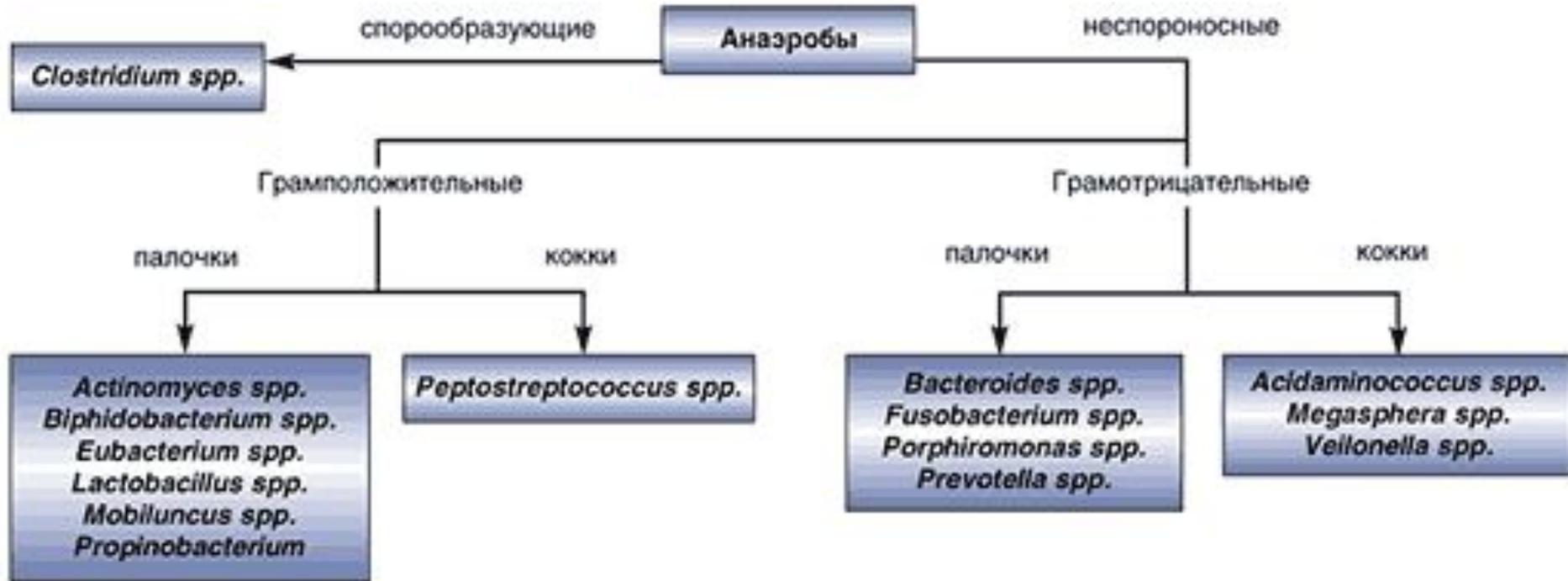


# **Анаэробная инфекция**

*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
<b>Actinomycetaceae</b>	
<b>Actinomyces</b>	<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>
<b>Mobiluncus</b>	<i>M.curtisii curtisii</i> , <i>M.curtisii holmesii</i> , <i>M.mulieris</i>
<b>Bifidobacteriaceae</b>	
<b>Bifidobacterium</b>	<i>B.adolescentis</i> , <i>B.angulatum</i> , <i>B.bifidum</i> , <i>B.denticolens</i> <sup>c</sup> , <i>B.dentium</i> , <i>B.infantis</i> , <i>B.inopinatum</i> <sup>H</sup> , <i>B.longum</i> , <i>B.scardovii</i> , <i>B.pseudocatenulatum</i> , <i>B.suis</i>
<b>Clostridiaceae</b>	
<b>Clostridium</b>	<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
<b><i>Erysipelotrichaceae</i></b>	
<b><i>Erysipelothrix</i></b>	<i>E.rhusiopathiae</i>
<b><i>Eubacteriaceae</i></b>	
<b><i>Eubacterium</i></b>	<i>E. barkeri, E.biforme, E.brachy, E.budayi, E.combessii, E.contortum, E.dolichum, E.eligens, E.hadrum, E.hallii, E.infirmum, E.limosum, E.minutum, E.moniliforme, E.multiforme, E.nitrogenes, E.nodatum, E.ramulus, E.rectale</i>
<b><i>Lactobacillaceae</i></b>	
<b><i>Lactobacillus</i></b>	<i>L.acidophilus, L.brevis, L.casei, L.cateniformis, L.fermentum, L.gasseri, L.iners, L.jensenii, L.leichmannii, L.oris, L.plantarum, L.ramosus, L.salivarius, L.vaginalis</i>
<b><i>Propionibacteriaceae</i></b>	
<b><i>Propionibacterium</i></b>	<i>P.acnes, P.avidum, P.granulosum, P.propionicus</i>

# Грамположительные анаэробные кокки

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

# Грамположительные анаэробные кокки

(продолжение)

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

# Грамотрицательные анаэробные палочки

Род	Вид
<b>Bacteroidaceae</b>	
<b>Bacteroides</b>	<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>
<b>Desulfovibrionaceae</b>	
<b>Bilophila</b>	<i>B. wadsworthia</i>
<b>Fusobacteriaceae</b>	
<b>Fusobacterium</b>	<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>
<b>Leptotrichiaceae</b>	
<b>Leptotrichia</b>	<i>L. amnionii</i> , <i>L. buccalis</i> , <i>L. goodfellowii</i>

# Грамотрицательные анаэробные палочки

(продолжение)

Род	Вид
<b><i>Porphyromonadaceae</i></b>	
<b><i>Porphyromonas</i></b>	<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>
<b><i>Tannerella</i></b>	<i>T.forsythia</i>
<b><i>Prevotellaceae</i></b>	
<b><i>Prevotella</i></b>	<i>P.bivia, P.buccae, P.buccalis, P.corporis P.dentalis, P.denticola, P.distens<sup>A</sup>, P.enoeca, P.heparinolytica, P.intermedia, P.nigrescens, P.melaninogenica, P.oralis, P.oris, P.oulorum, P.pallens, P.tanneriae, P.veroralis</i>
<b><i>Veillonellaceae</i></b>	
<b><i>Megamonas</i></b>	<i>M.hypermegale</i>

