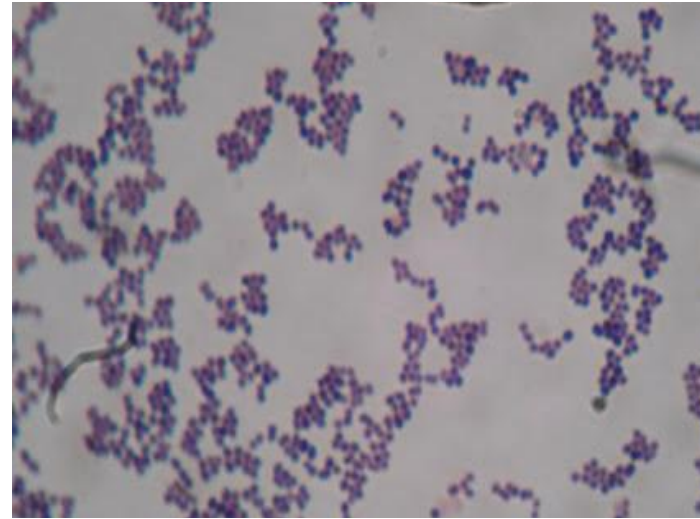
Peptostreptococcus octavius

Fusobacterium necrophorum

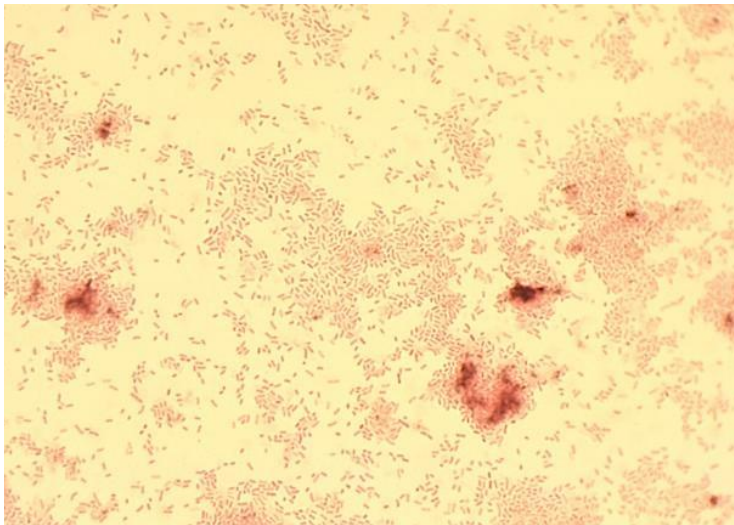




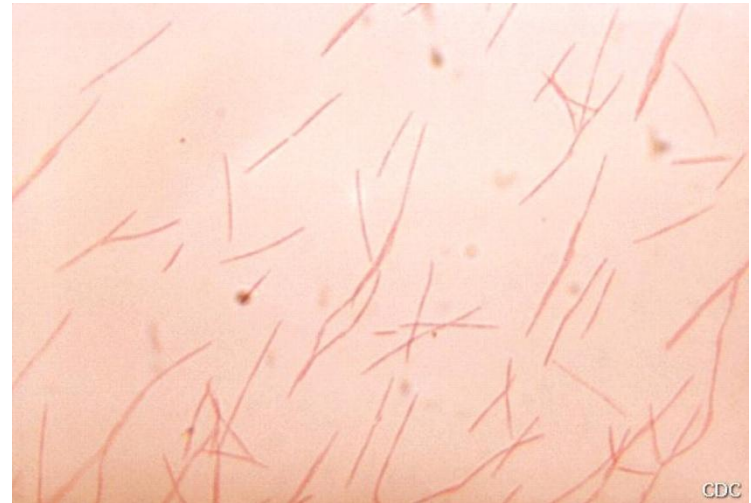
***Propionibacterium* spp.**



***Peptostreptococcus* spp.**

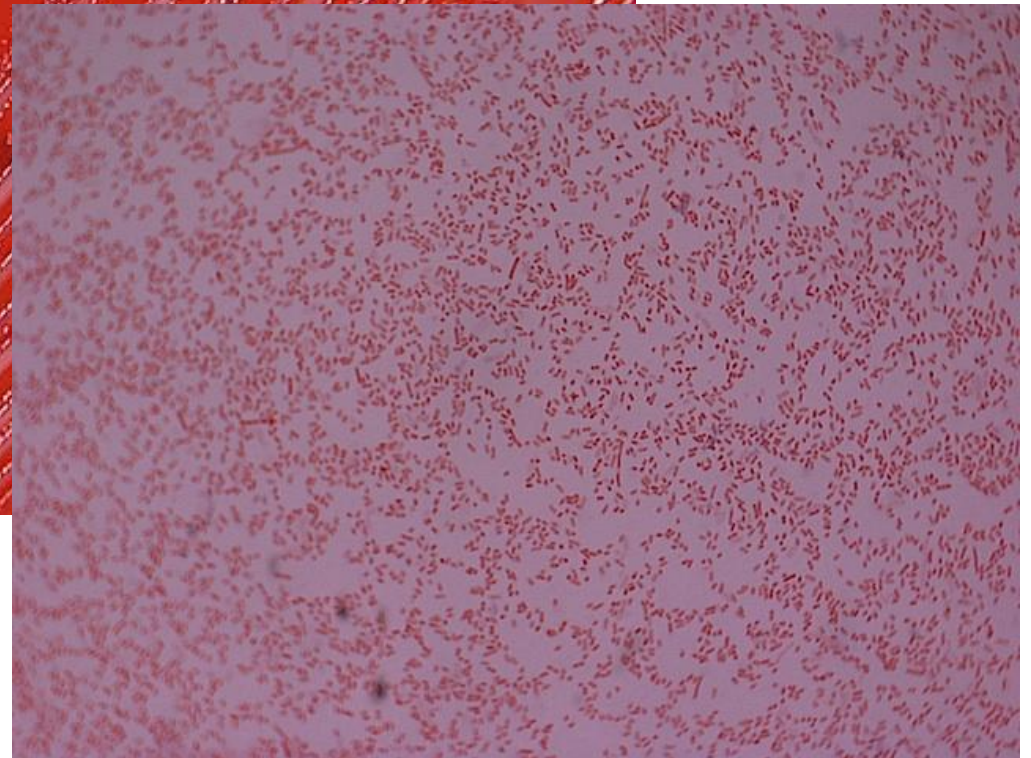
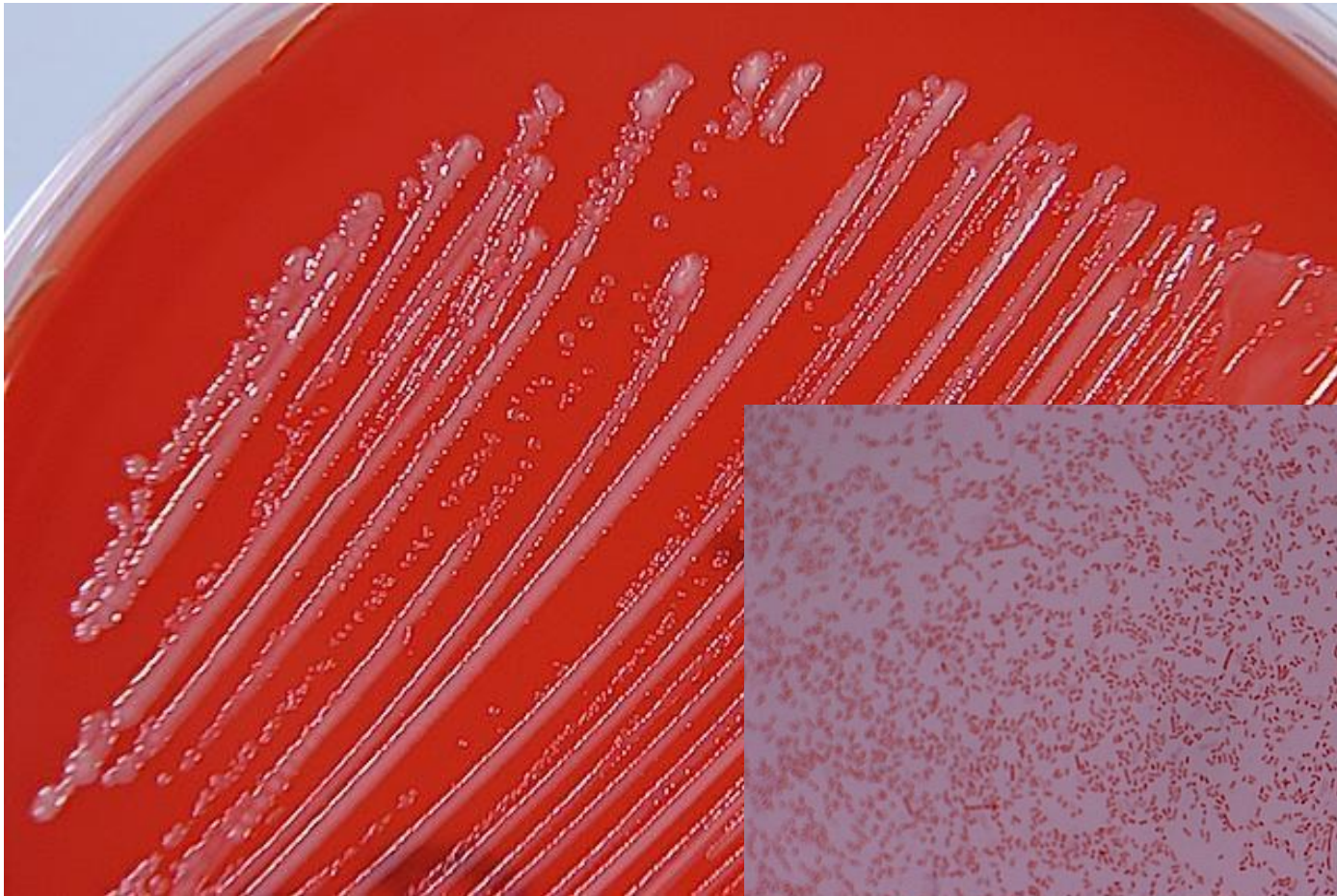


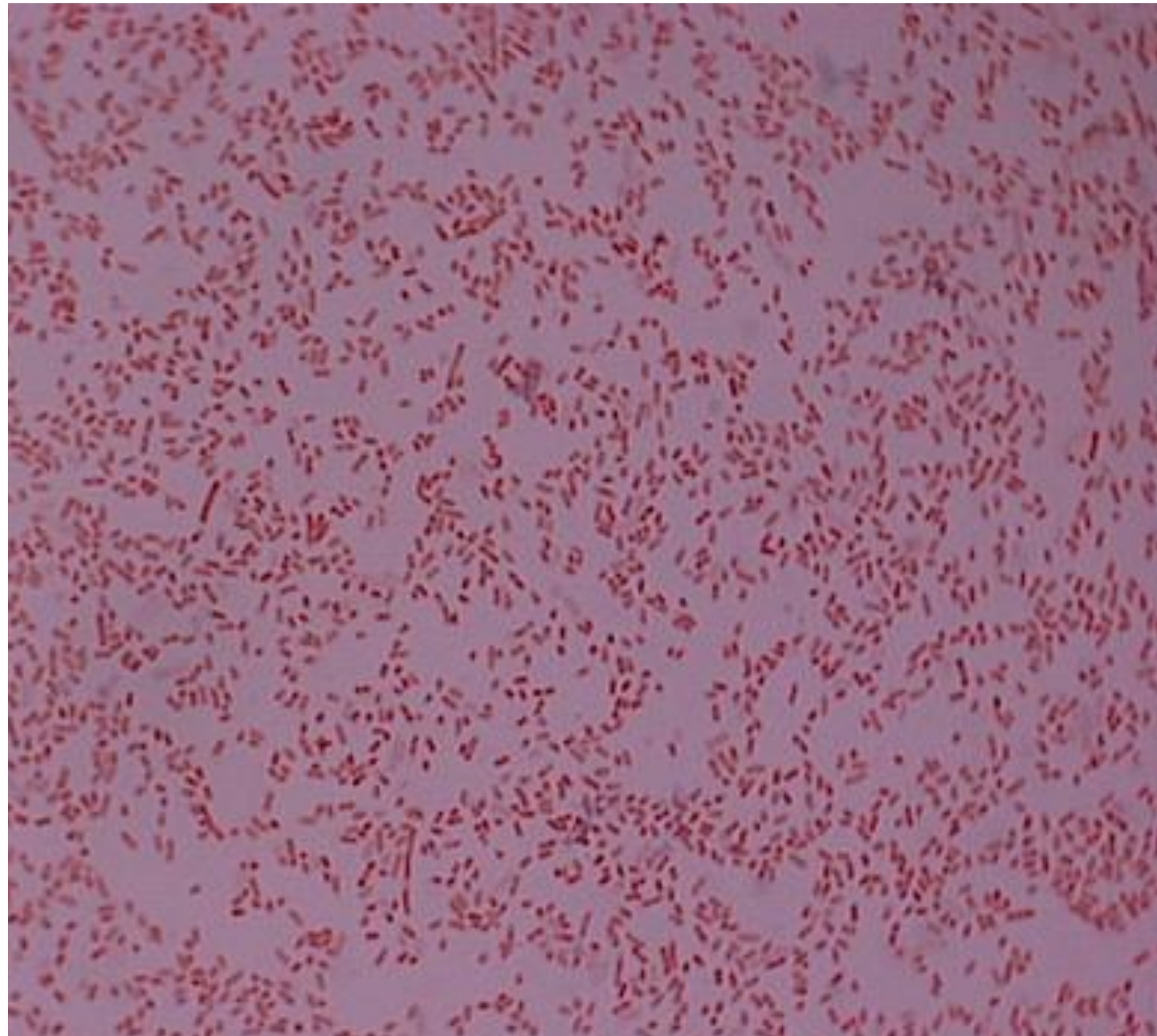
***Prevotella* spp.**



***Fusobacterium* spp.**

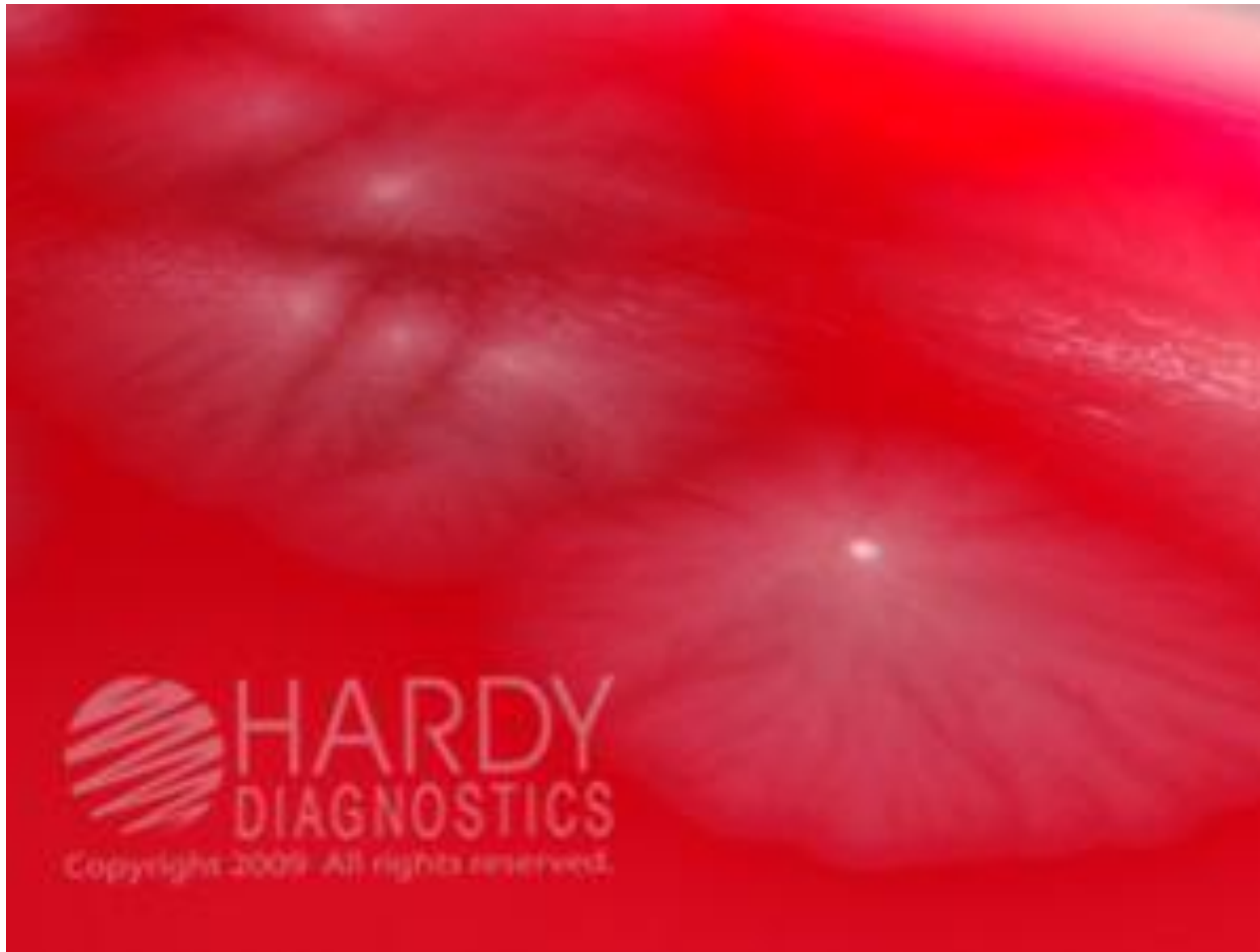
Bacteroides vulgatus



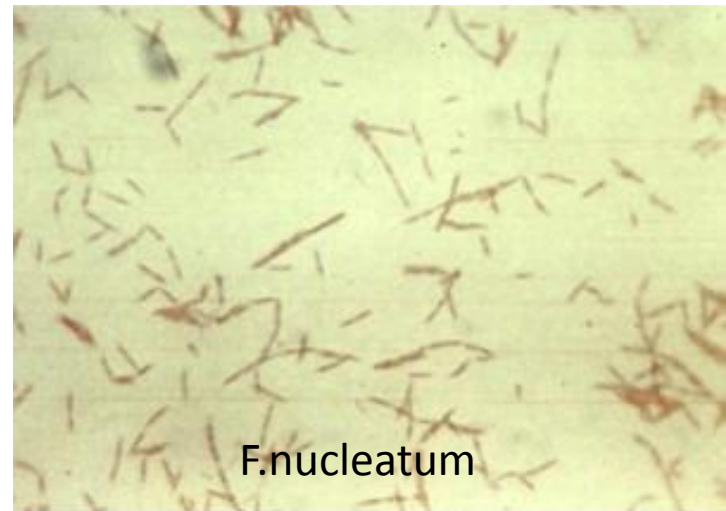
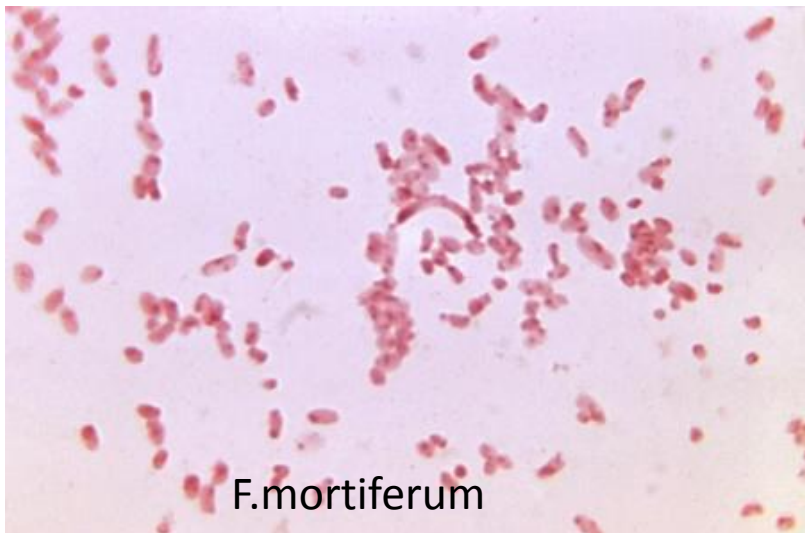
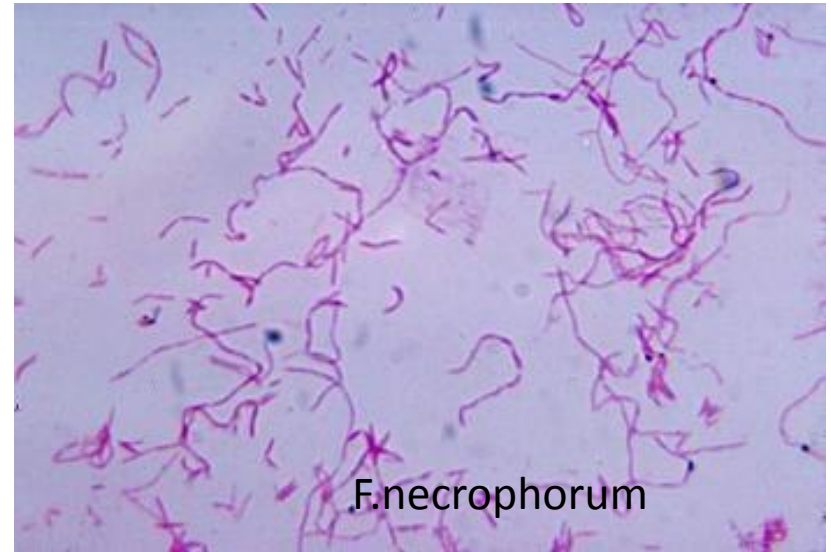
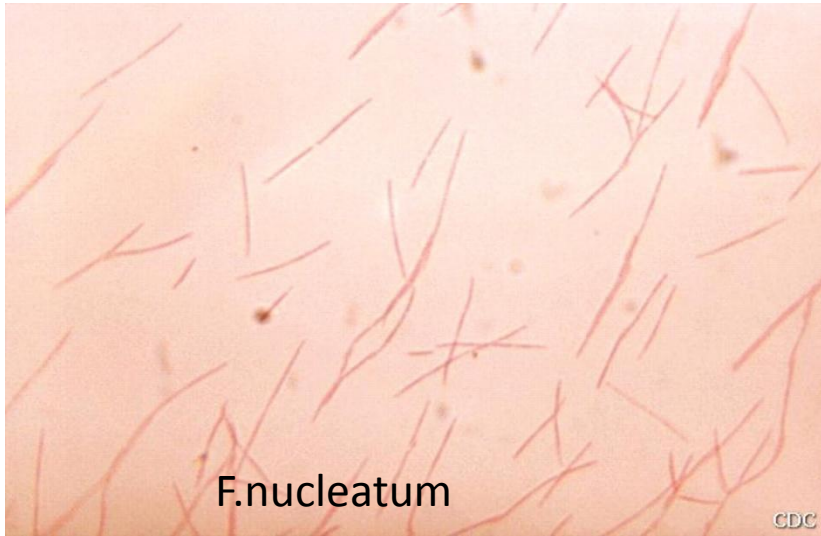


Bacteroides levii

рост на Бруцелл агаре с гемином и витамином
К1



Fusobacterium spp.



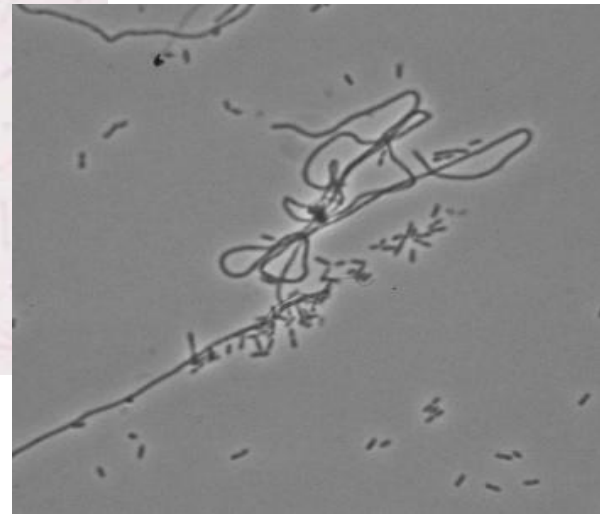
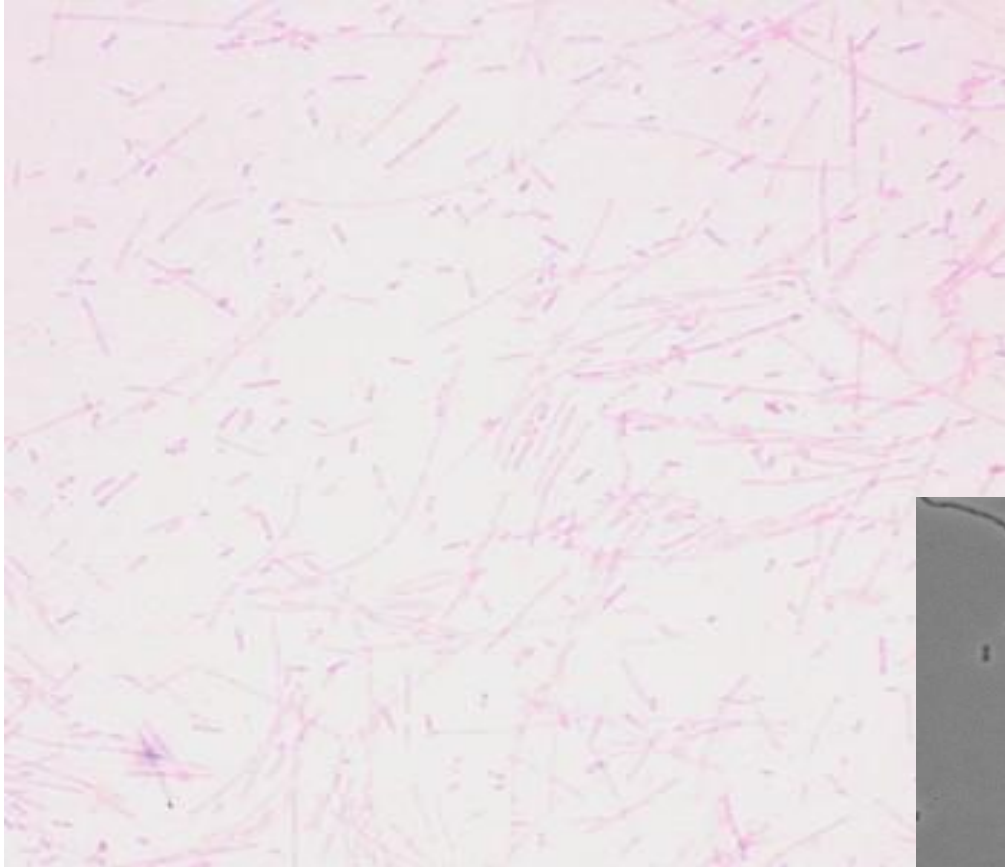
***Fusobacterium* spp.**



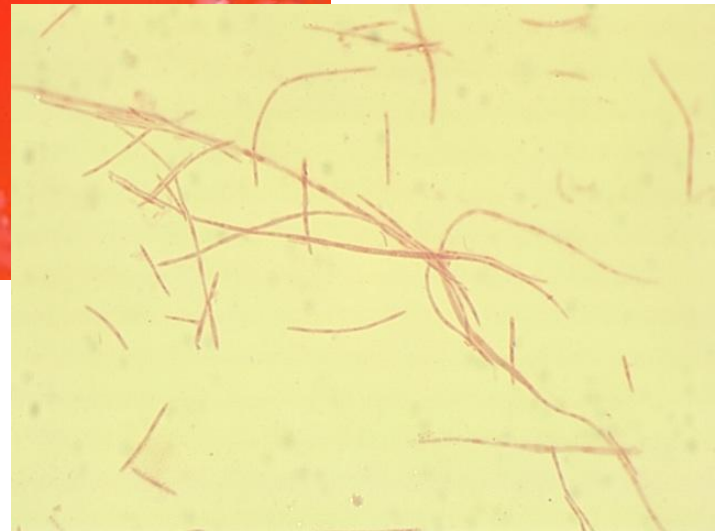
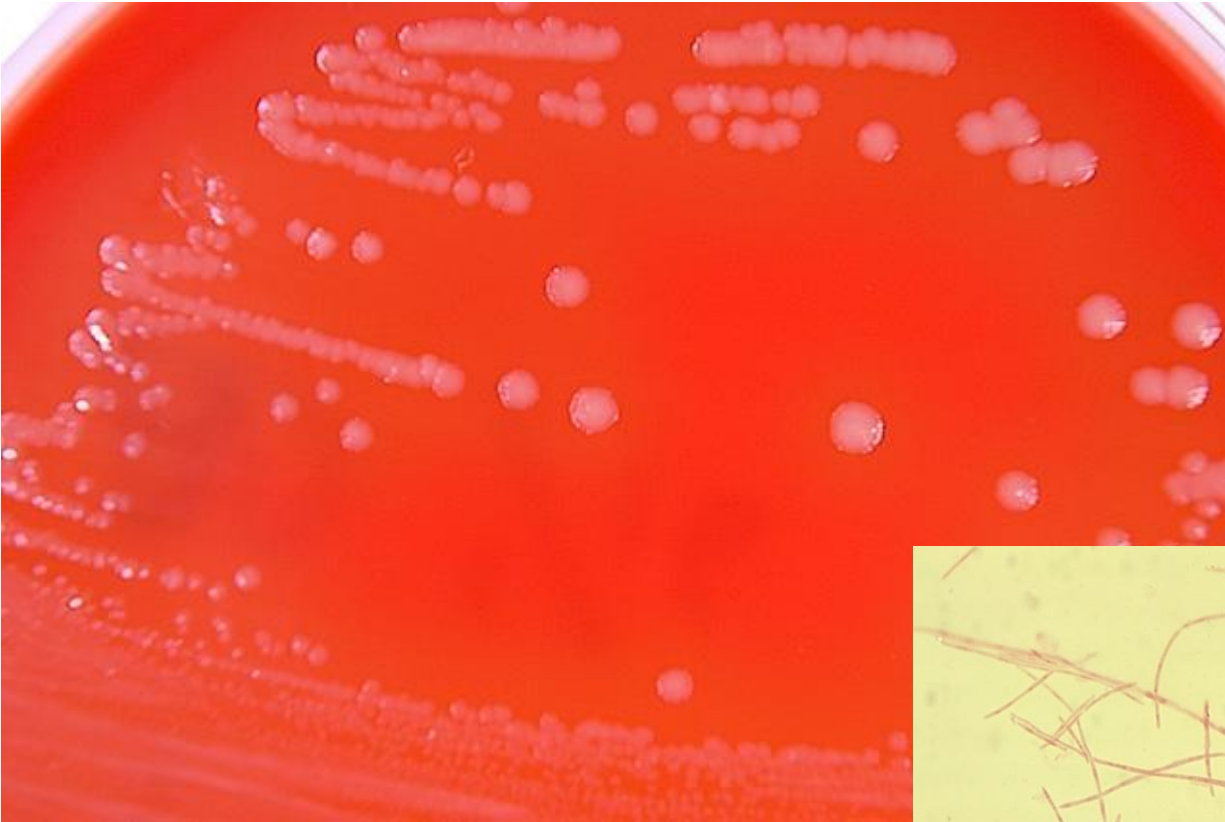
Fusobacterium necrophorum