# Грамотрицательные анаэробные кокки

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

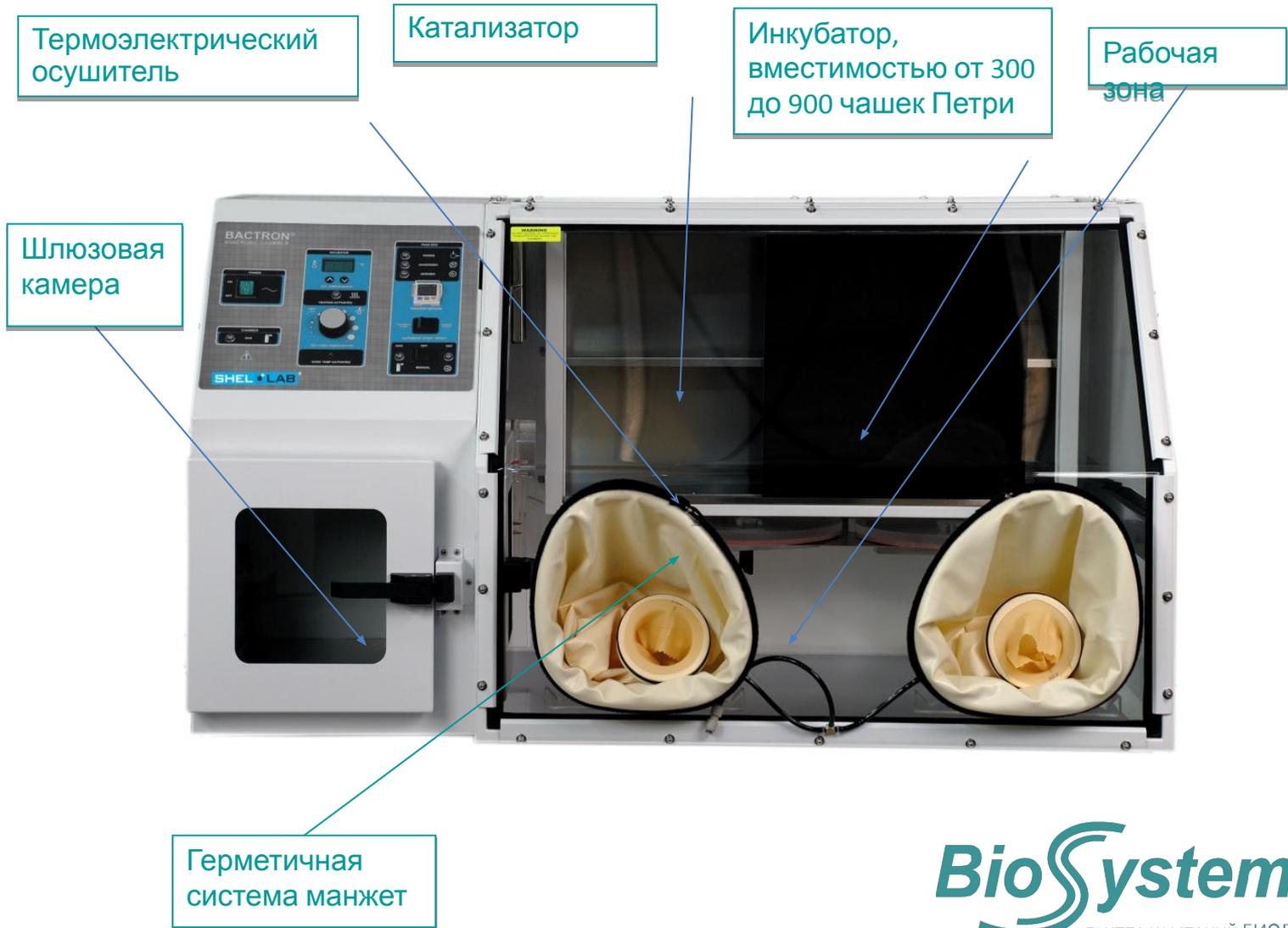
# Лабораторная диагностика

## Анаэробная атмосфера

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



# Анаэробная станция BACTRON, производства Sheldon Manufacturing Inc., США



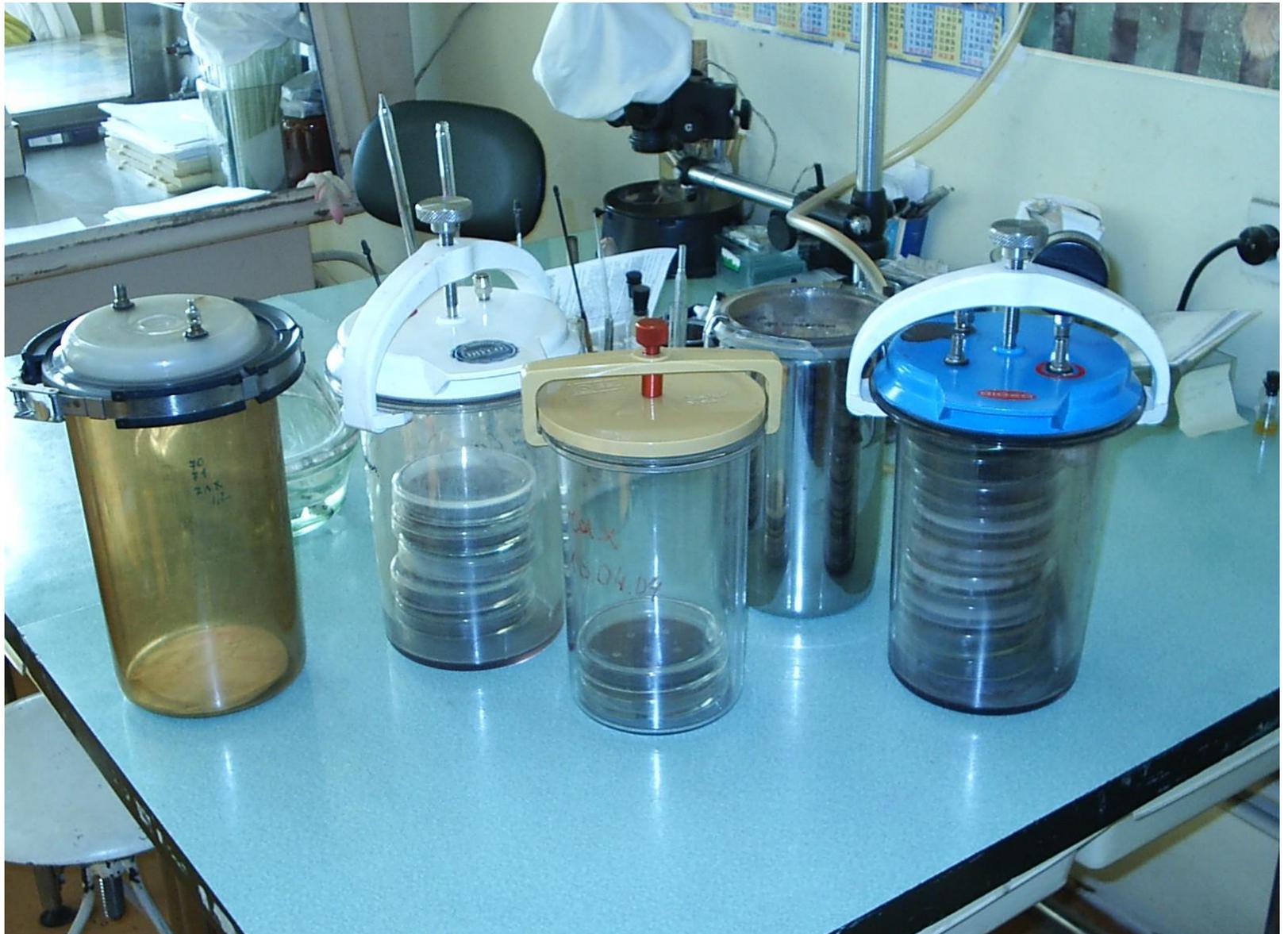
# Анаэростаты

## Готовая газовая смесь

Анохомат



# Анаэробы

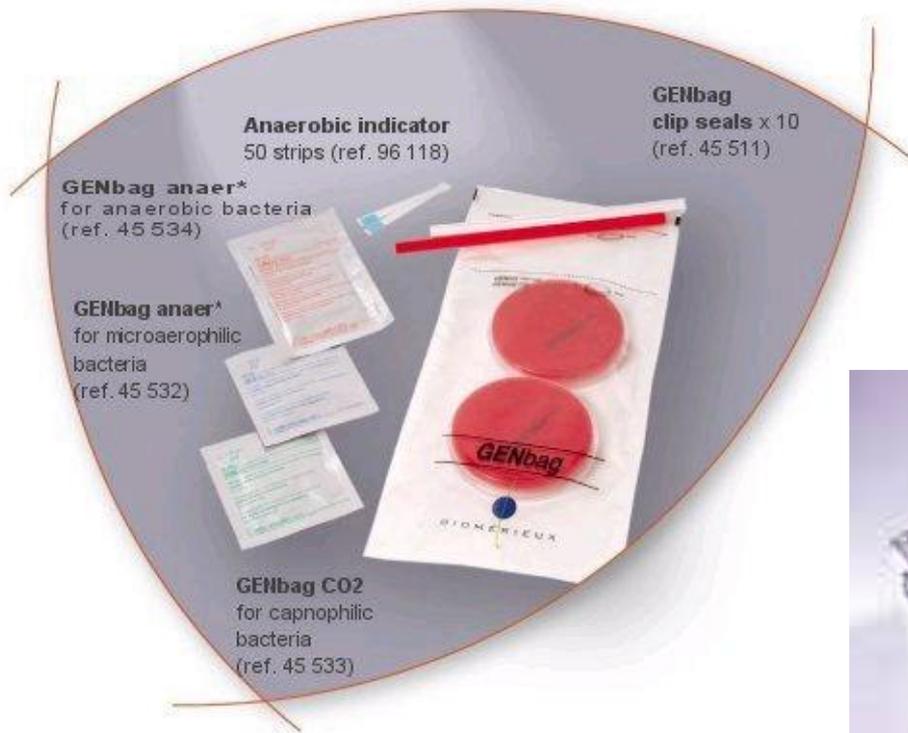


# Анаэробная система (Himedia)



# 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)

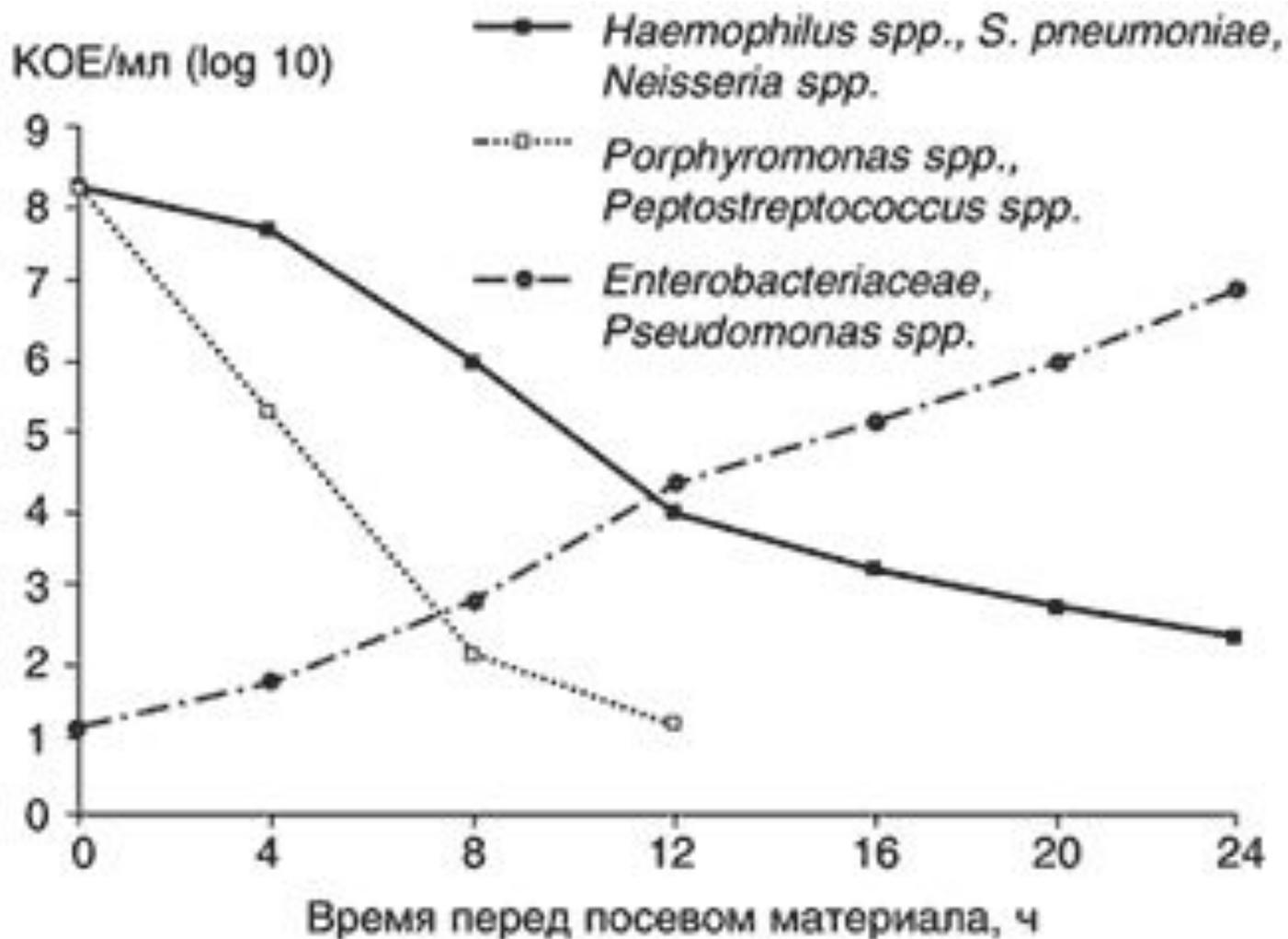
# Лабораторная диагностика

## 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% дефибрированной **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	
↓ <b>Желчь</b>		↓ <i>B. urealiticum</i> группа <i>Fusobacterium spp.</i>		↓ Окраска по Граму		↓ <i>Prevotella spp.</i> или др. Грам(-) палочки	
↙	↘			↙	↘	Пигментообразование и/или флюоресценция	
R	S	Gram (+)	Gram (-)	↓ <i>Porphyromonas spp.</i> Пигментообразование и/или флюоресценция			
↓	↓	↓ <b>Редукция нитратов</b>					
<i>B. fragilis</i> группа	<i>Prevotella spp.</i>			+	-		
		<i>B. urealiticum</i> группа	<i>Fusobacterium spp.</i>				

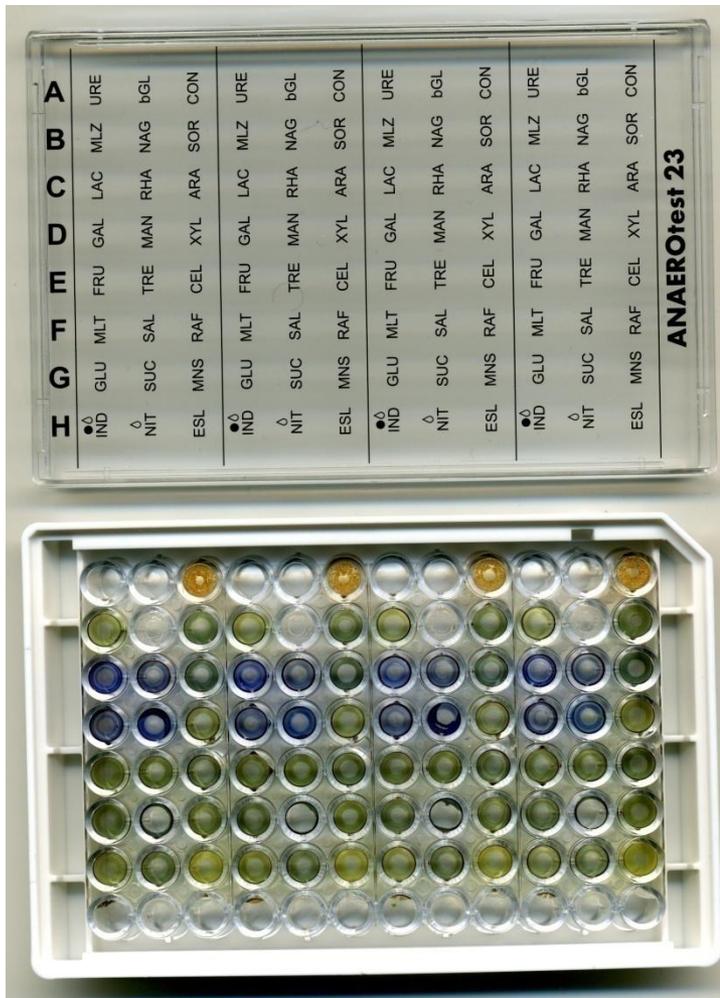
R - устойчивый  
S - чувствительный

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

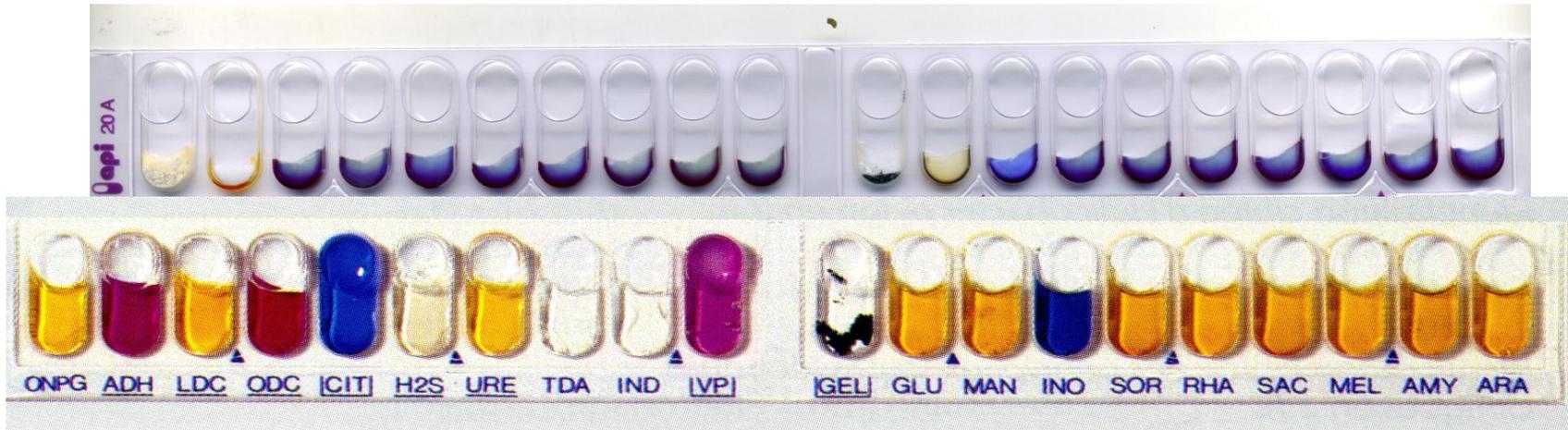
Dodatkové testy/Additional tests/Дополнительные тесты

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

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						

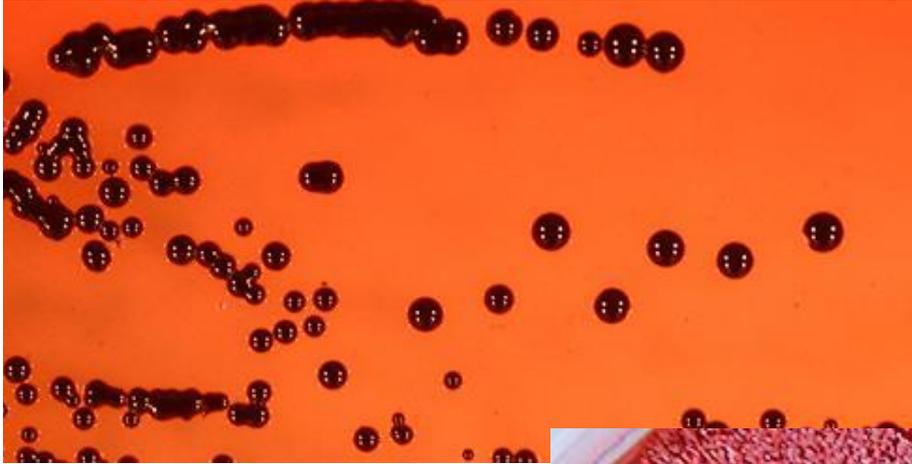
Autres tests / Other tests / Weitere Tests / Altri tests / Otros tests : \_\_\_\_\_