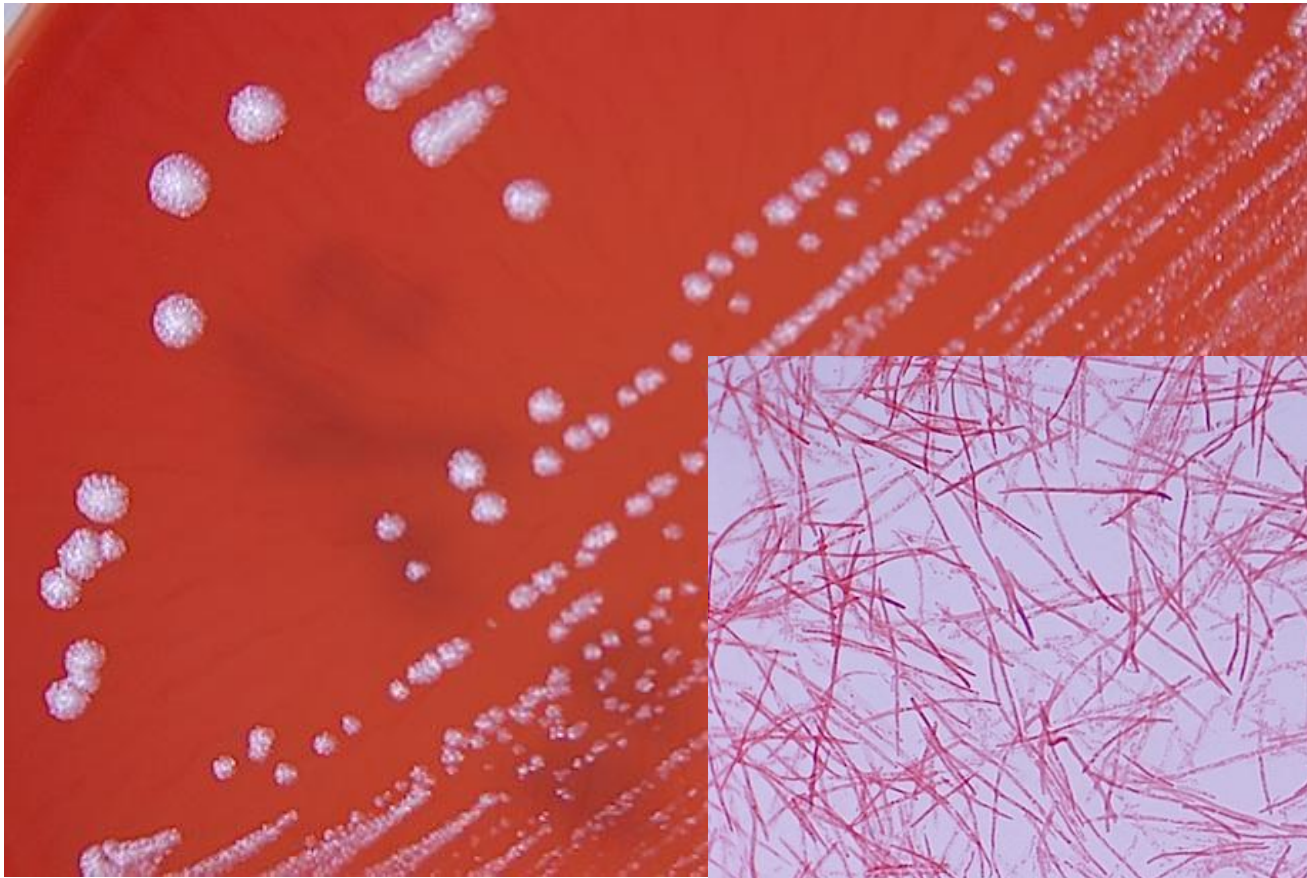
Fusobacterium necrophorum



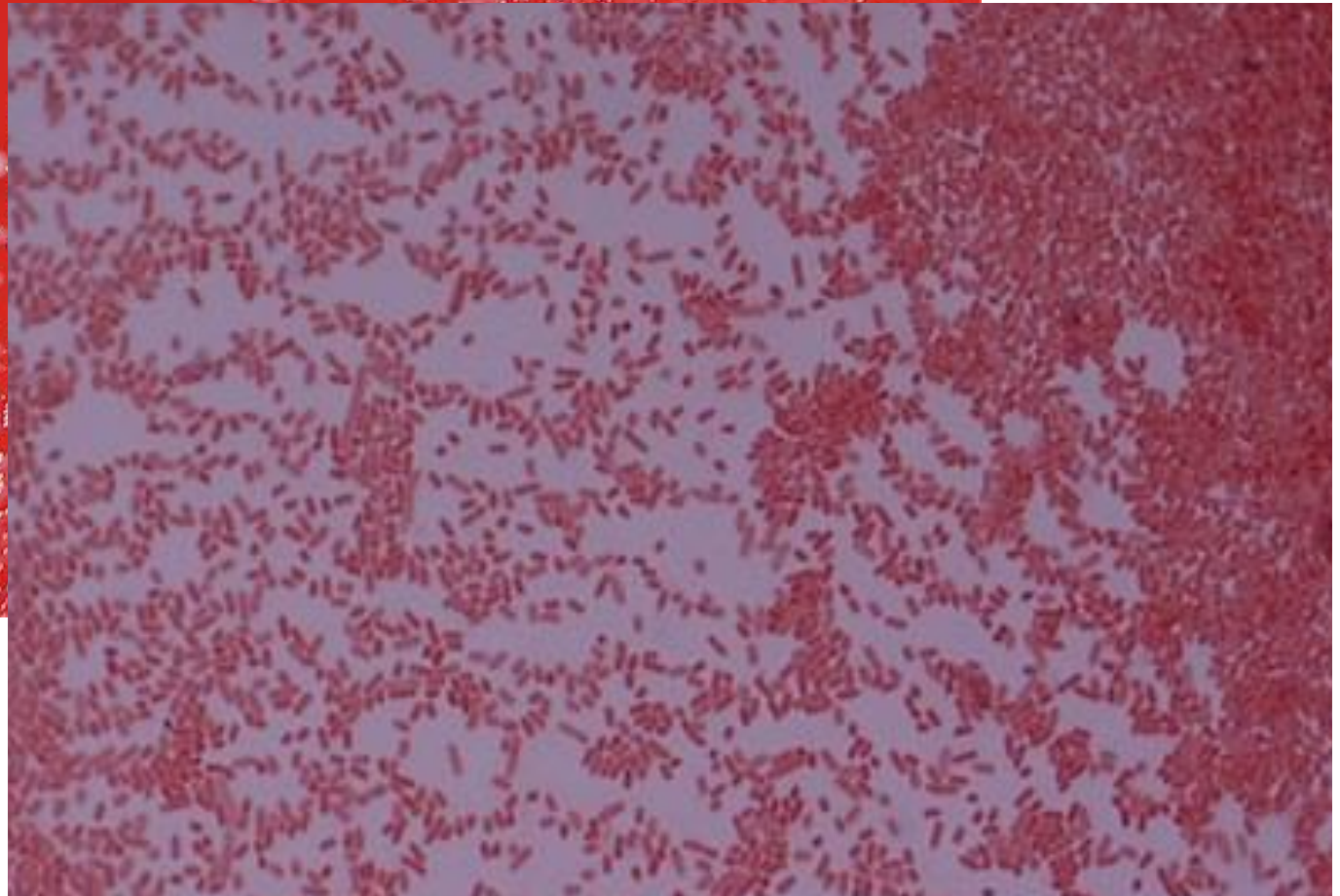
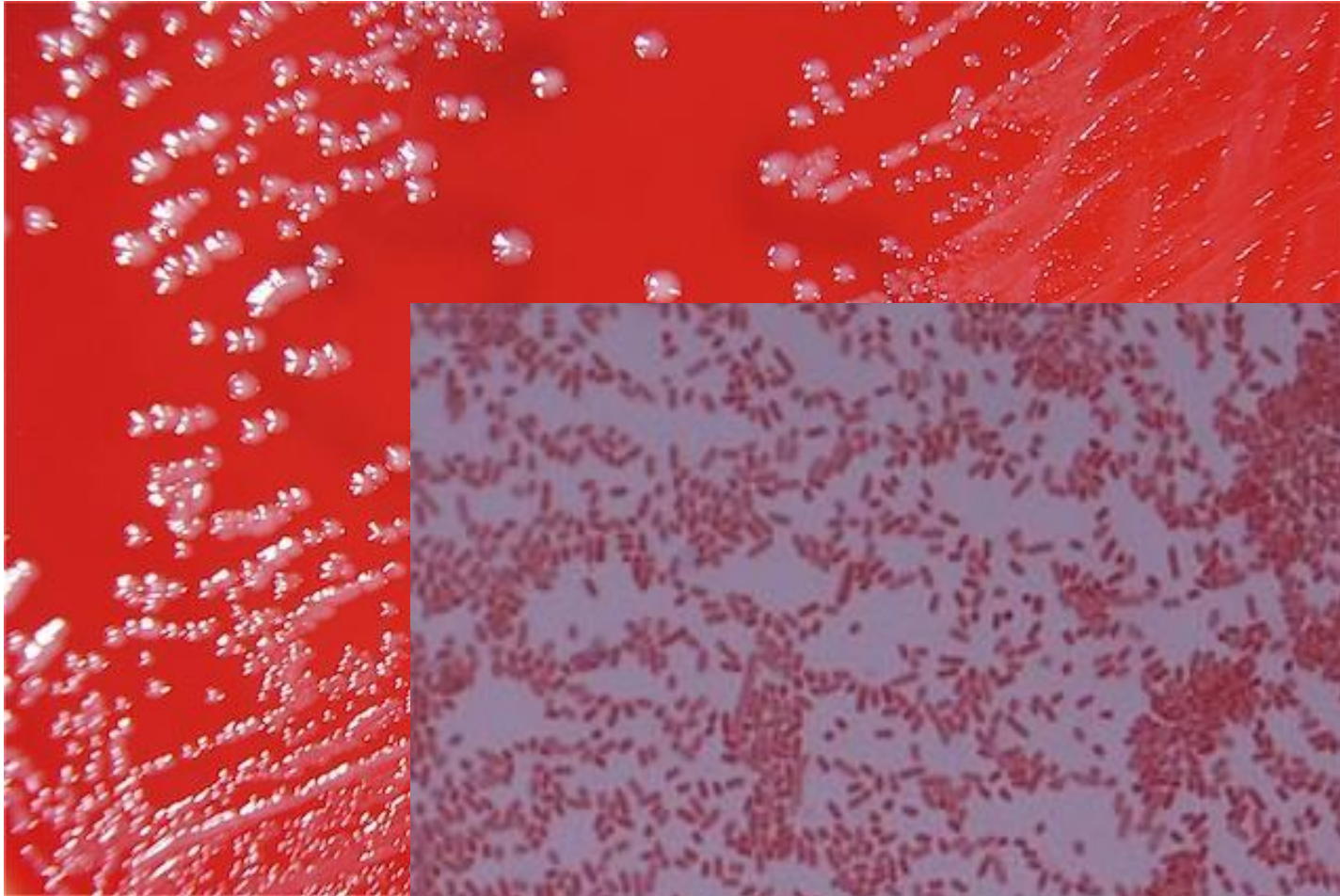
Fusobacterium periodonticum



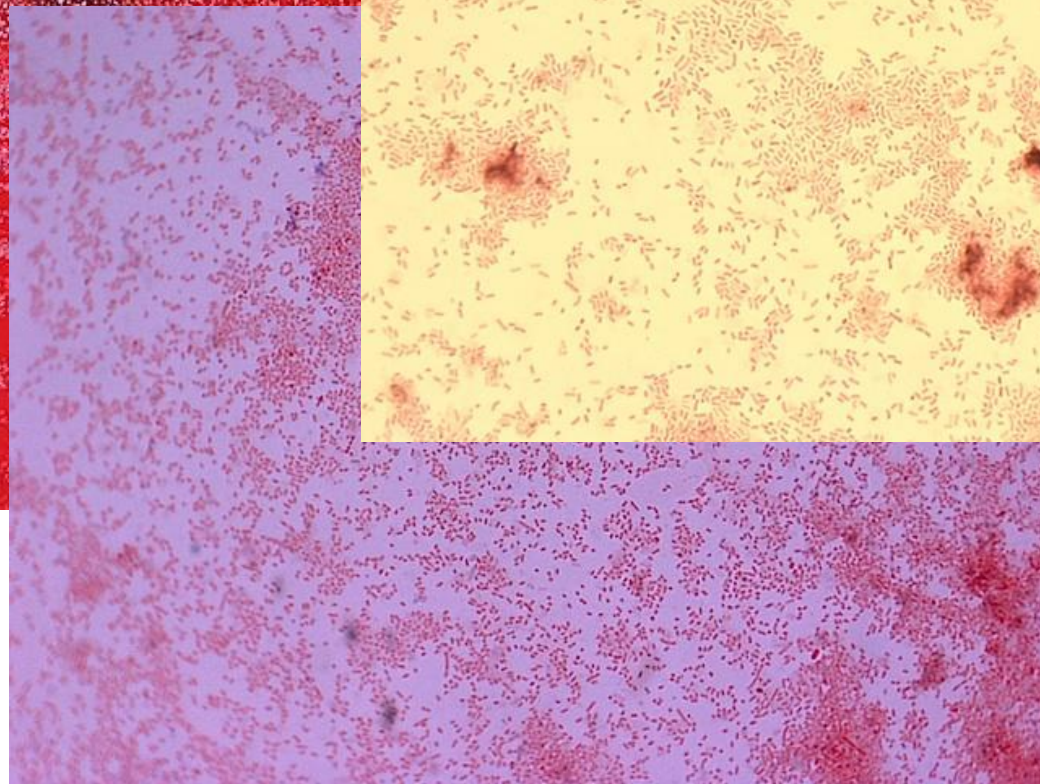
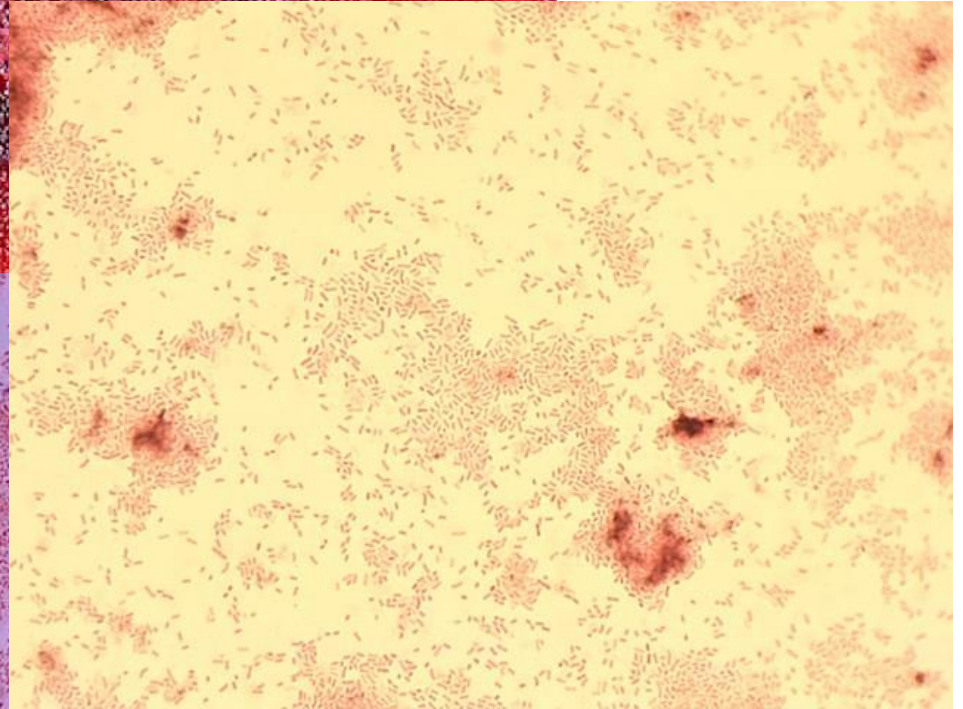
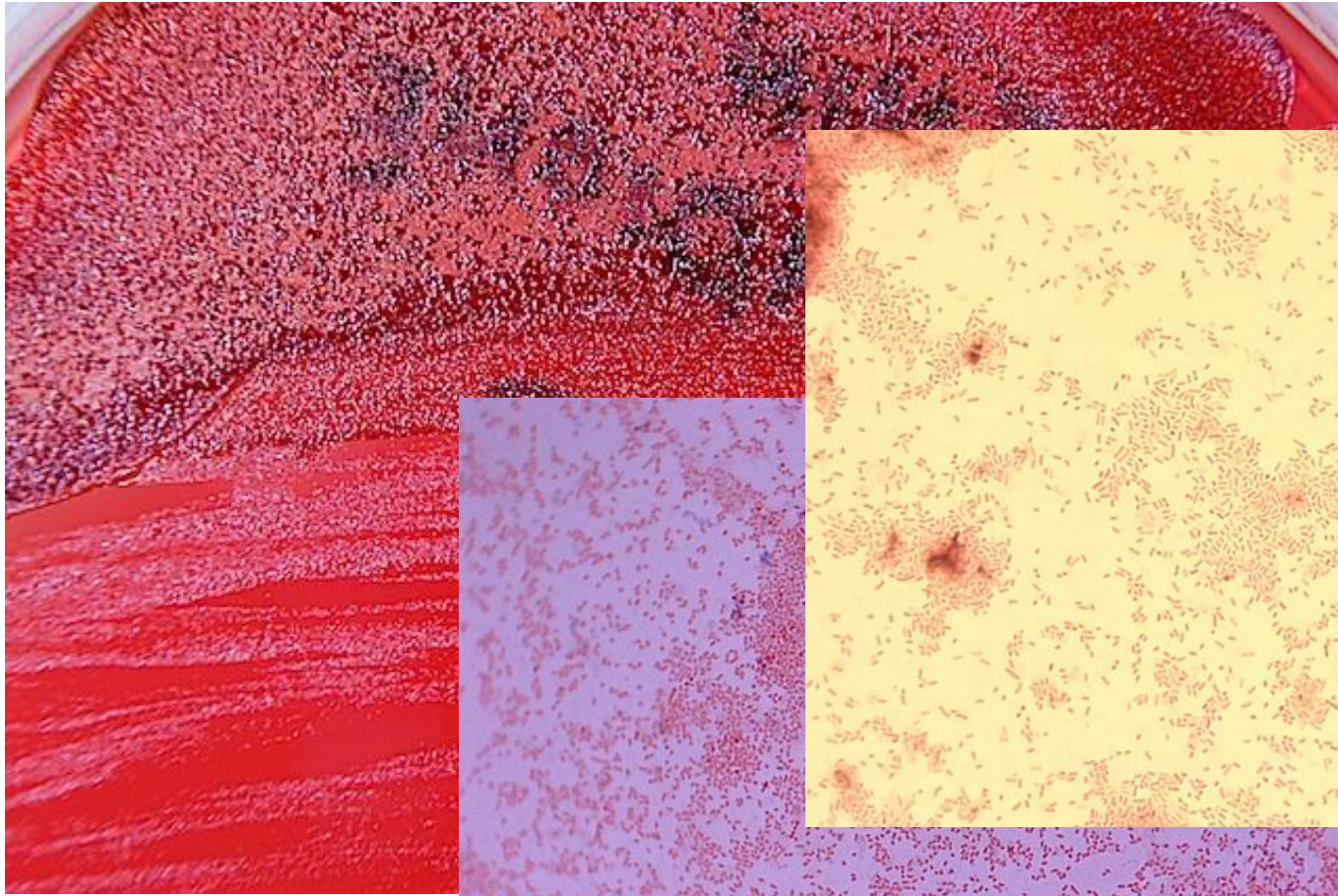
Leptotrichia buccalis

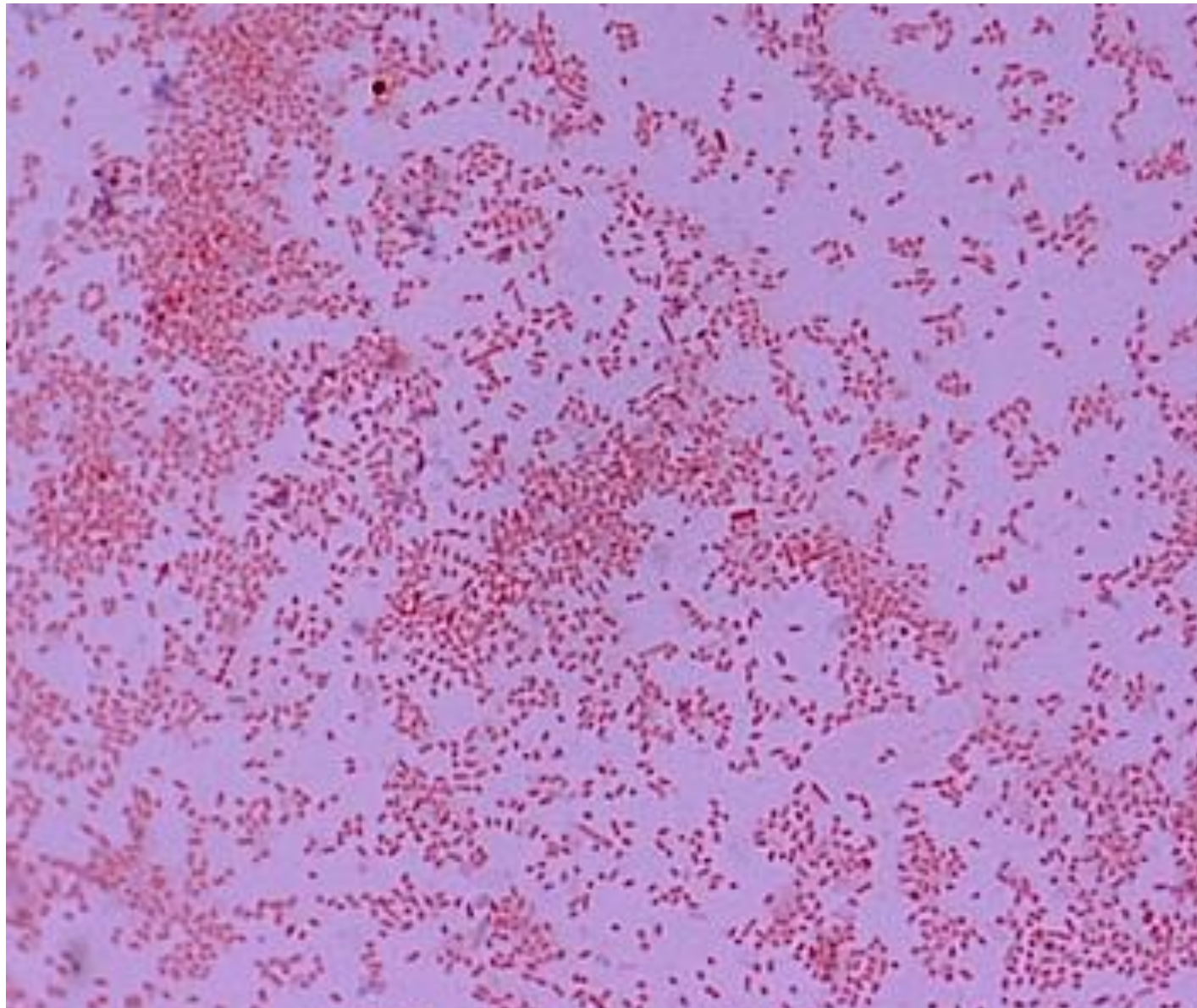


Bacteroides thetaiotamicron



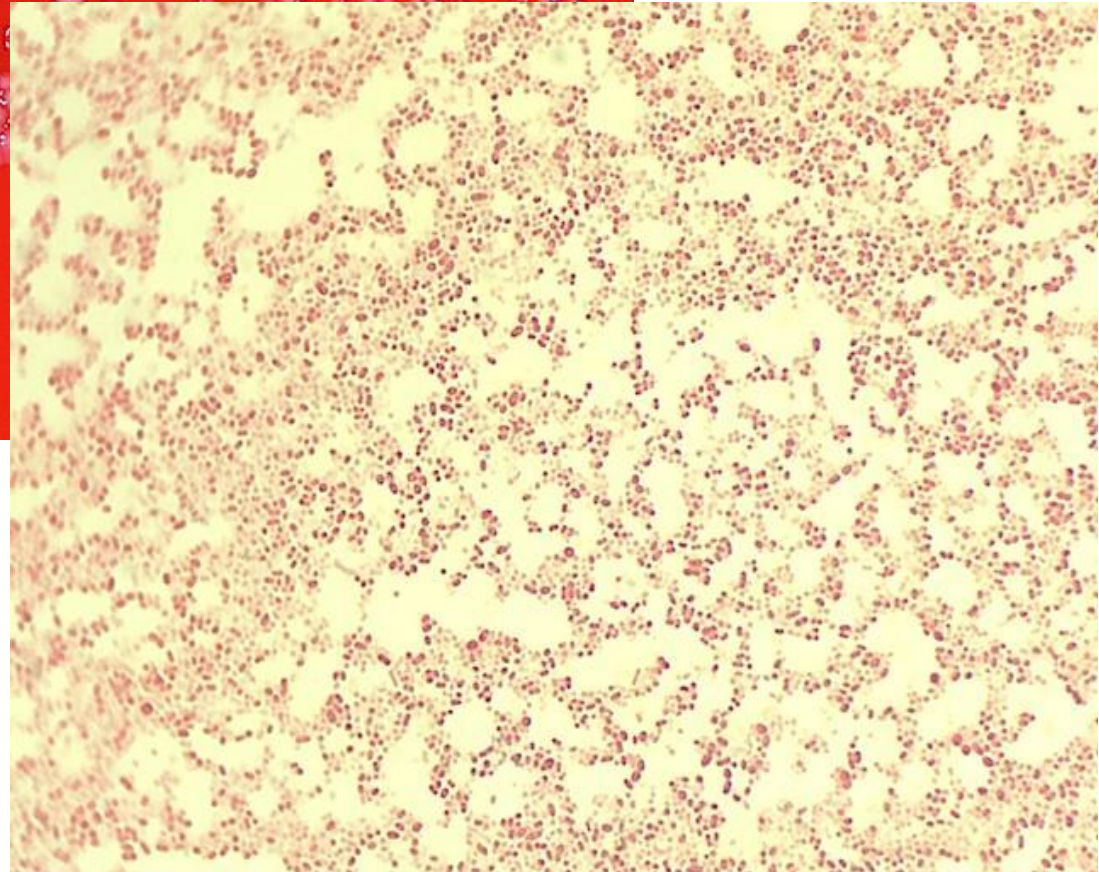
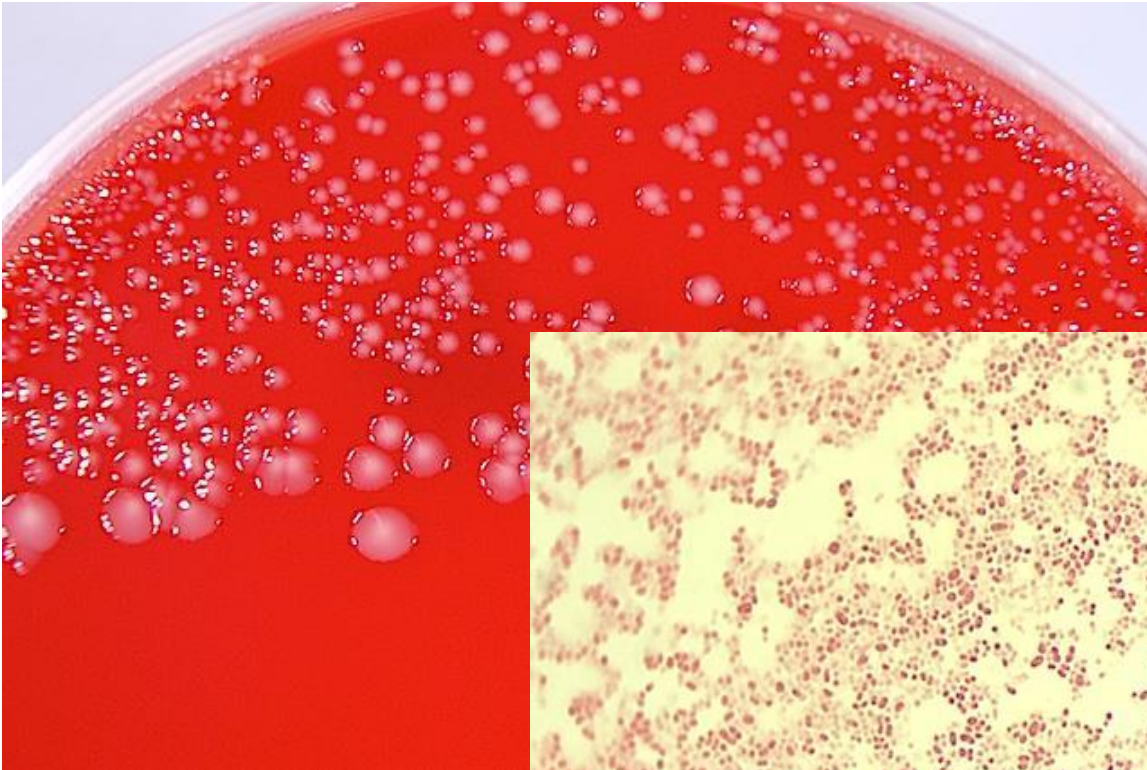
Porphyromonas gingivalis