Ident. : \_\_\_\_\_

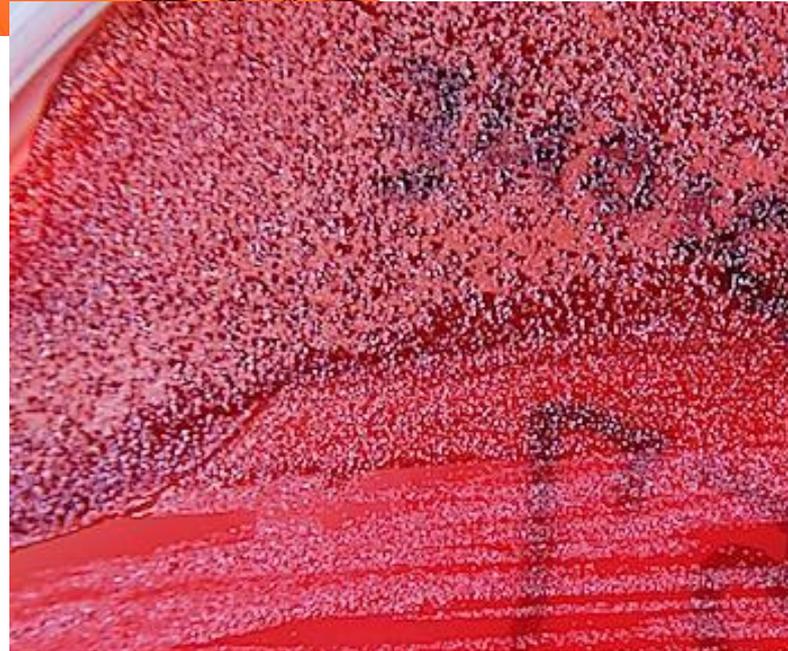
Imprimé en France / Printed in France

# Определение чувствительности к антибактериальным препаратам

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

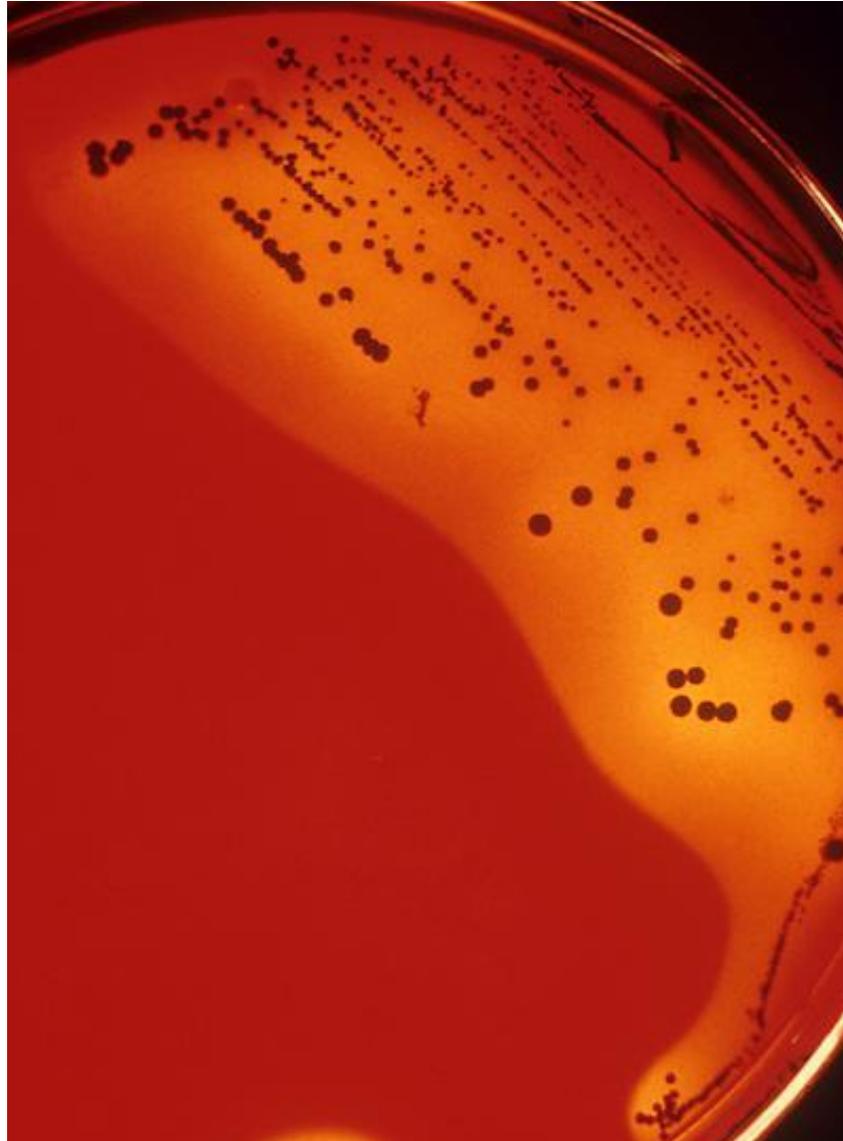


*Prevotella  
melaninogenica*



*Porphyromonas gingivalis*

# *Prevotella melaninogenica*

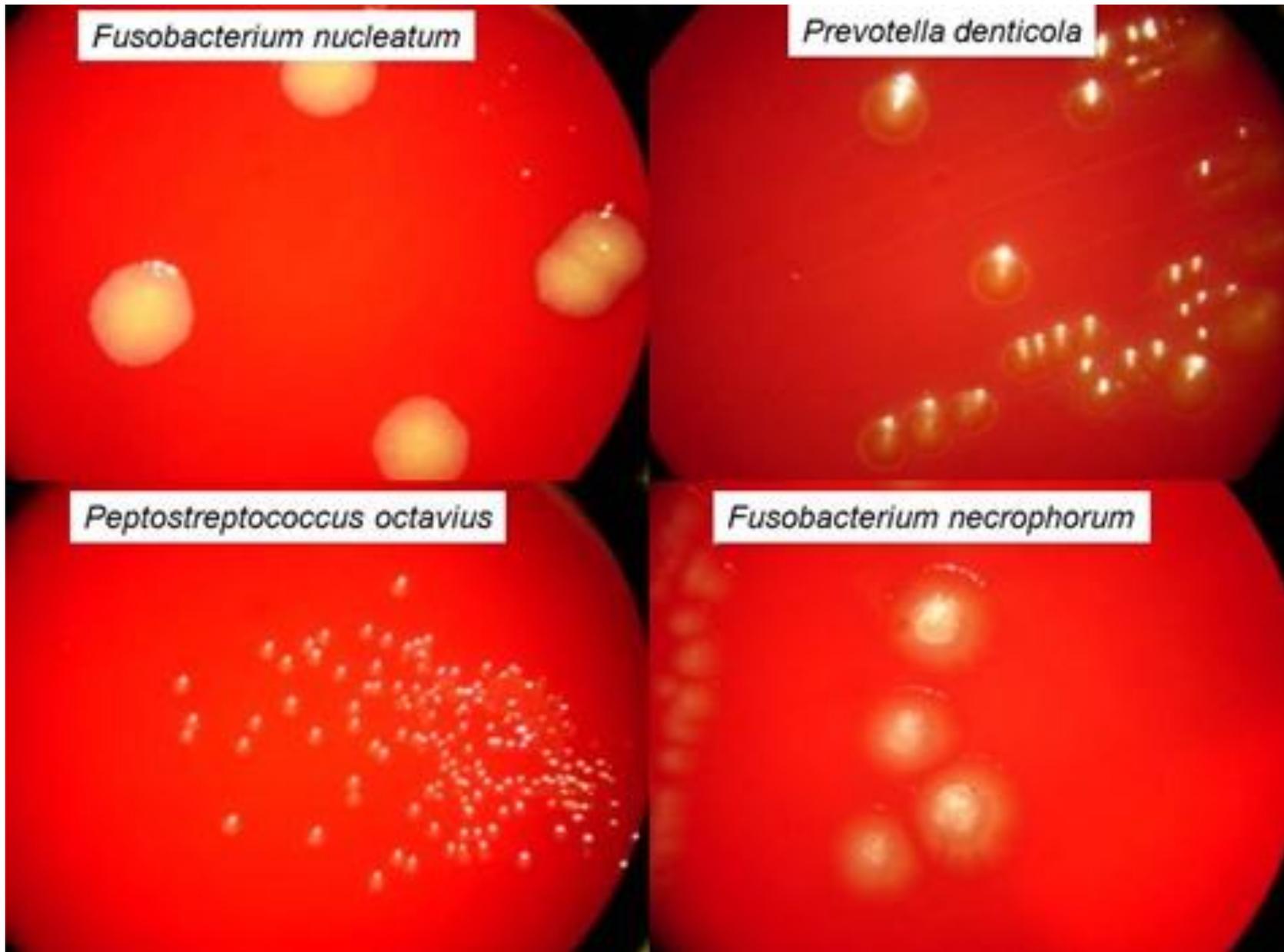


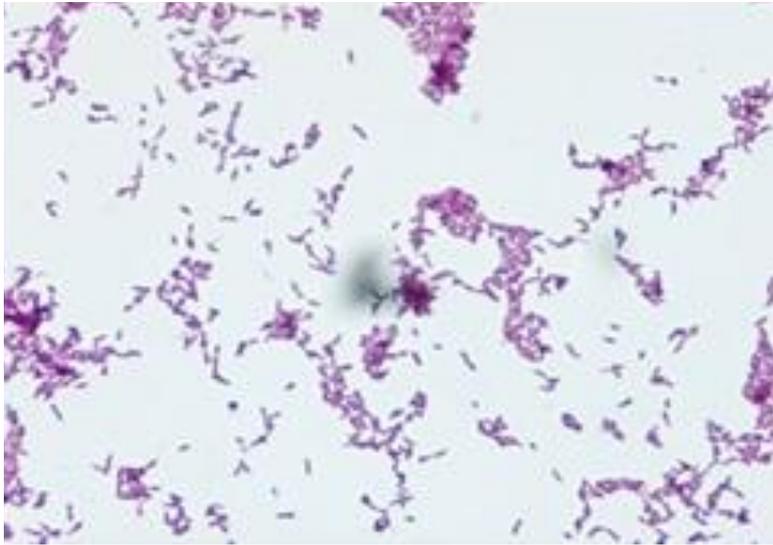
*Fusobacterium nucleatum*

*Prevotella denticola*

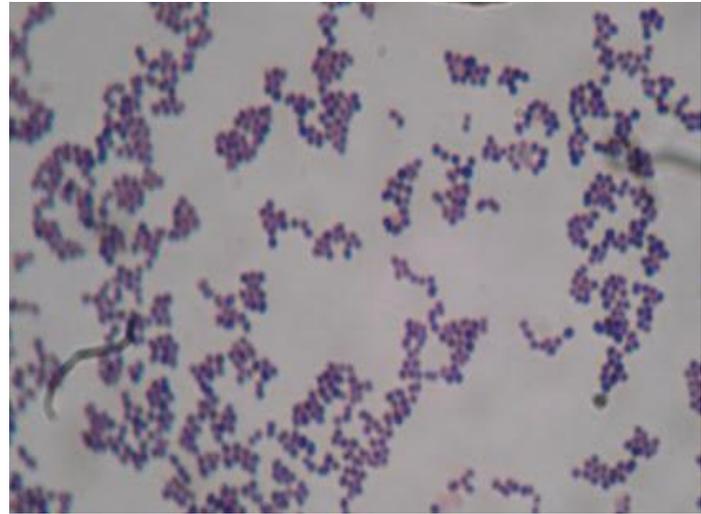
*Peptostreptococcus octavius*

*Fusobacterium necrophorum*

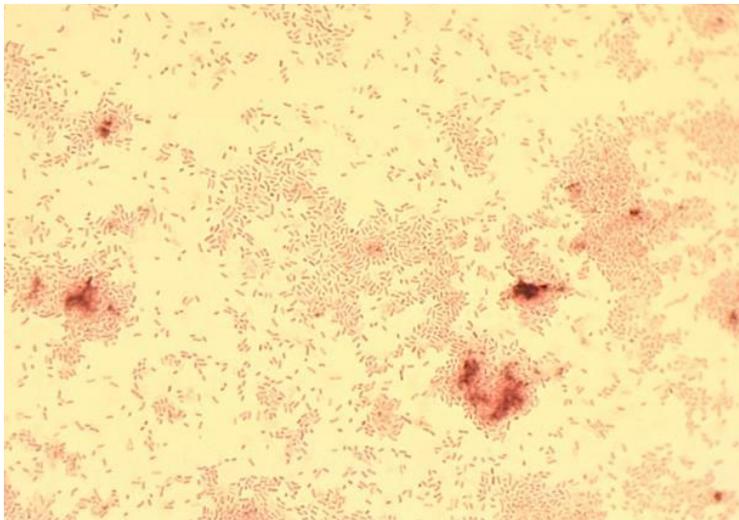




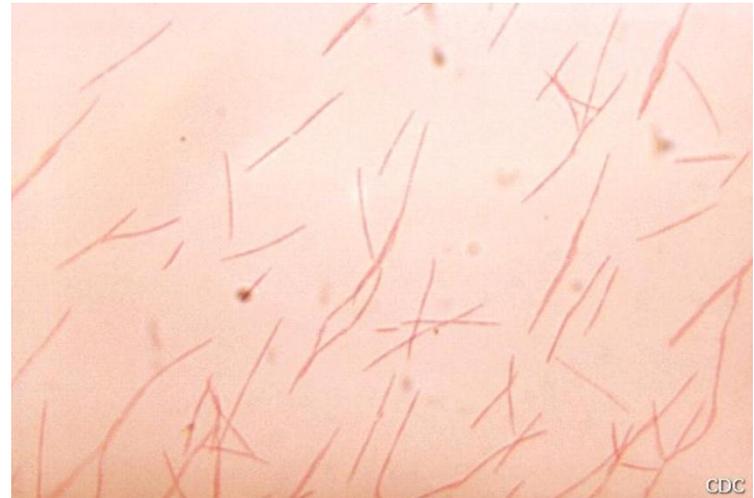
***Propionibacterium* spp.**



***Peptostreptococcus* spp.**

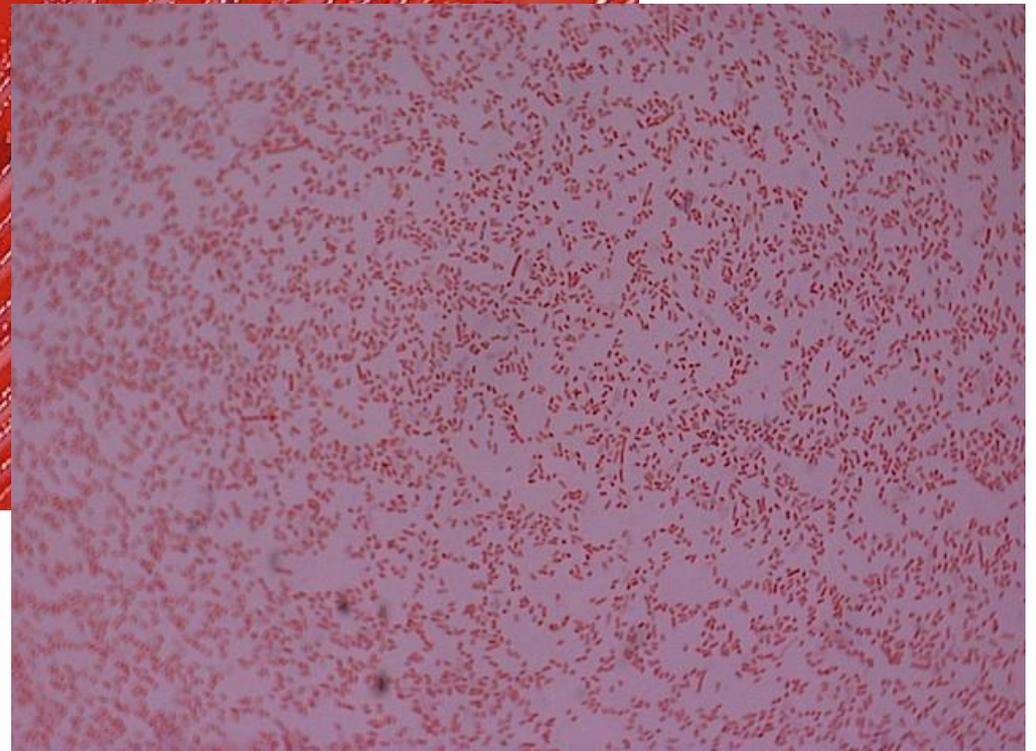
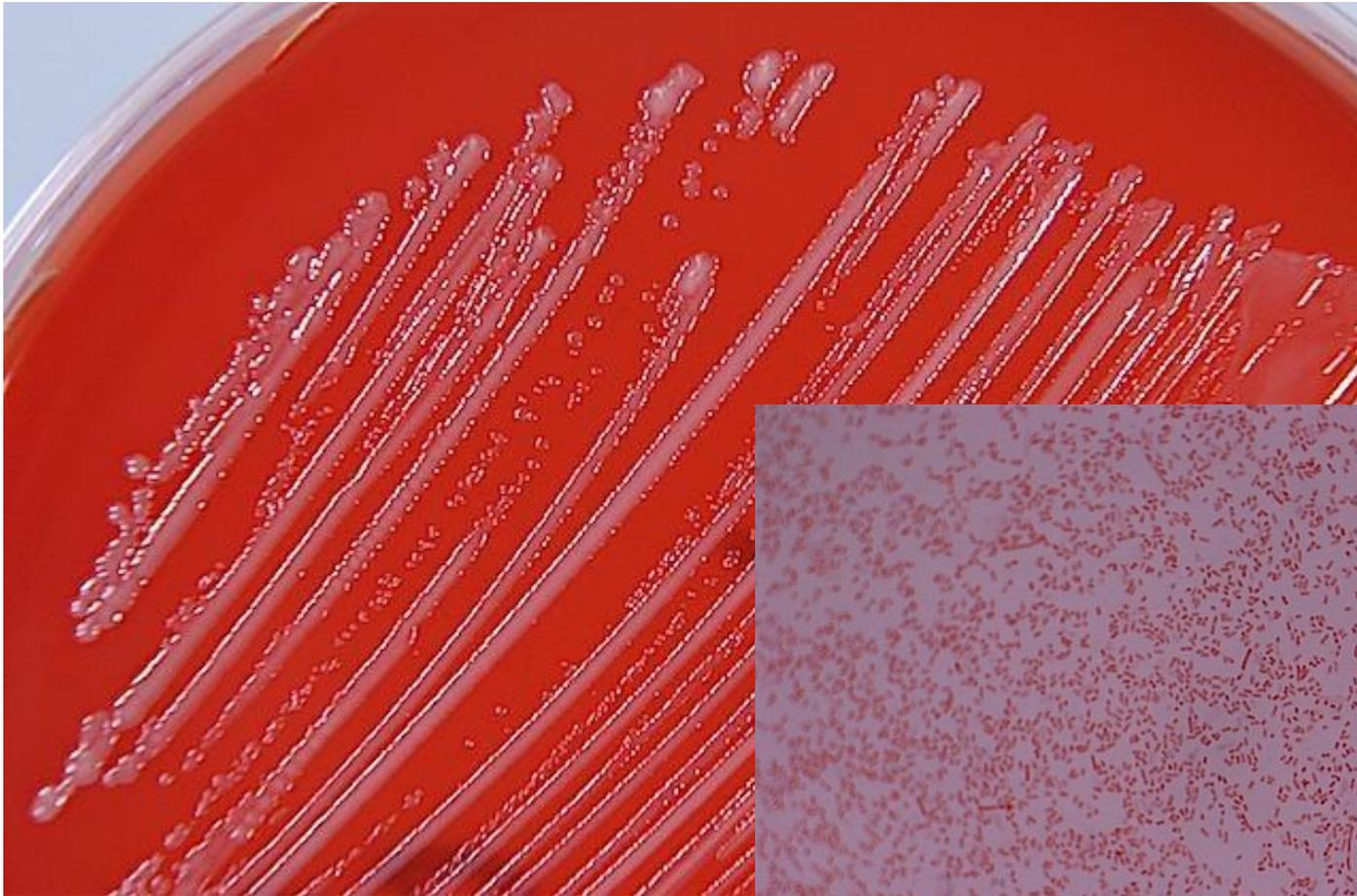


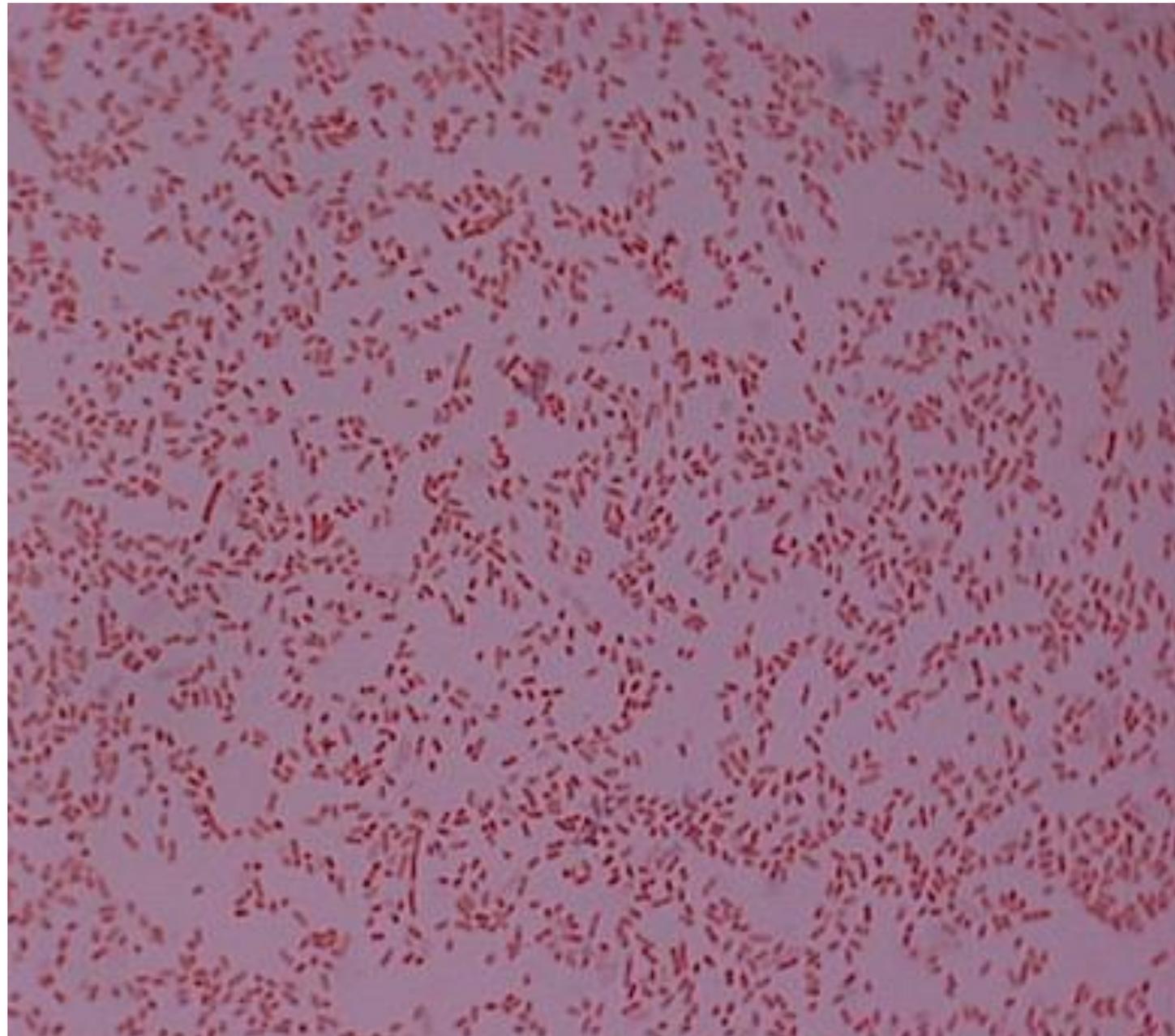
***Prevotella* spp.**



***Fusobacterium* spp.**

# *Bacteroides vulgatus*



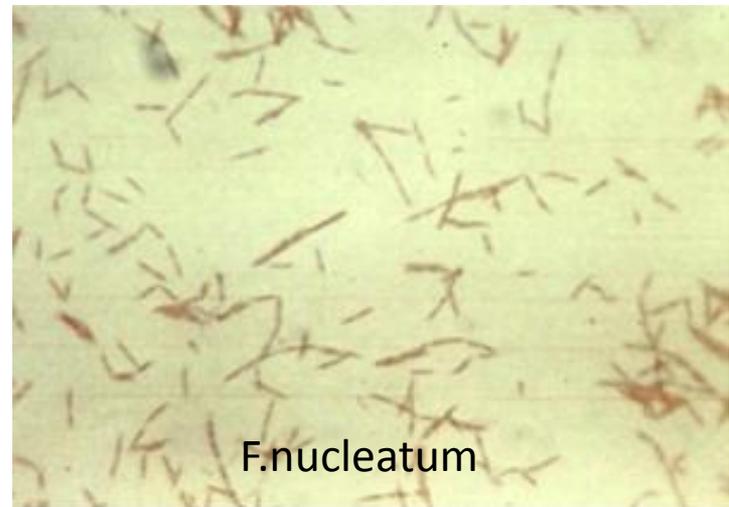
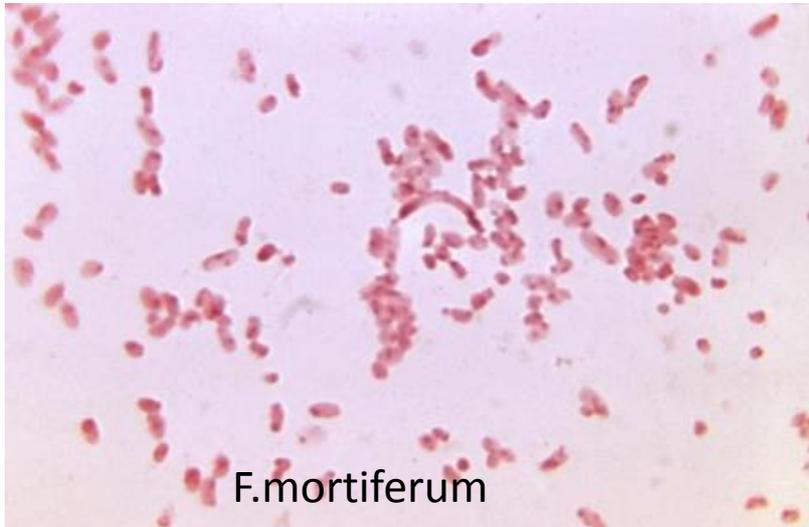
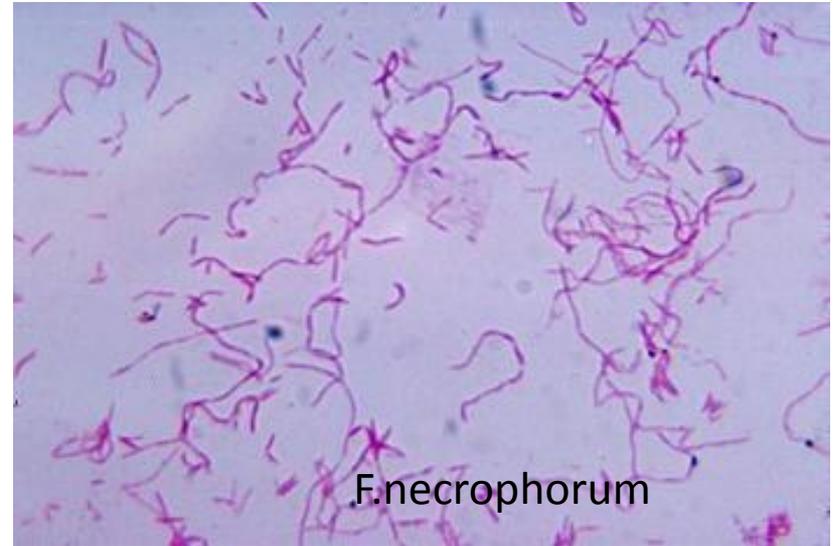
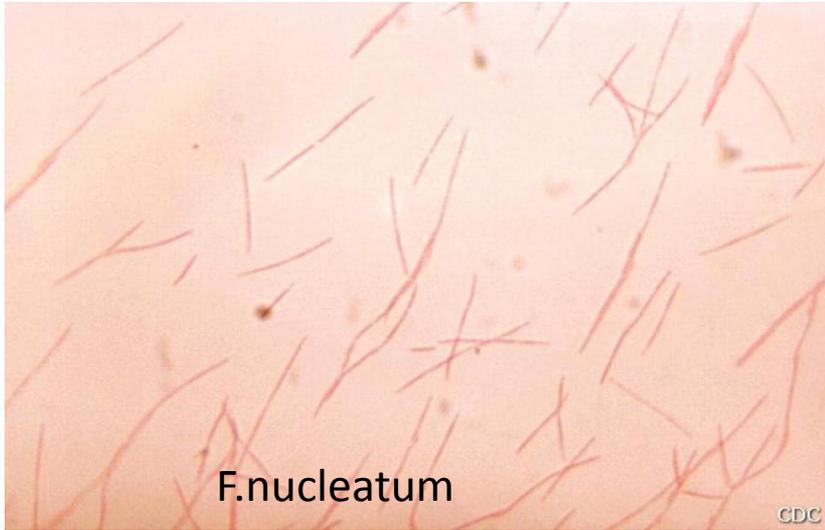