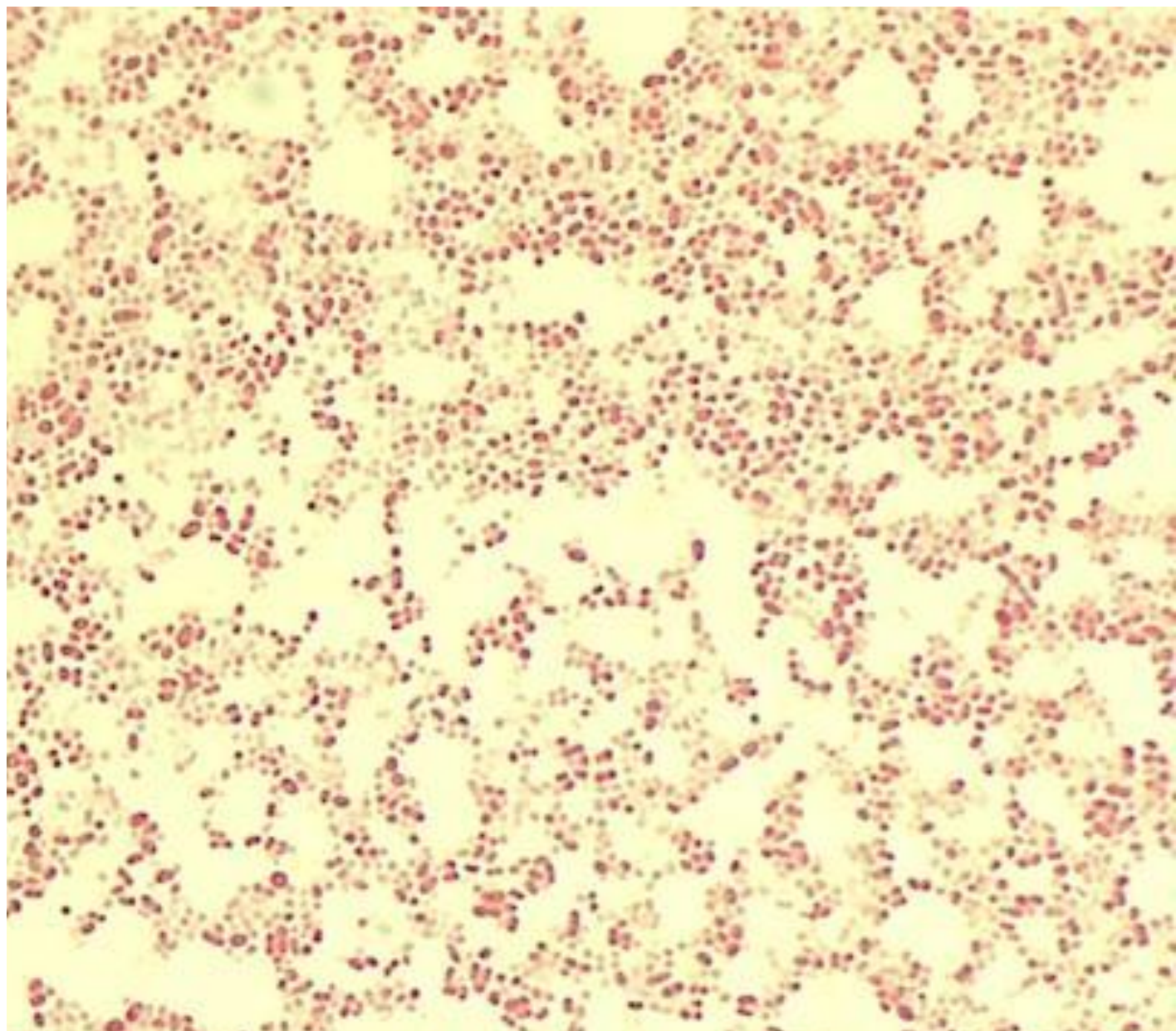




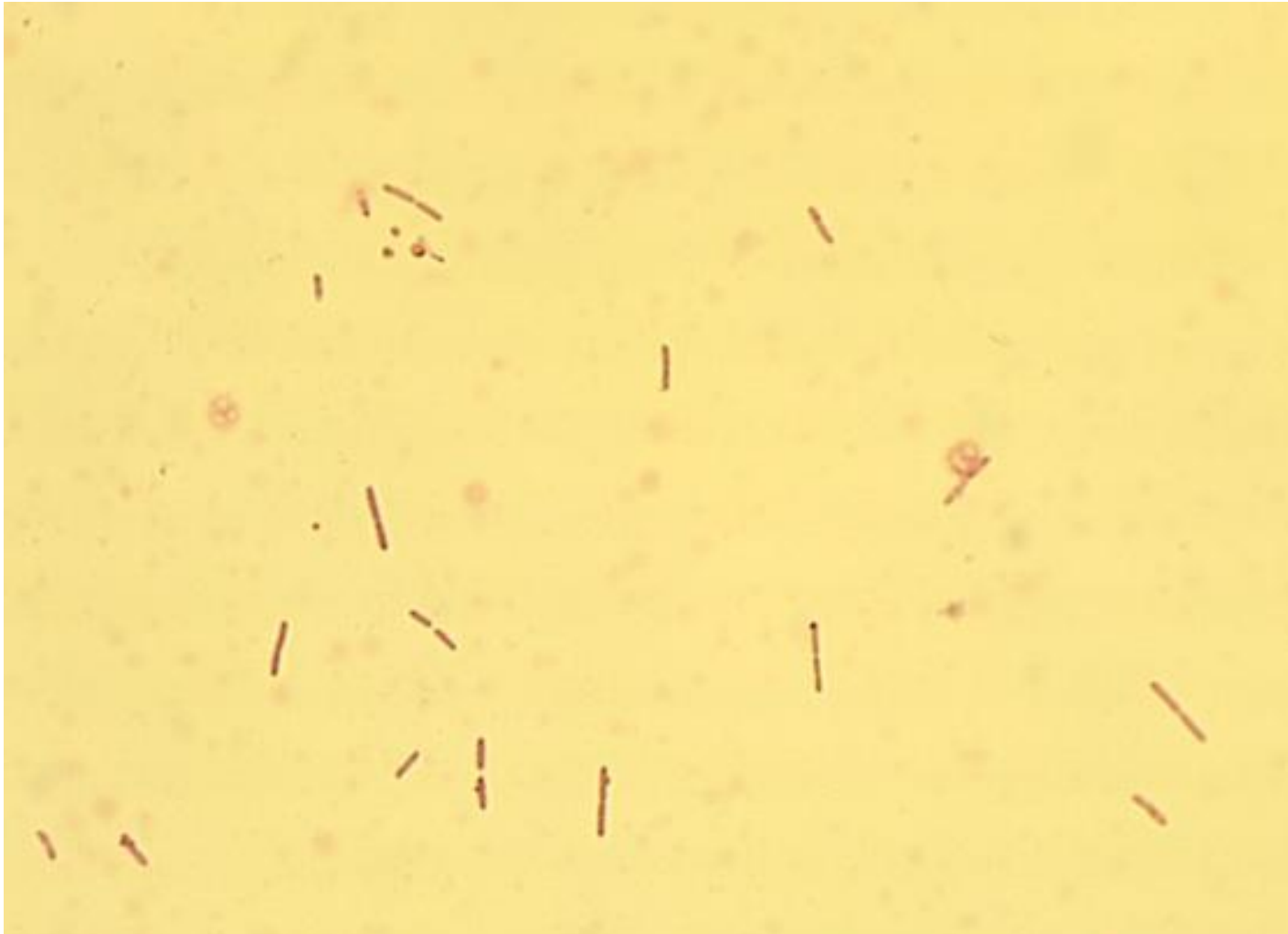


Prevotella corporis



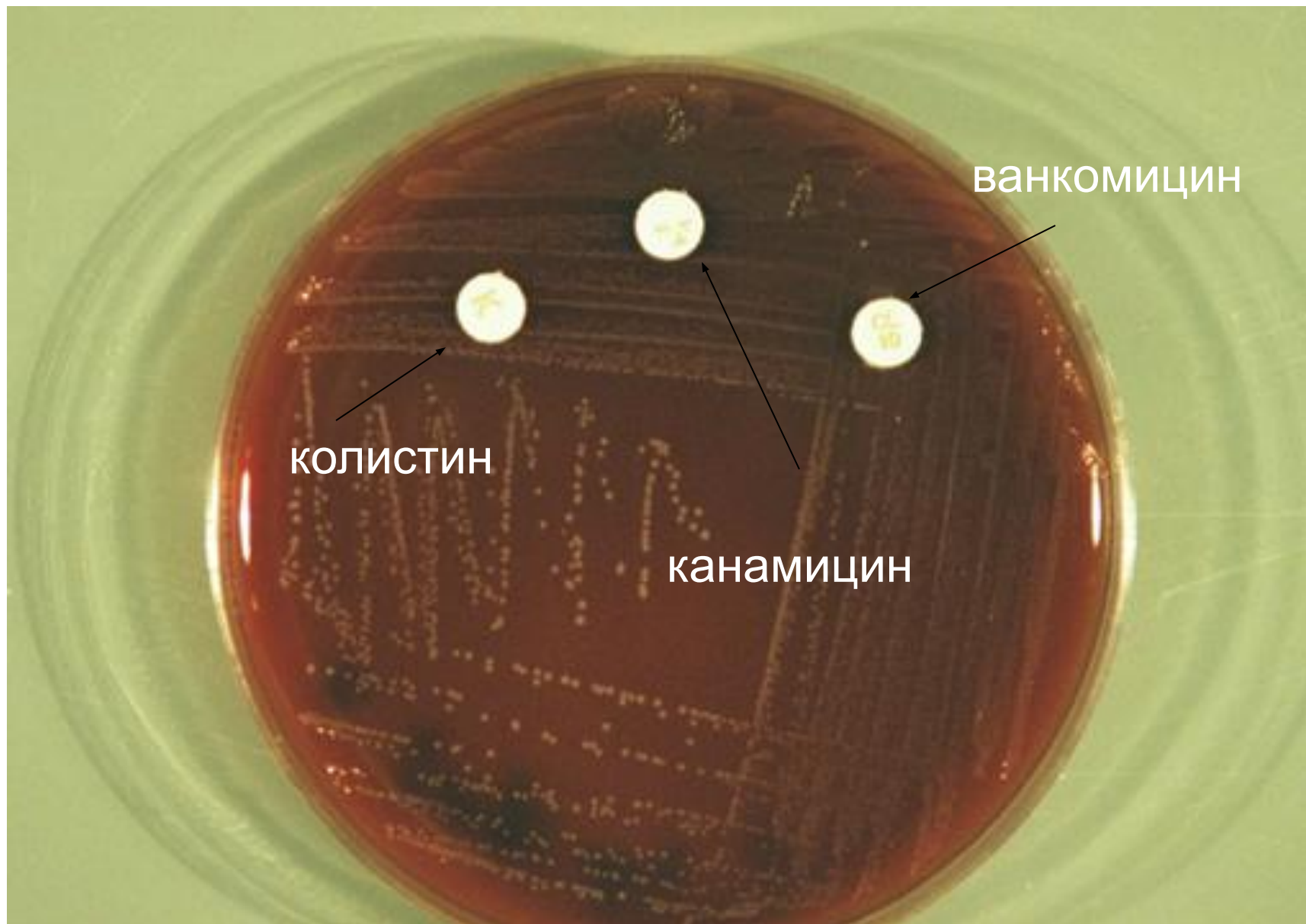


Anaerobaculum mobile



B. fragilis

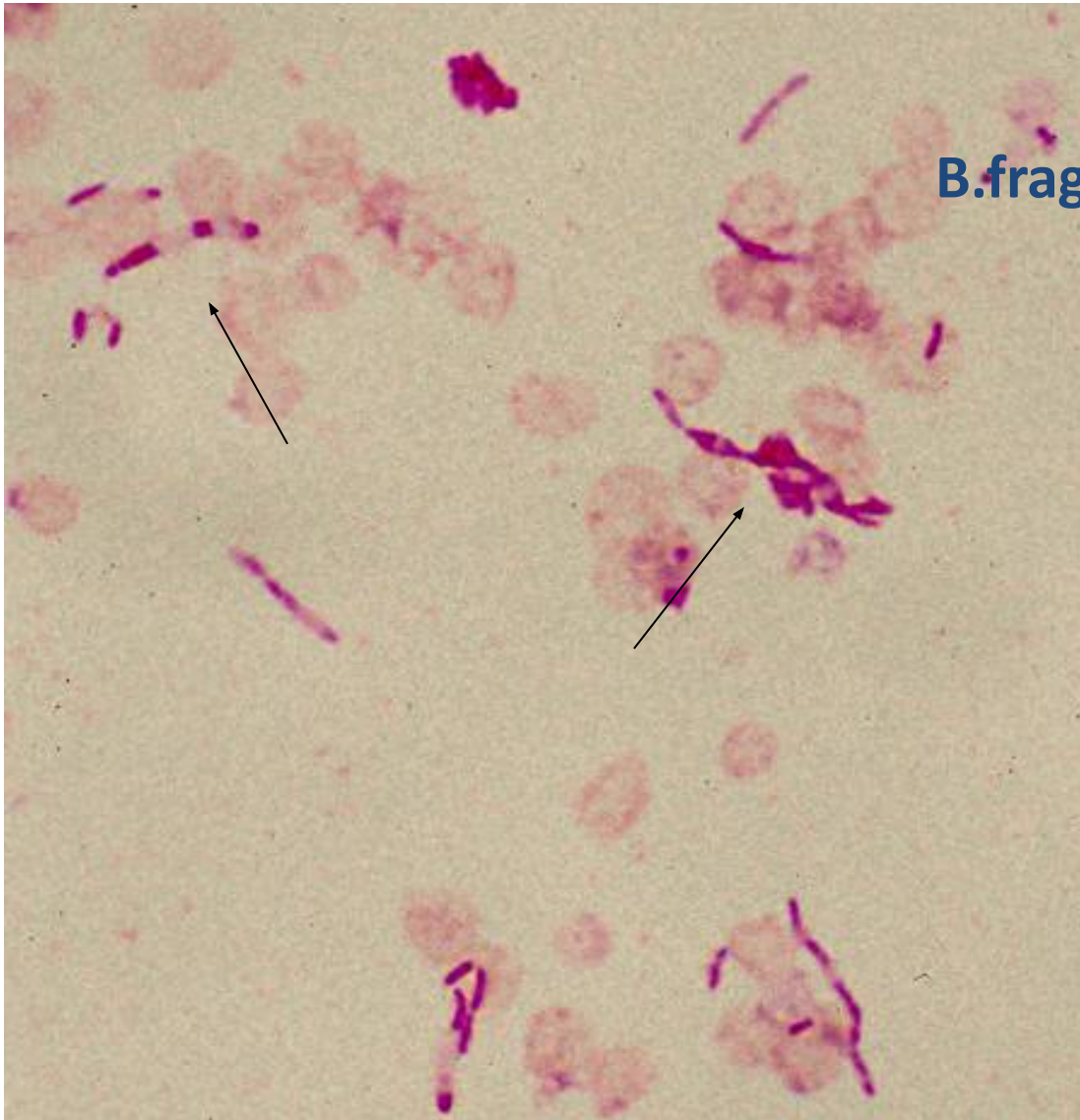




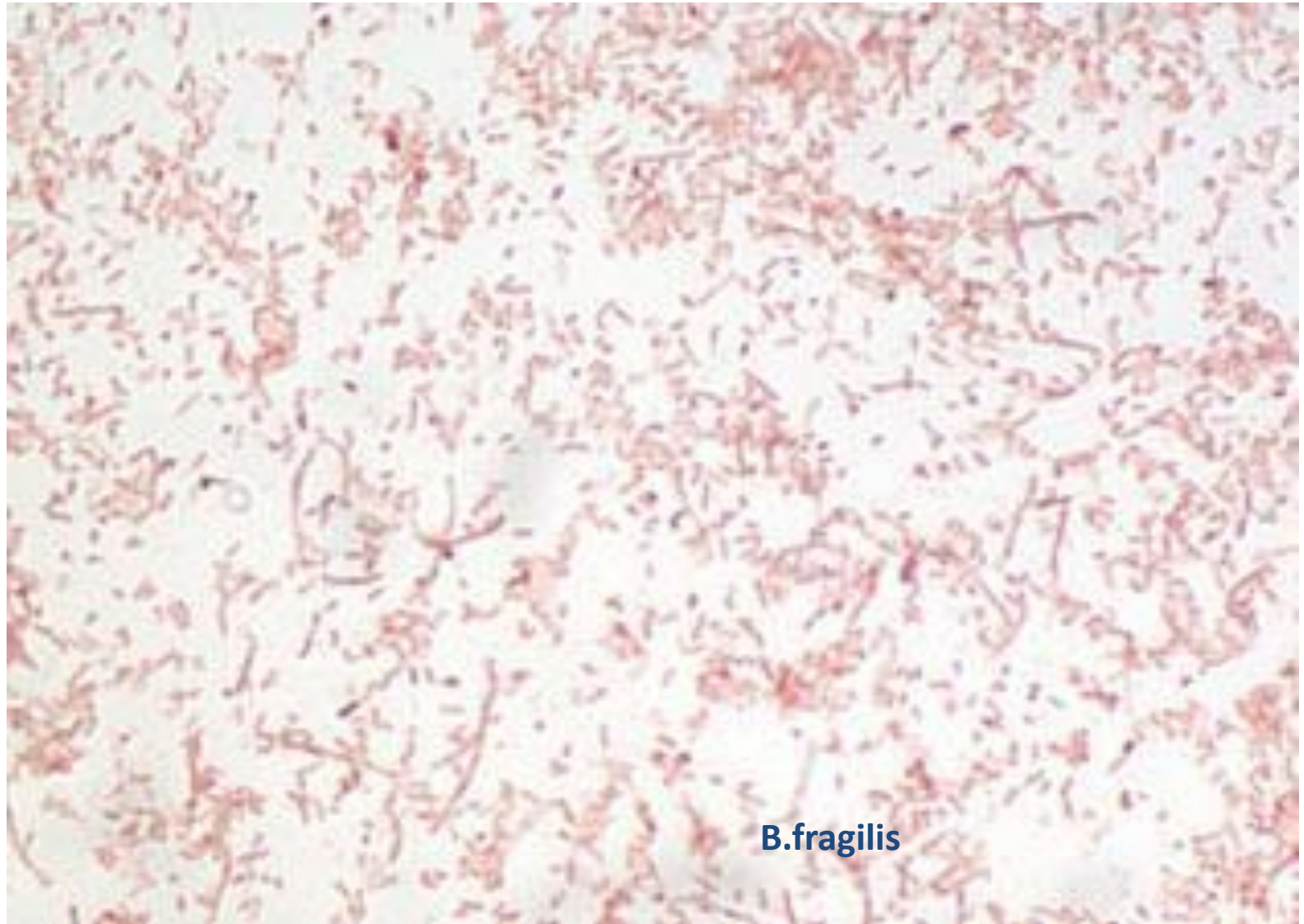
КОЛИСТИН

канамицин

ванкомицин

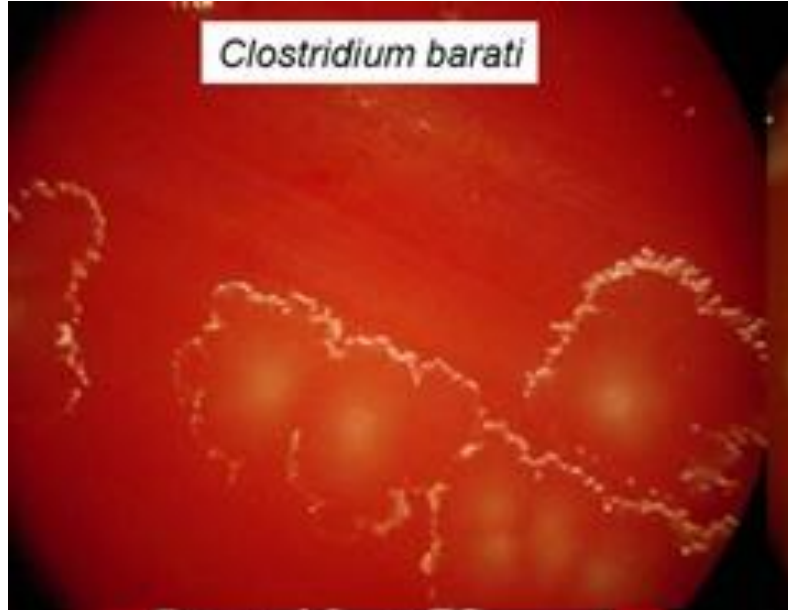