*Bacteroides levii*

рост на Бруцелл агаре с гемином и витамином  
К1



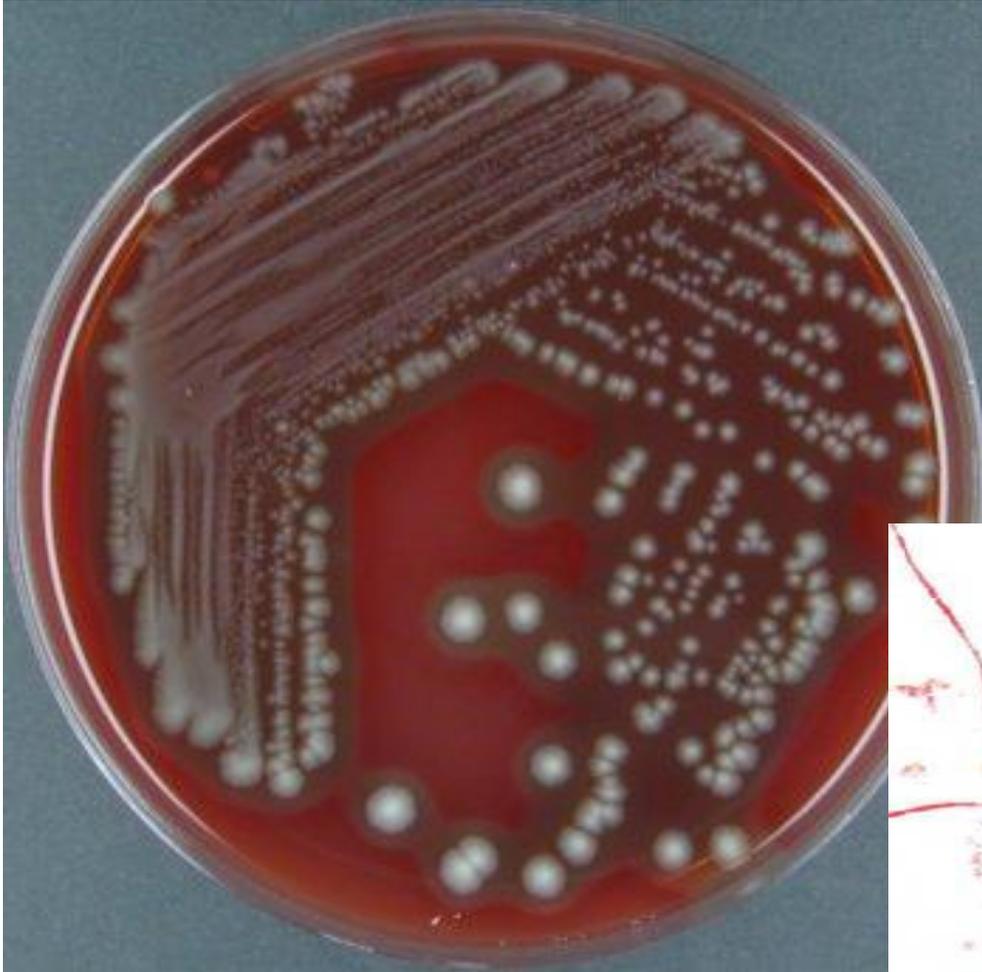
# *Fusobacterium* spp.



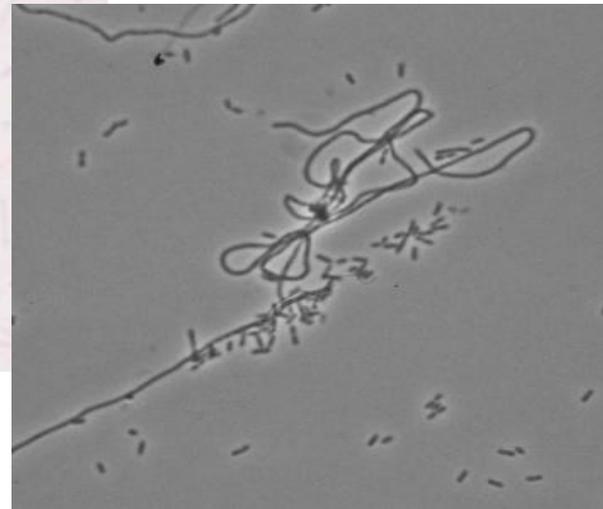
***Fusobacterium* spp.**



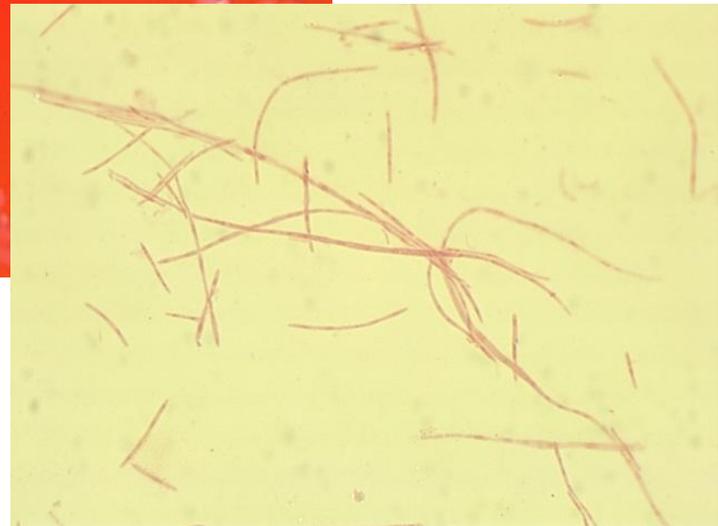
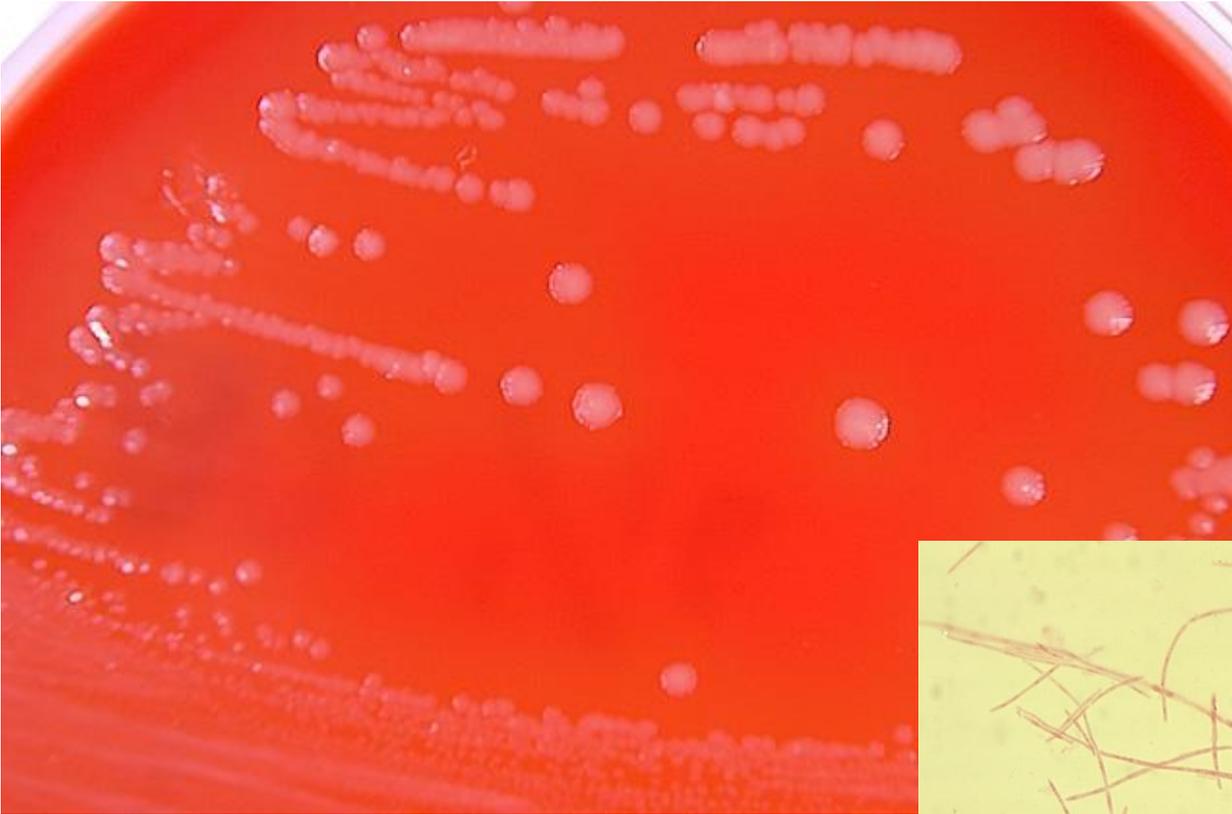
# *Fusobacterium necrophorum*