B.fragilis



B.fragilis

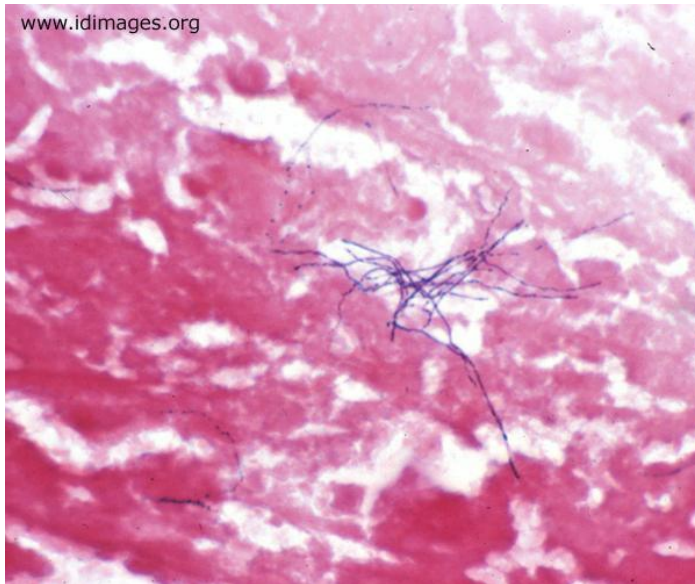
Clostridium barati



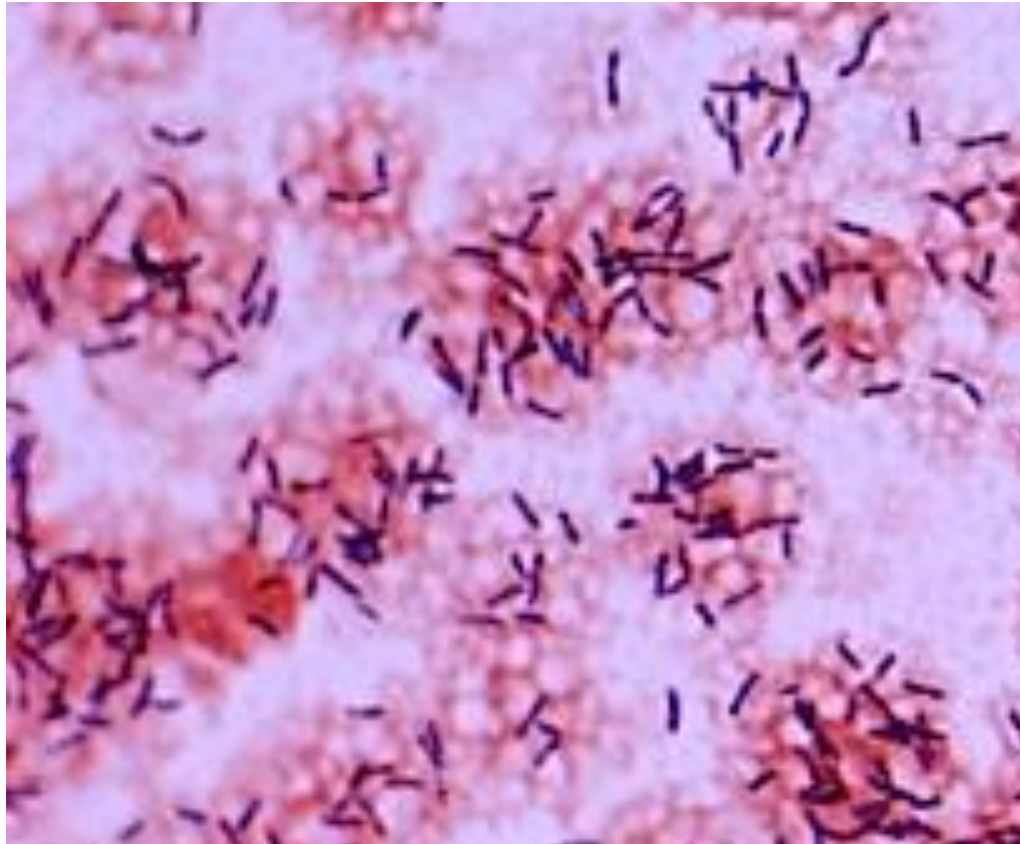
Propionibacterium acnes



Actinomyces spp.

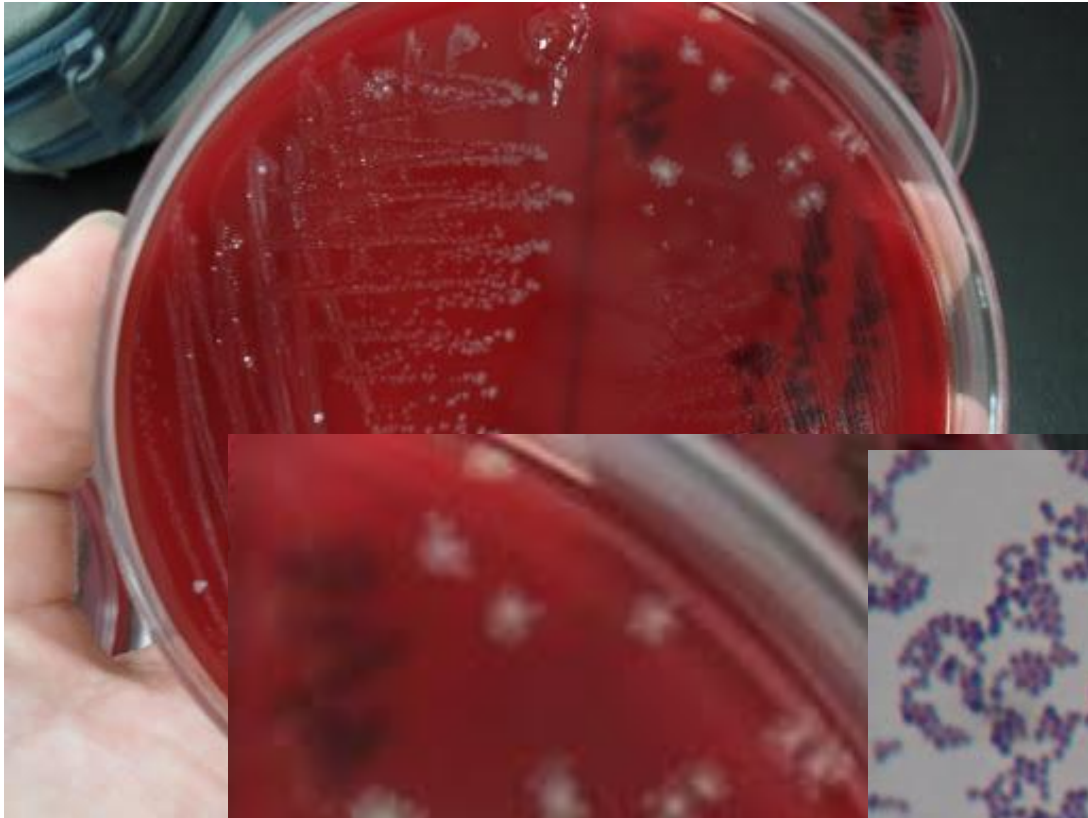


Eubacterium rectale

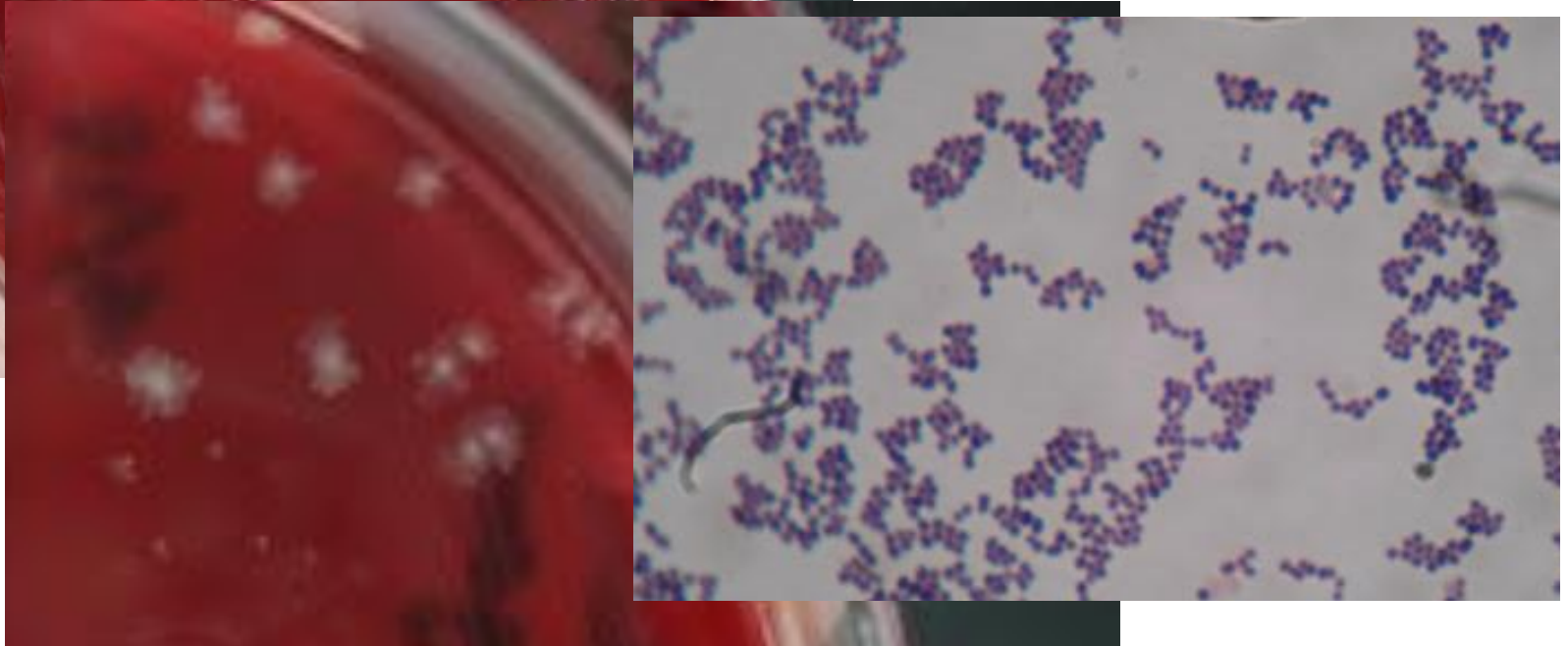




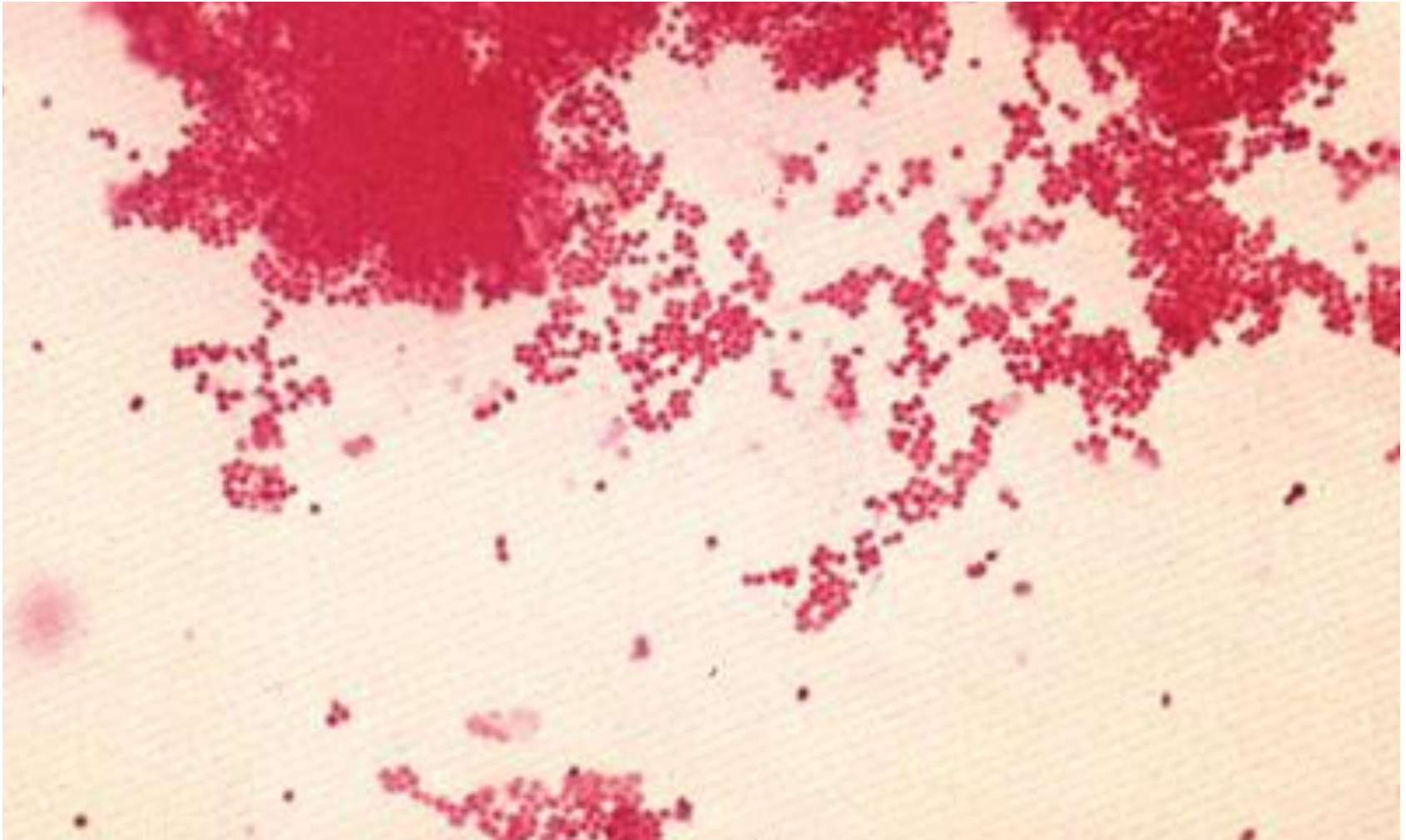
Bifidobacterium spp.