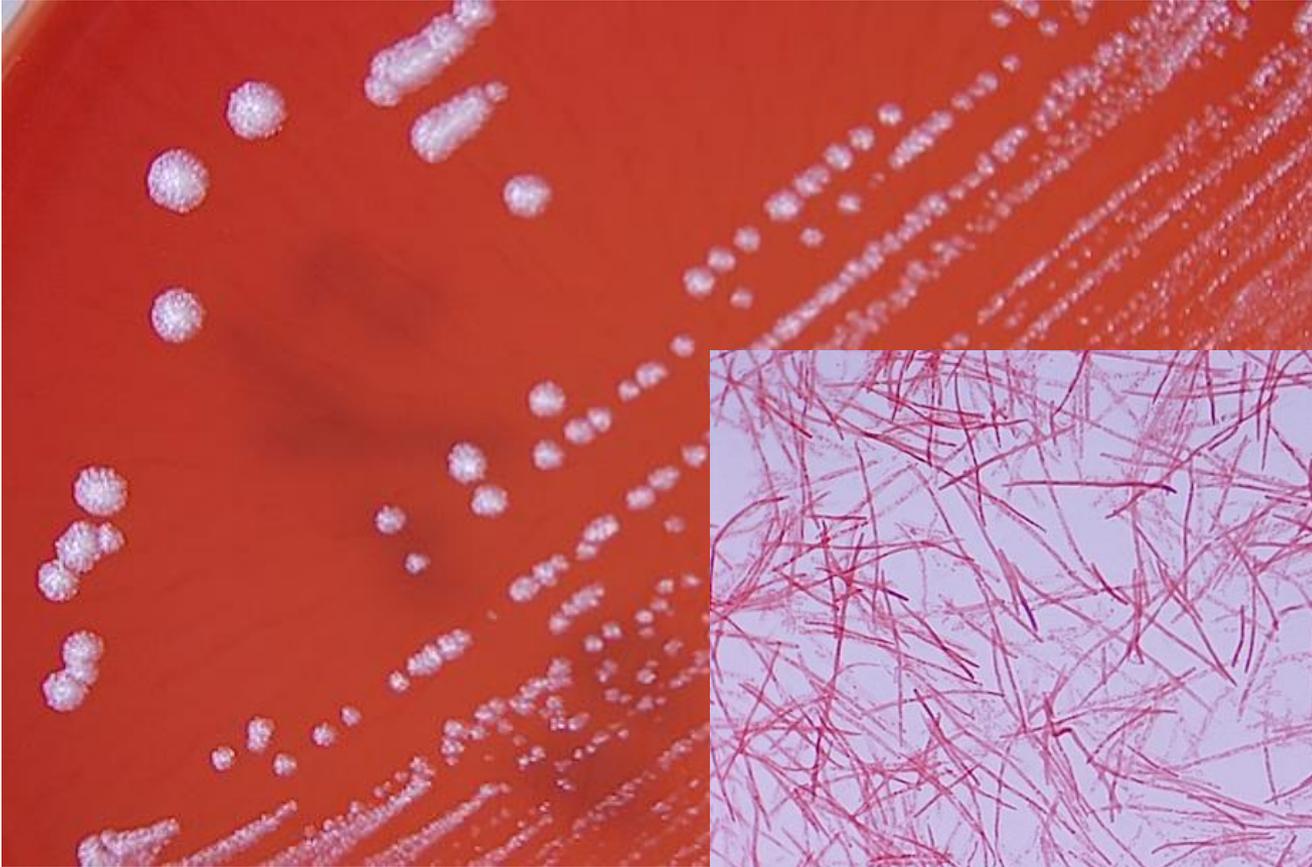
# *Fusobacterium necrophorum*



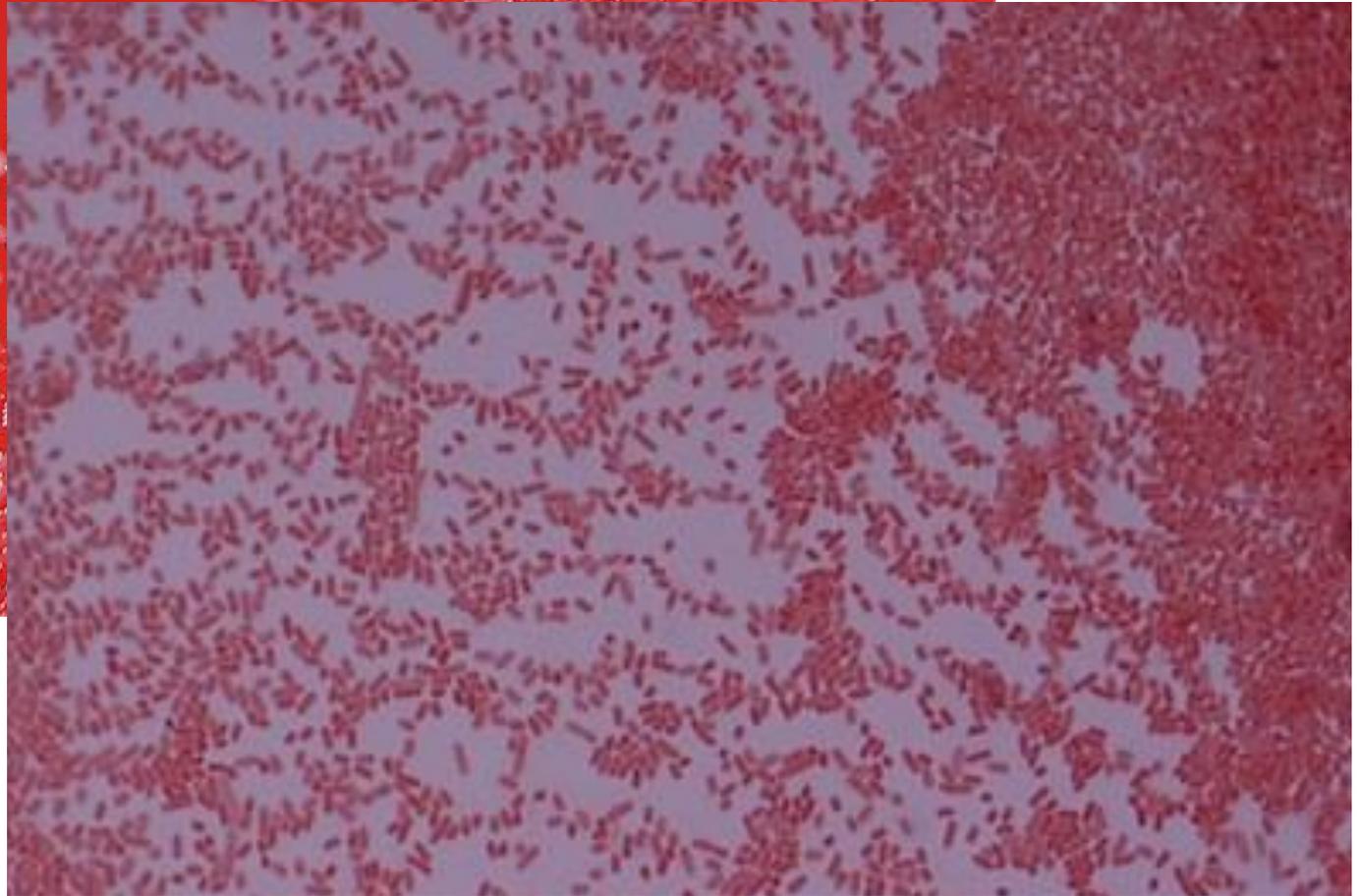
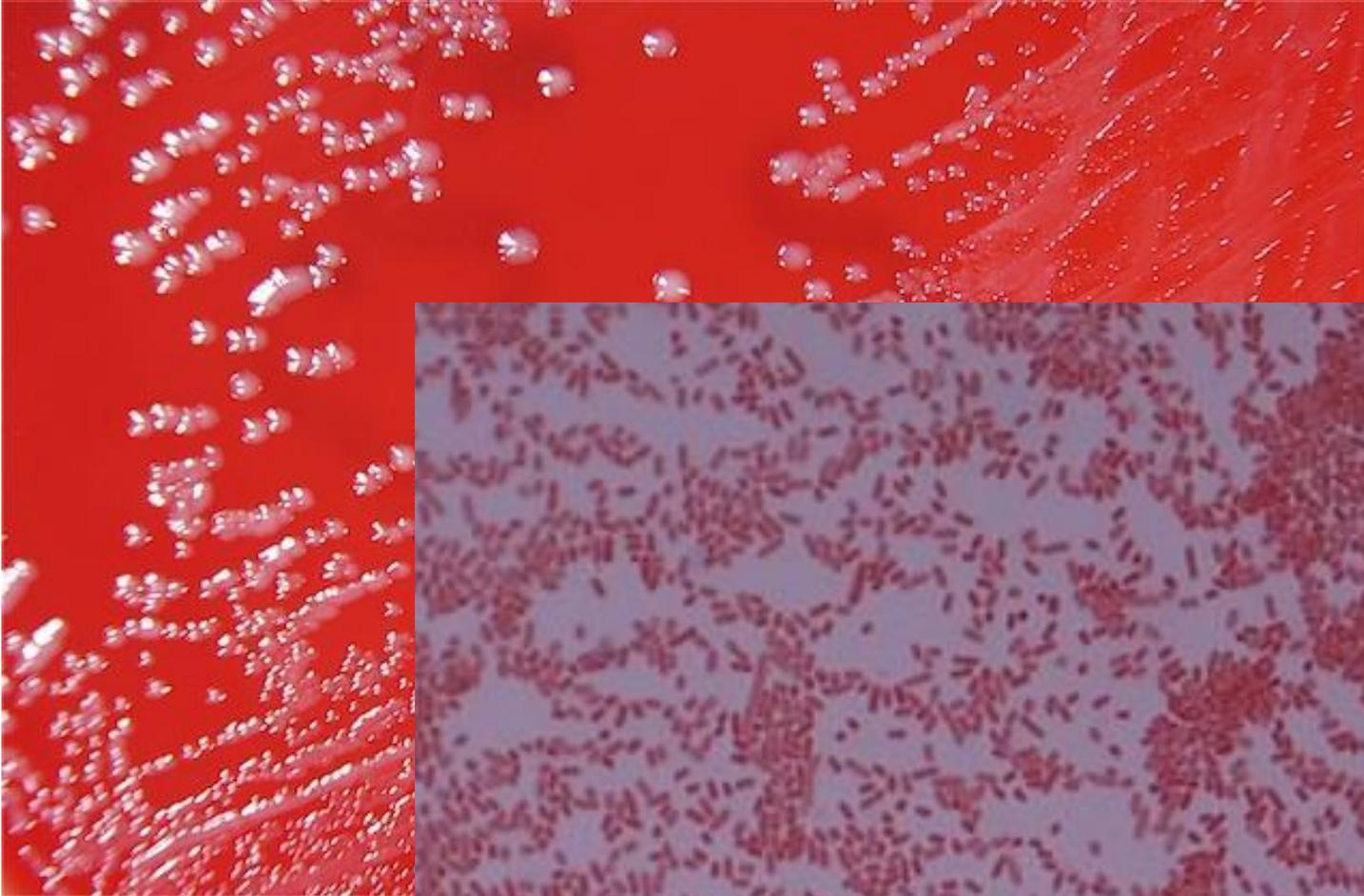
# *Fusobacterium periodonticum*



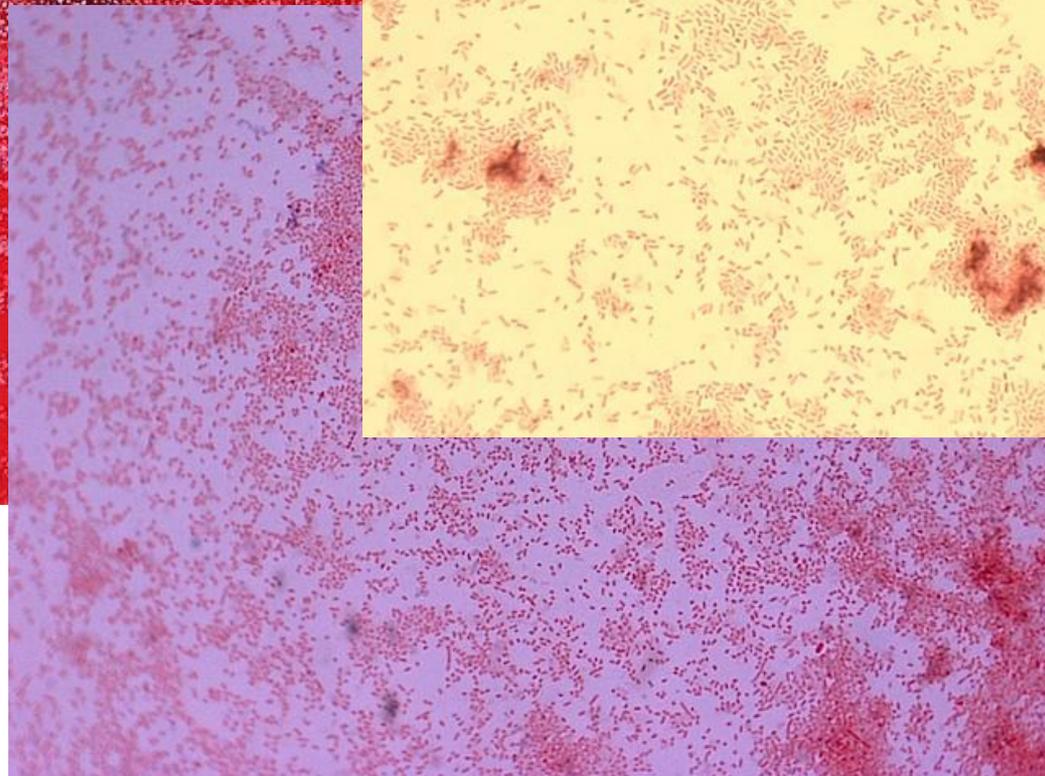
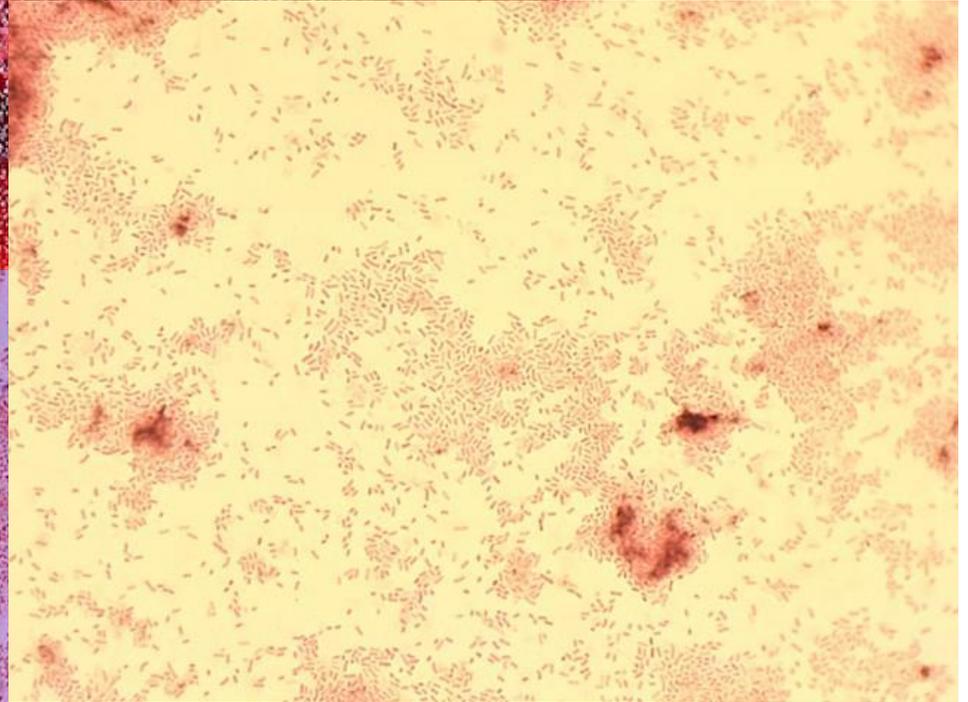
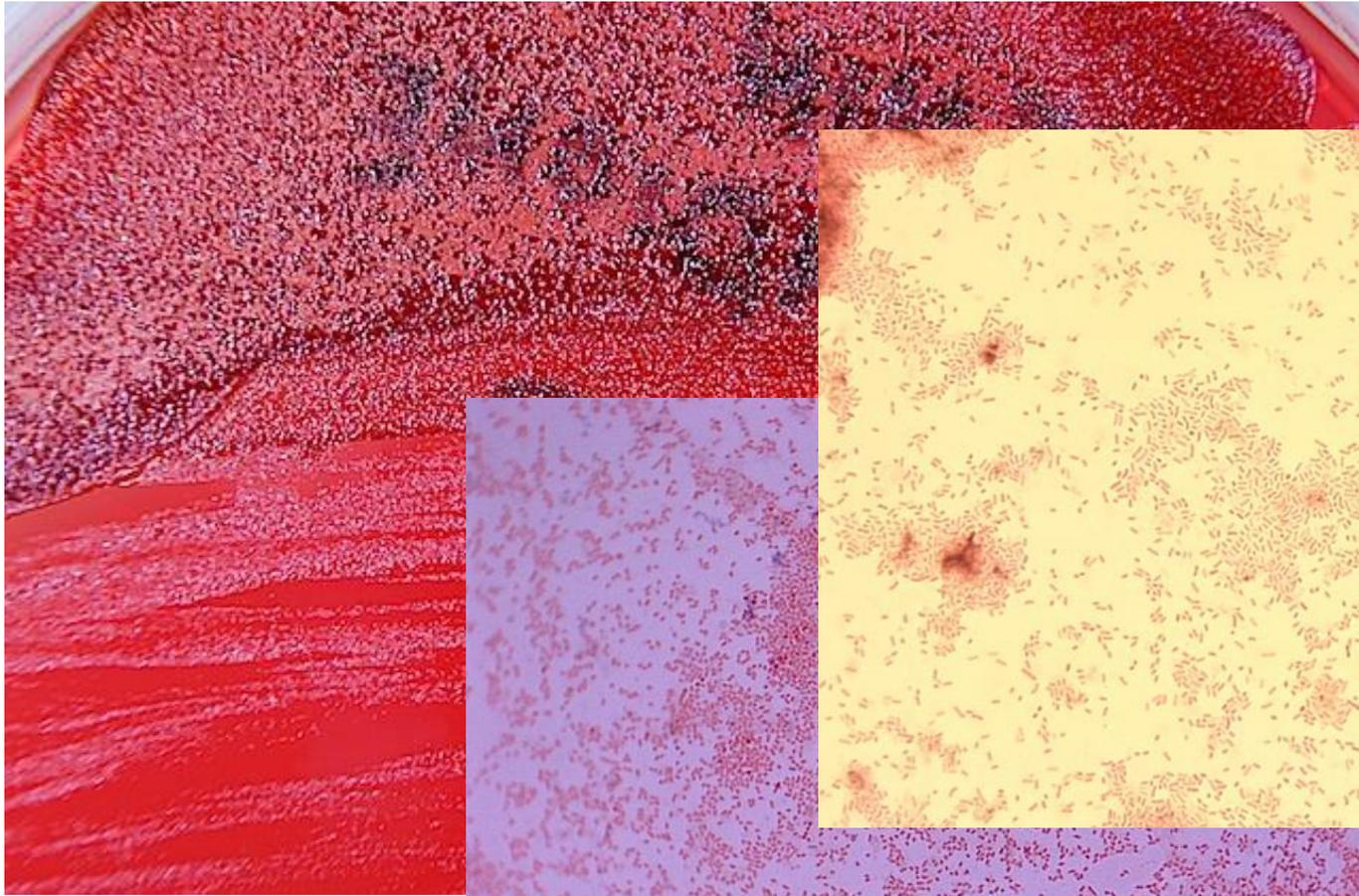
# *Leptotrichia buccalis*