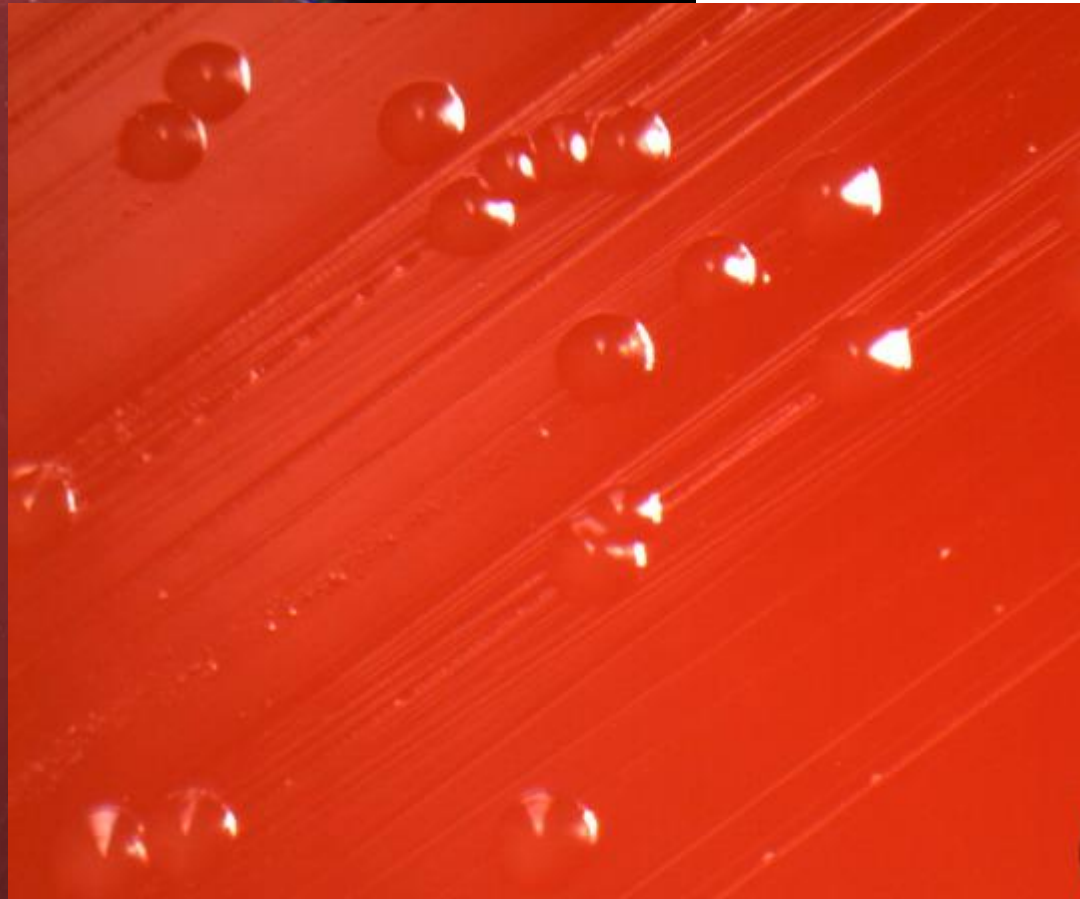
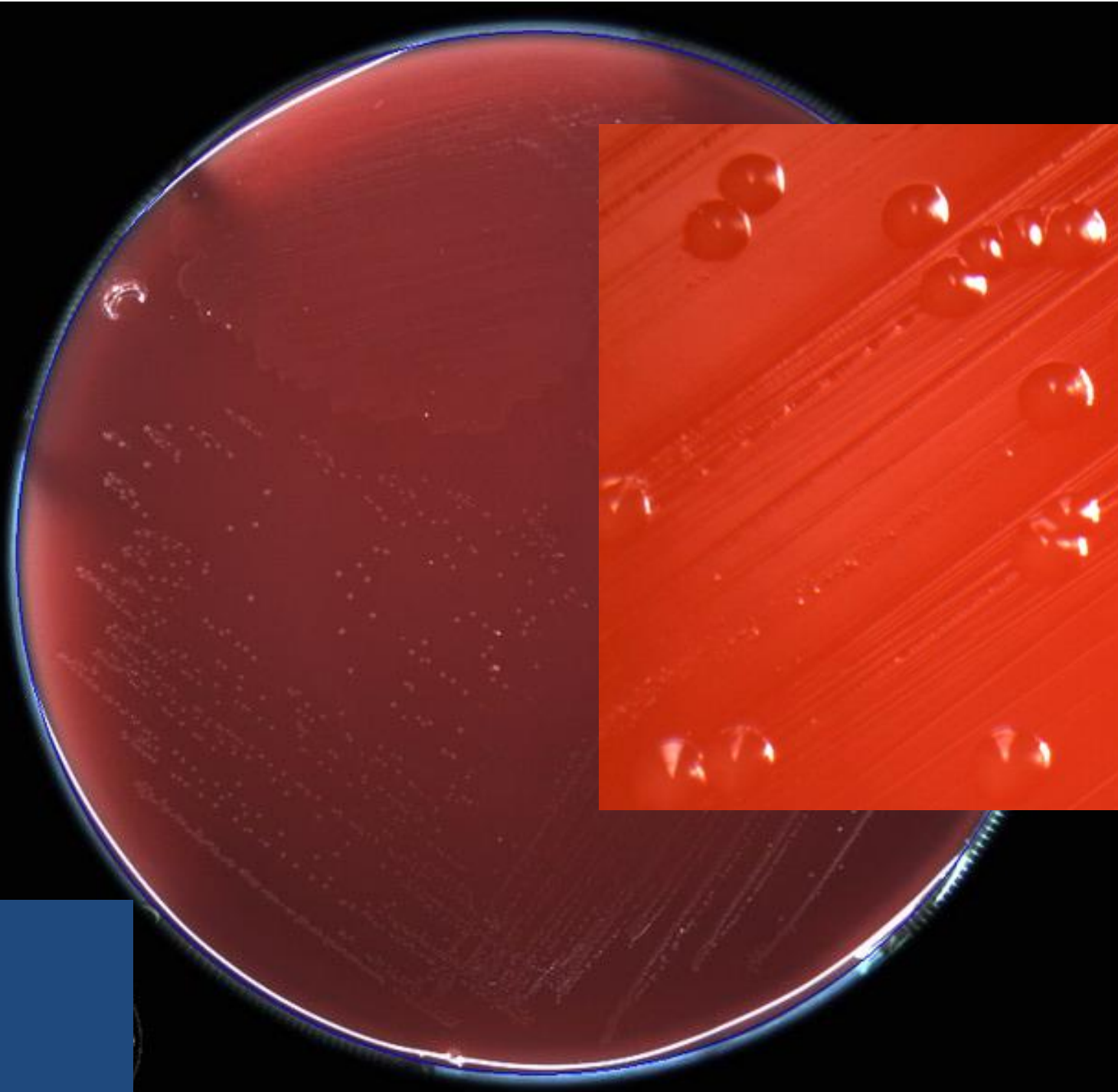


P. anaerobius

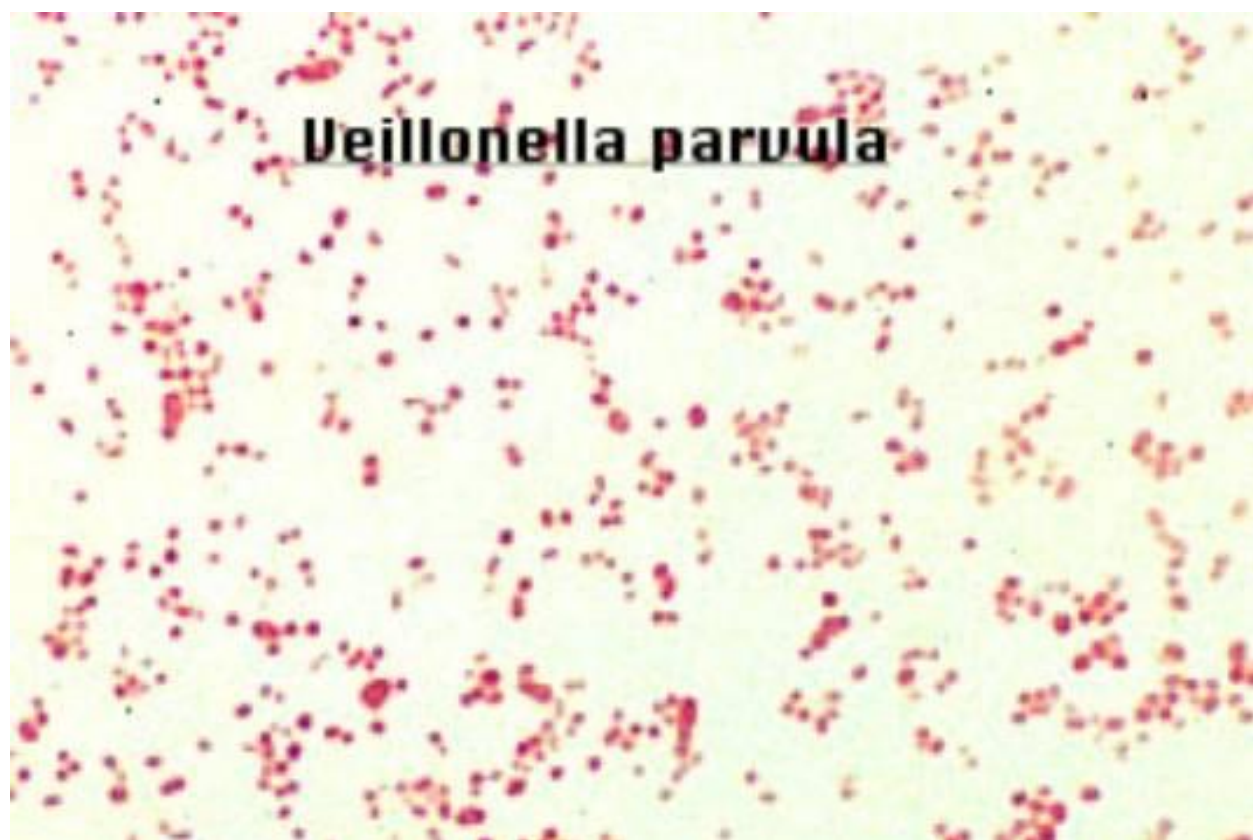


***Veillonella* spp.**



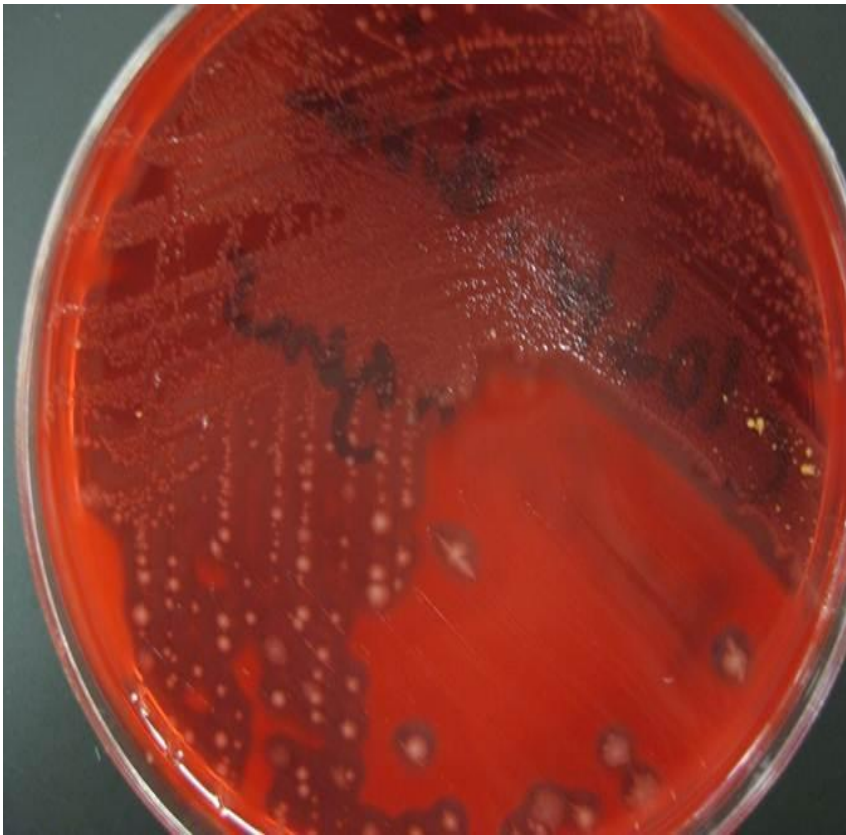


Veillonella parvula



Clostridium perfringens

Рост на КА



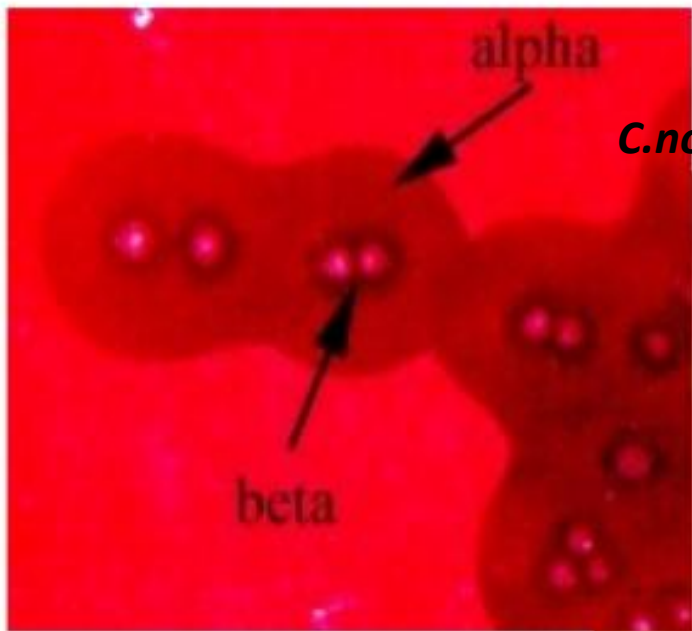
Окраска по Граму



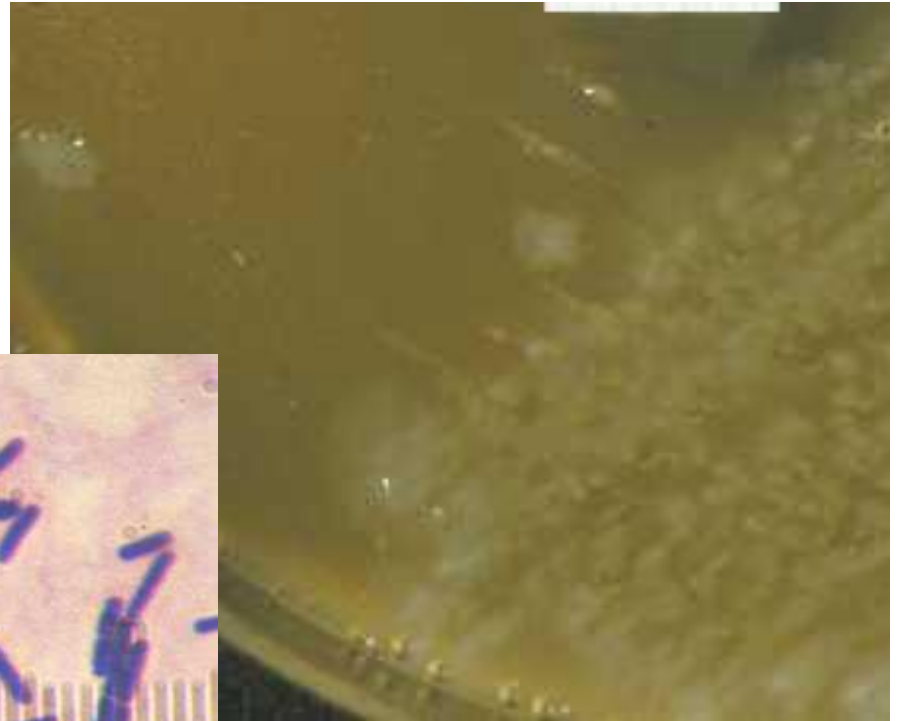
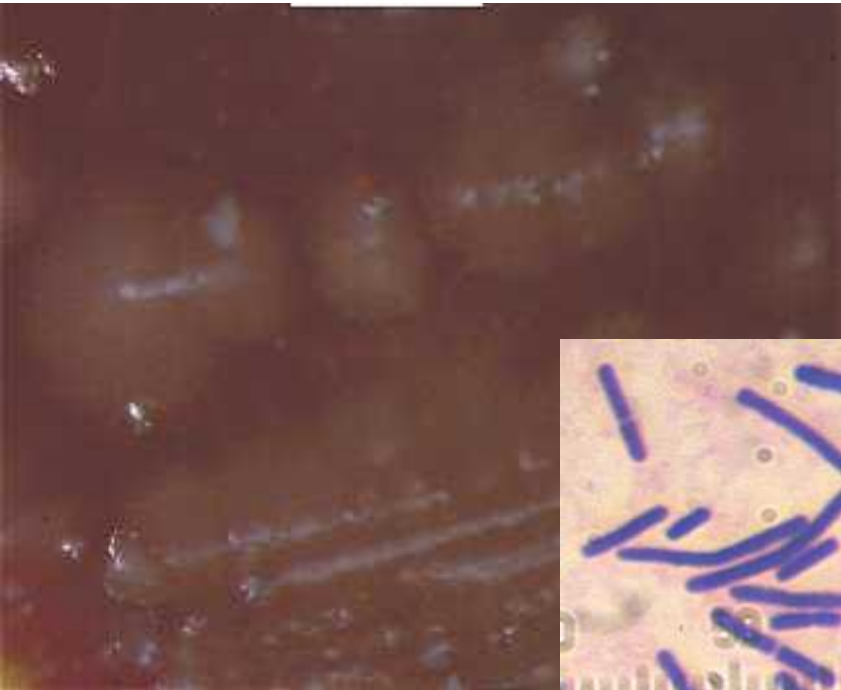
Gas gangrene clostridia: *Cl. perfringens*