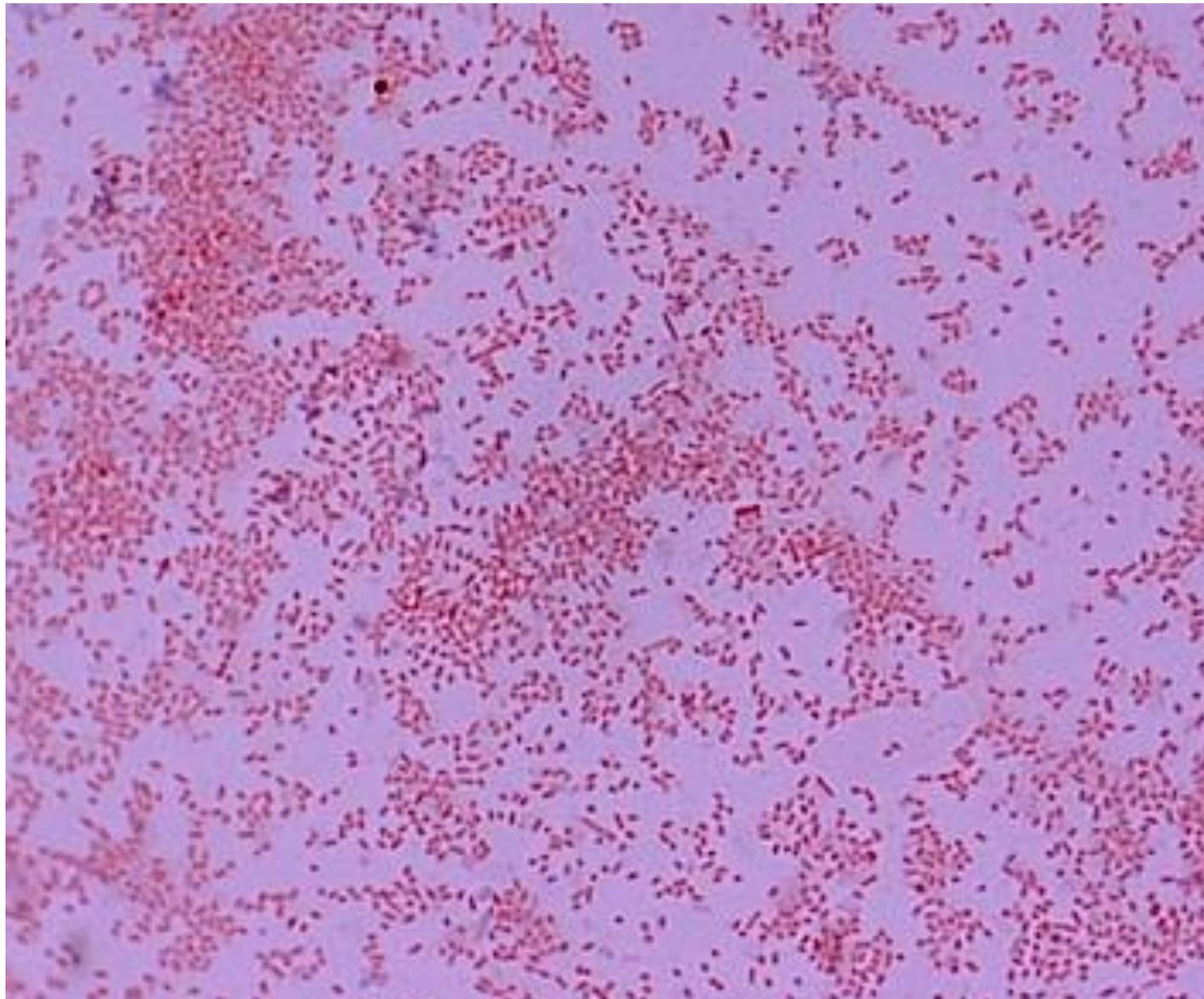


# *Bacteroides thetaiotamicron*



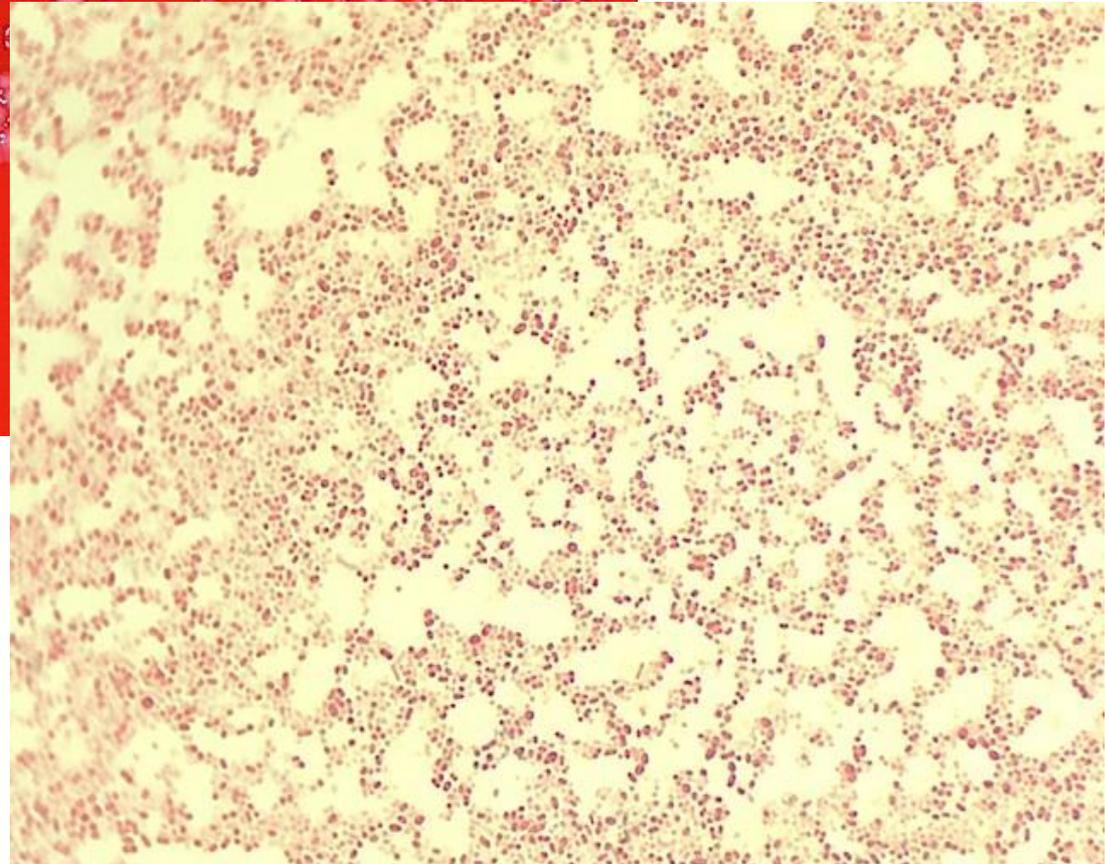
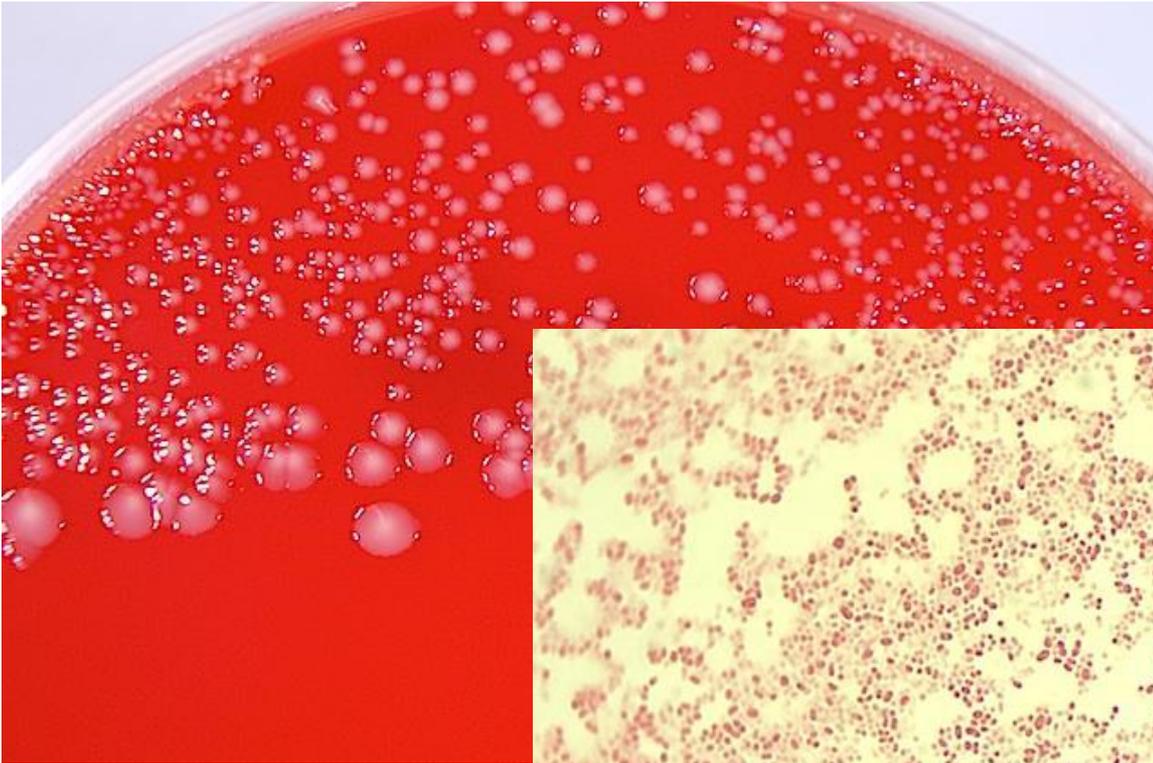
# *Porphyromonas gingivalis*