- Isolation and identification -

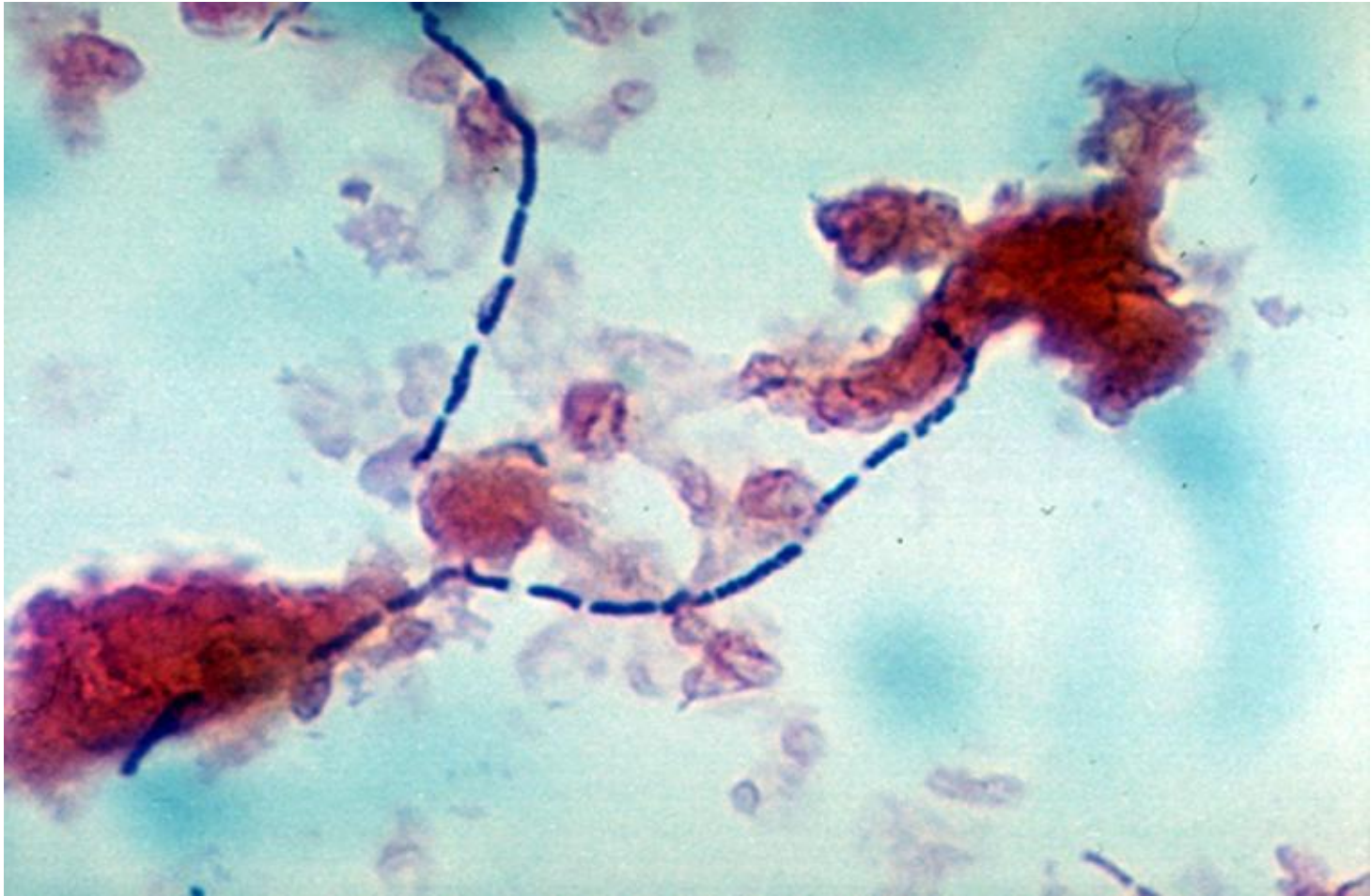
Blood agar: double
hemolysis



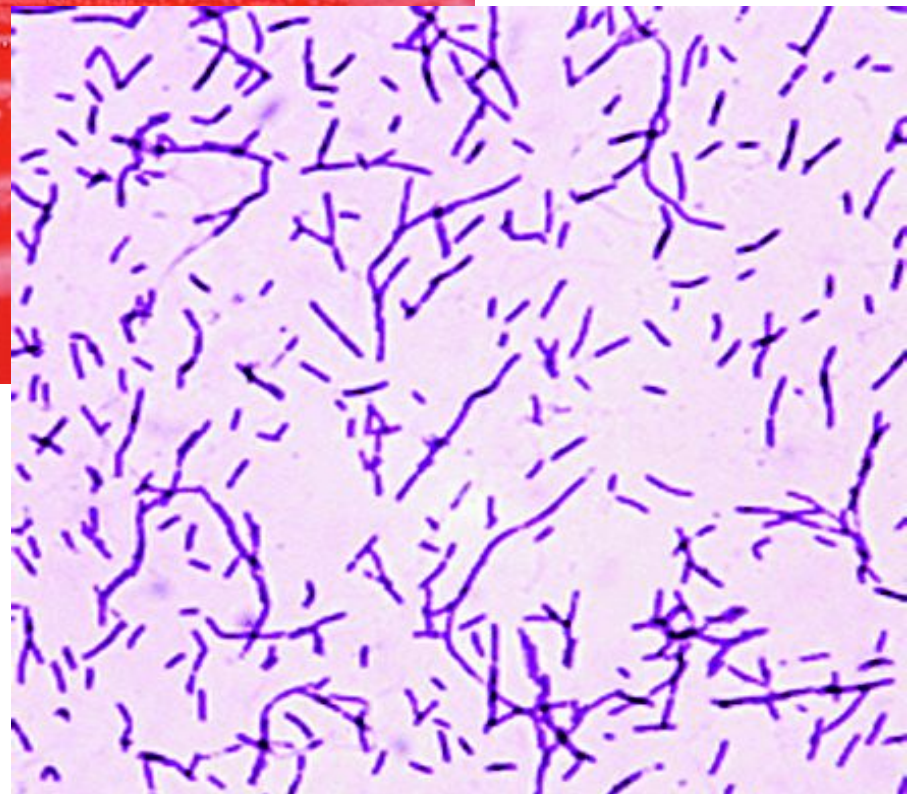
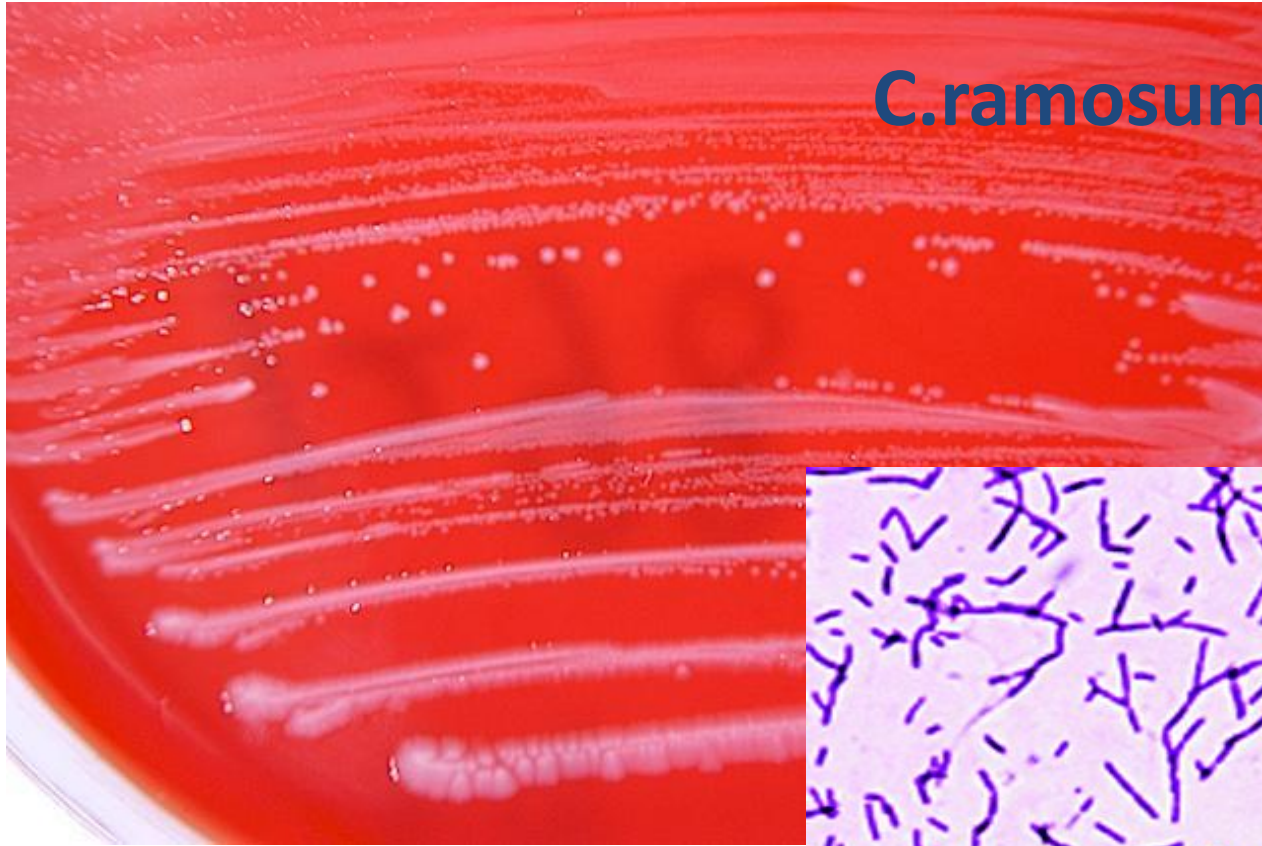
C.septicum



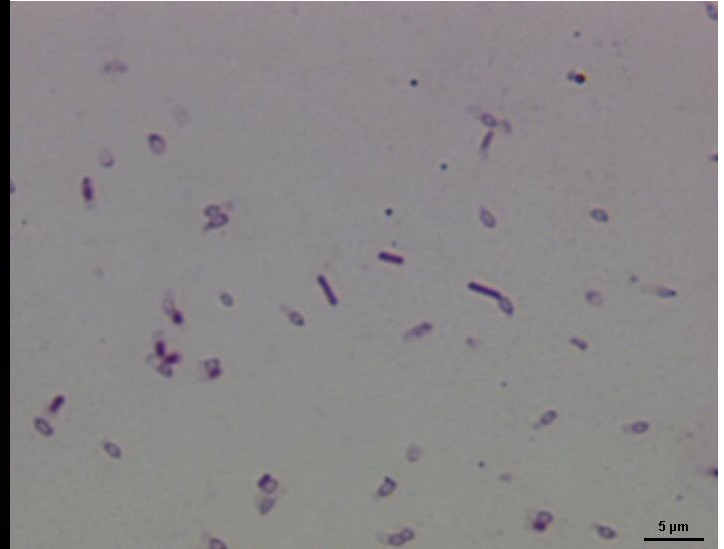
C.septicum



C. ramosum

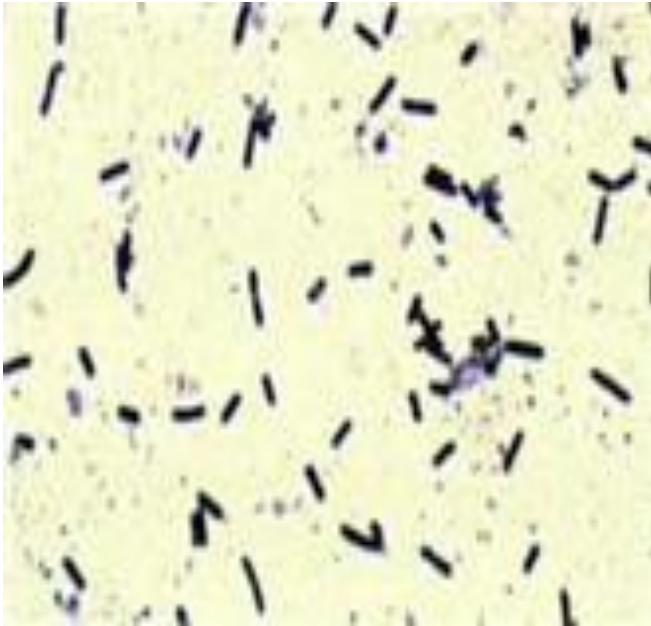


C.sporogenes



C.sordelii

ΦΑ



C.sordelii



Clostridium difficile

Лабораторная диагностика

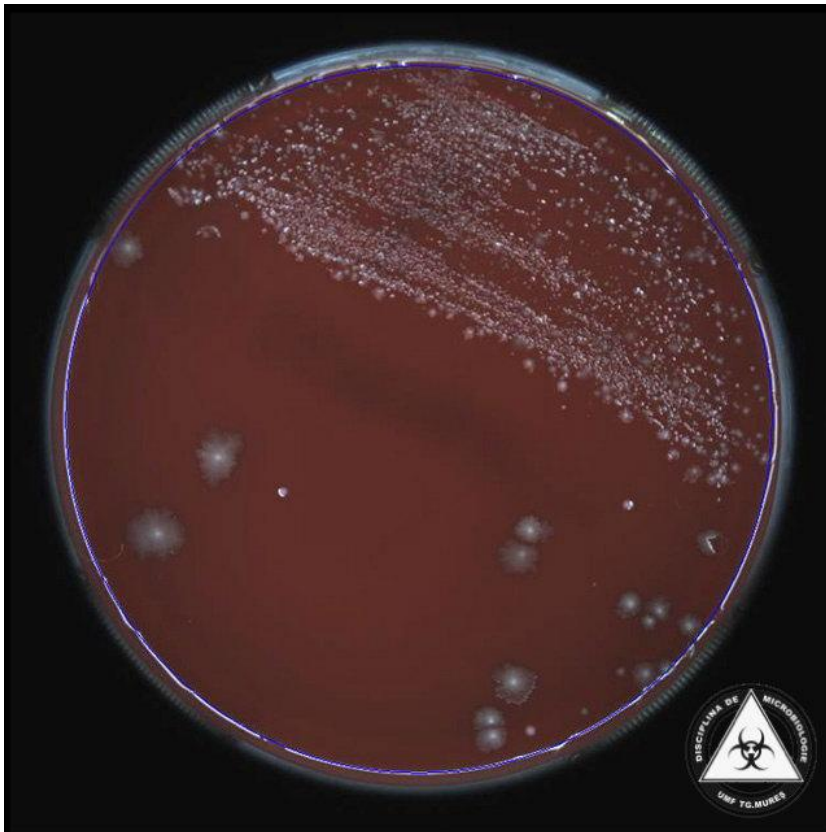
- Бактериологический метод (КА, ССФА)
- Экспресс методы :
 - ✓ ИФА (токсины А/В, глутаматдегидрогеназа)
 - ✓ Иммунохроматография
 - ✓ ПЦР

Clostridium difficile

Лабораторная диагностика

Рост на ССФА

(циклосерин-цефокситин-фруктоза
агар)



Люминисценция на ССФА при УФ



Clostridium difficile

Лабораторная диагностика



Иммуноферментный
анализ



Метод
иммунохроматографии

Нормативные документы

- ГОСТ 26503-85

Государственный стандарт Союза ССР. Животные сельскохозяйственные. Методы лабораторной диагностики клостридиозов.

- ГОСТ 10444.9-88

Государственный стандарт Союза ССР. Продукты пищевые. Метод определения *Clostridium perfringens*.

- ГОСТ 31744-2012

Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Метод подсчета колоний *Clostridium perfringens*.

Литература

- МР 10-11/7 Методические рекомендации по микробиологической диагностике заболеваний, вызванных неспорообразующими анаэробными бактериями. - М., 1986.
- Isenberg H. 2010. Clinical microbiology procedures handbook. American Society for Microbiology, Washington, D.C.