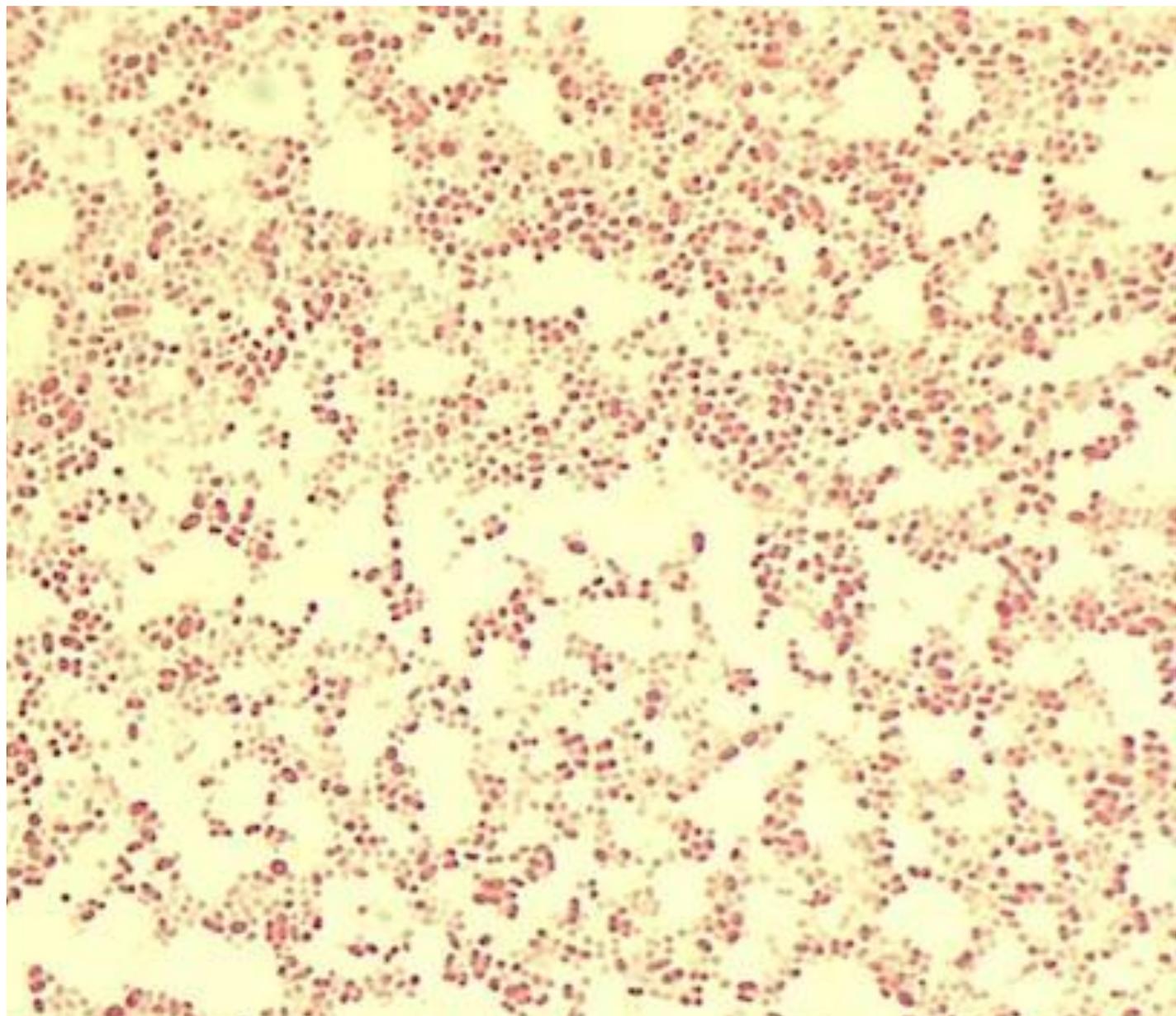




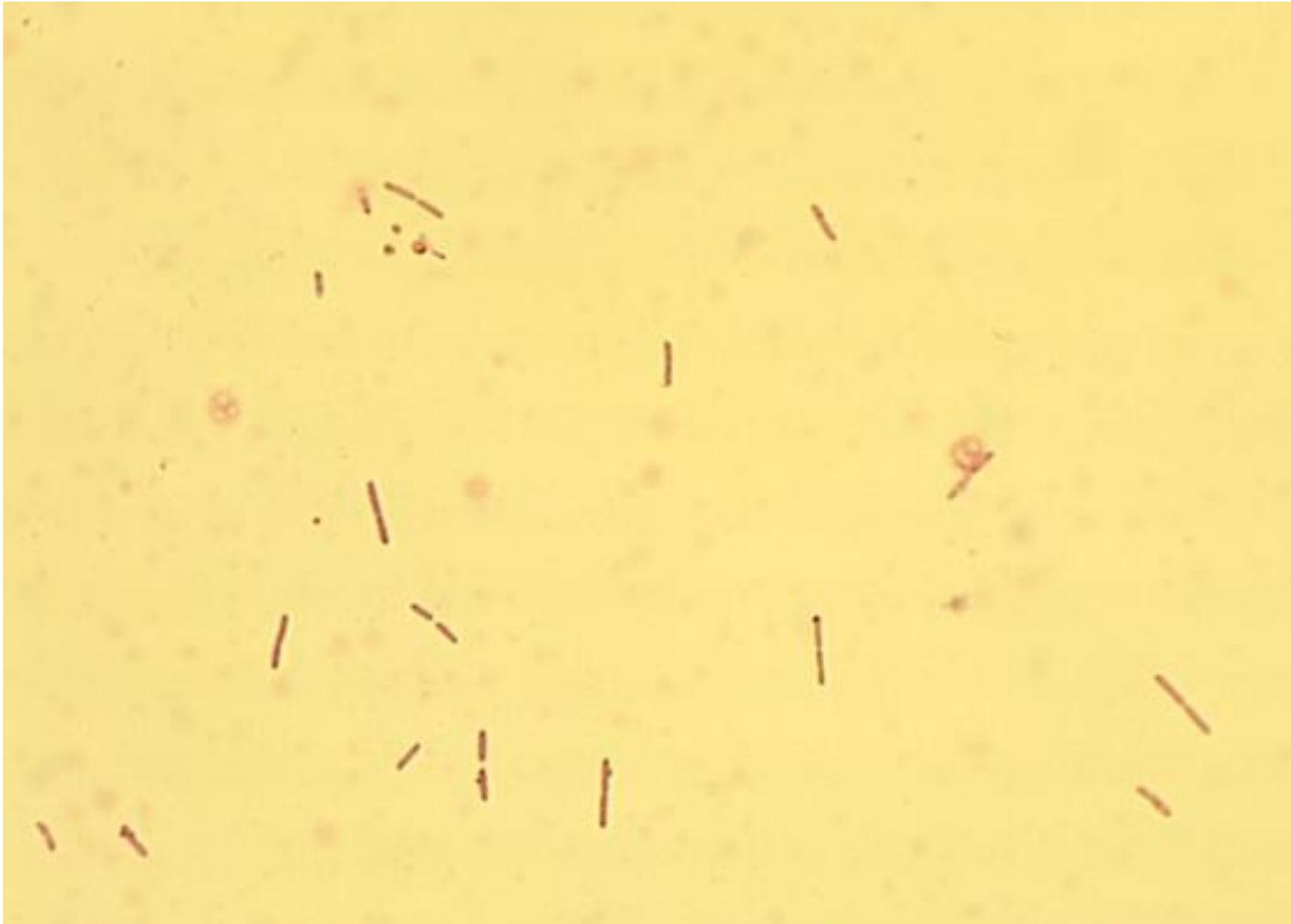


# *Prevotella corporis*

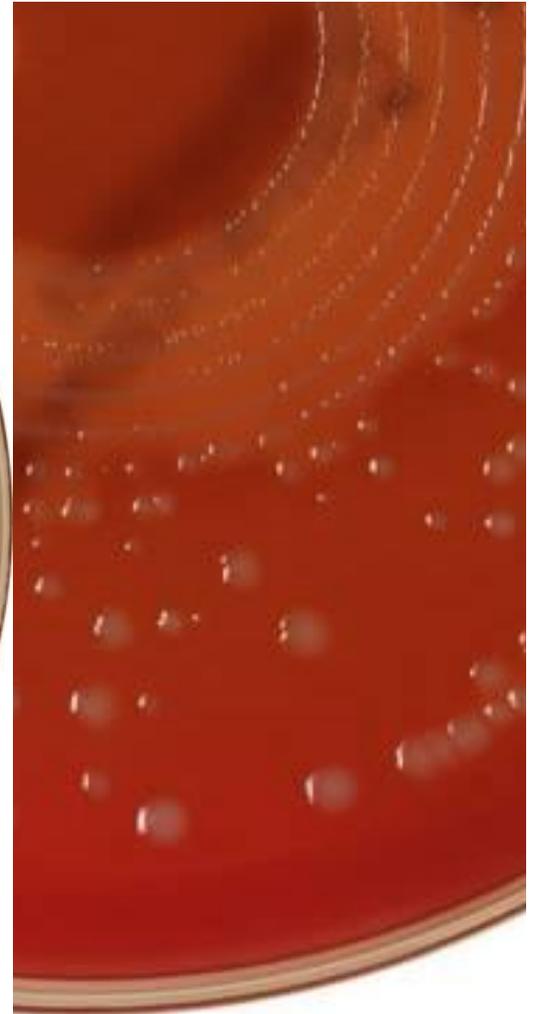


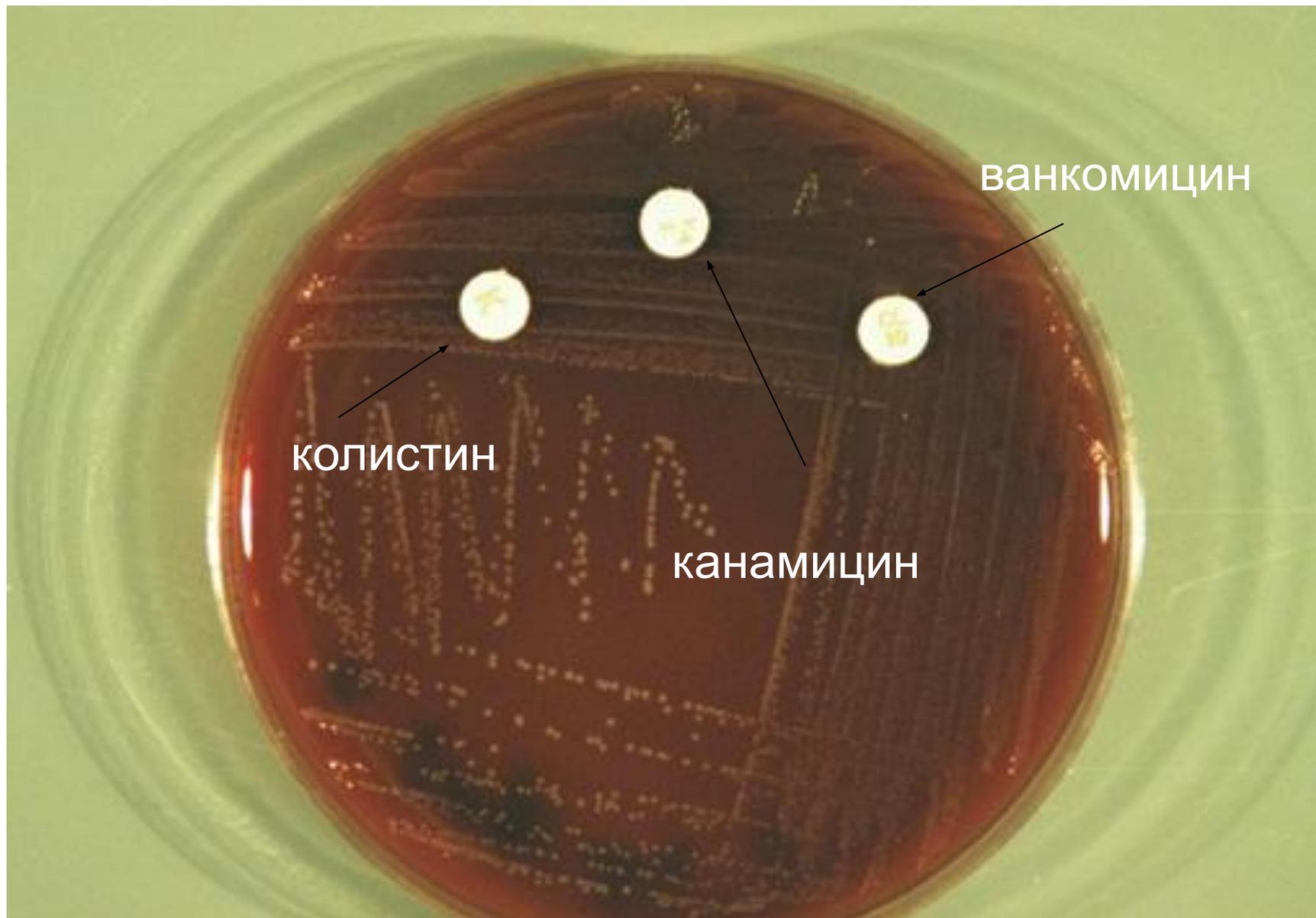


# *Anaerobaculum mobile*



***B.fragilis***

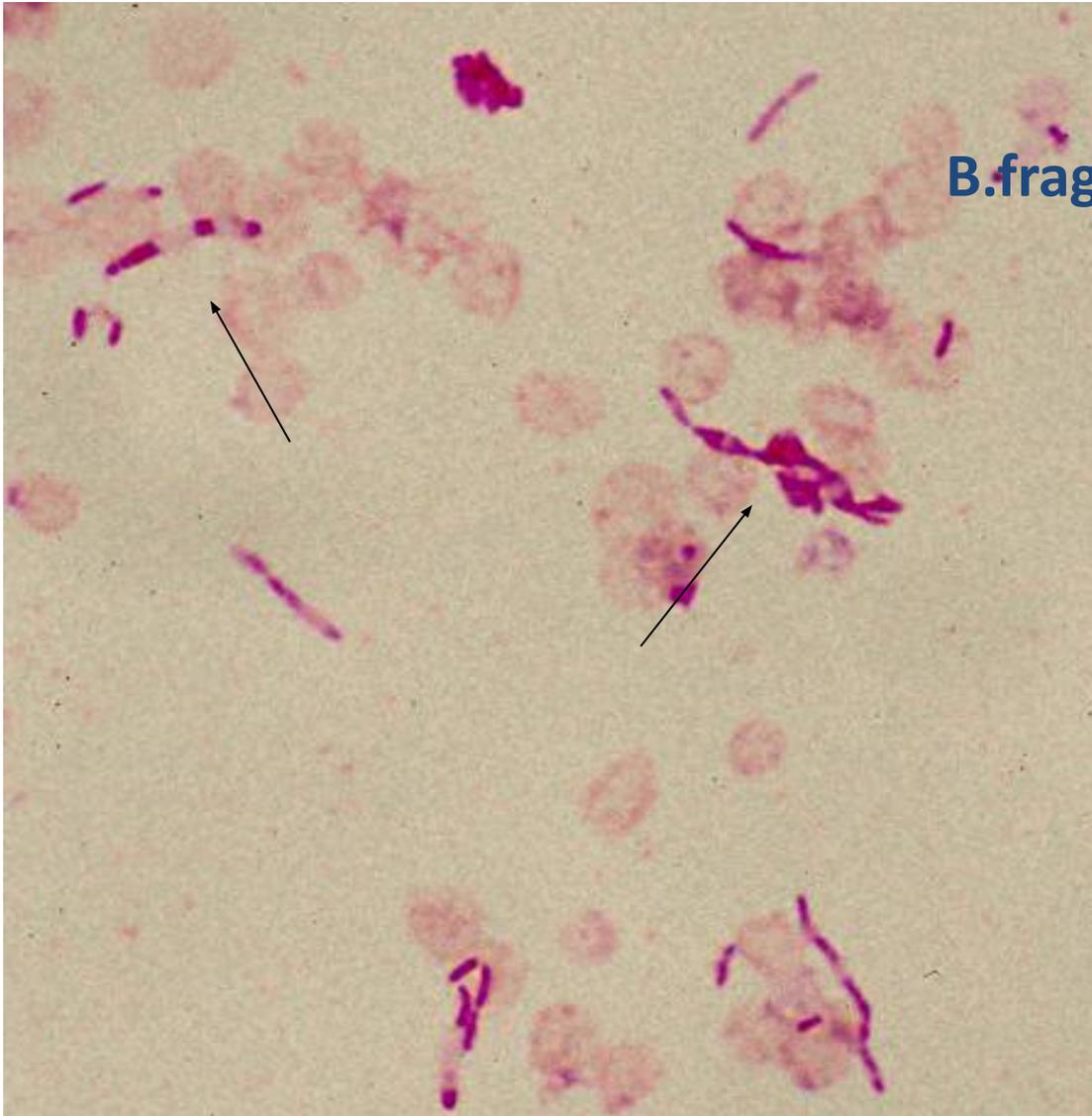




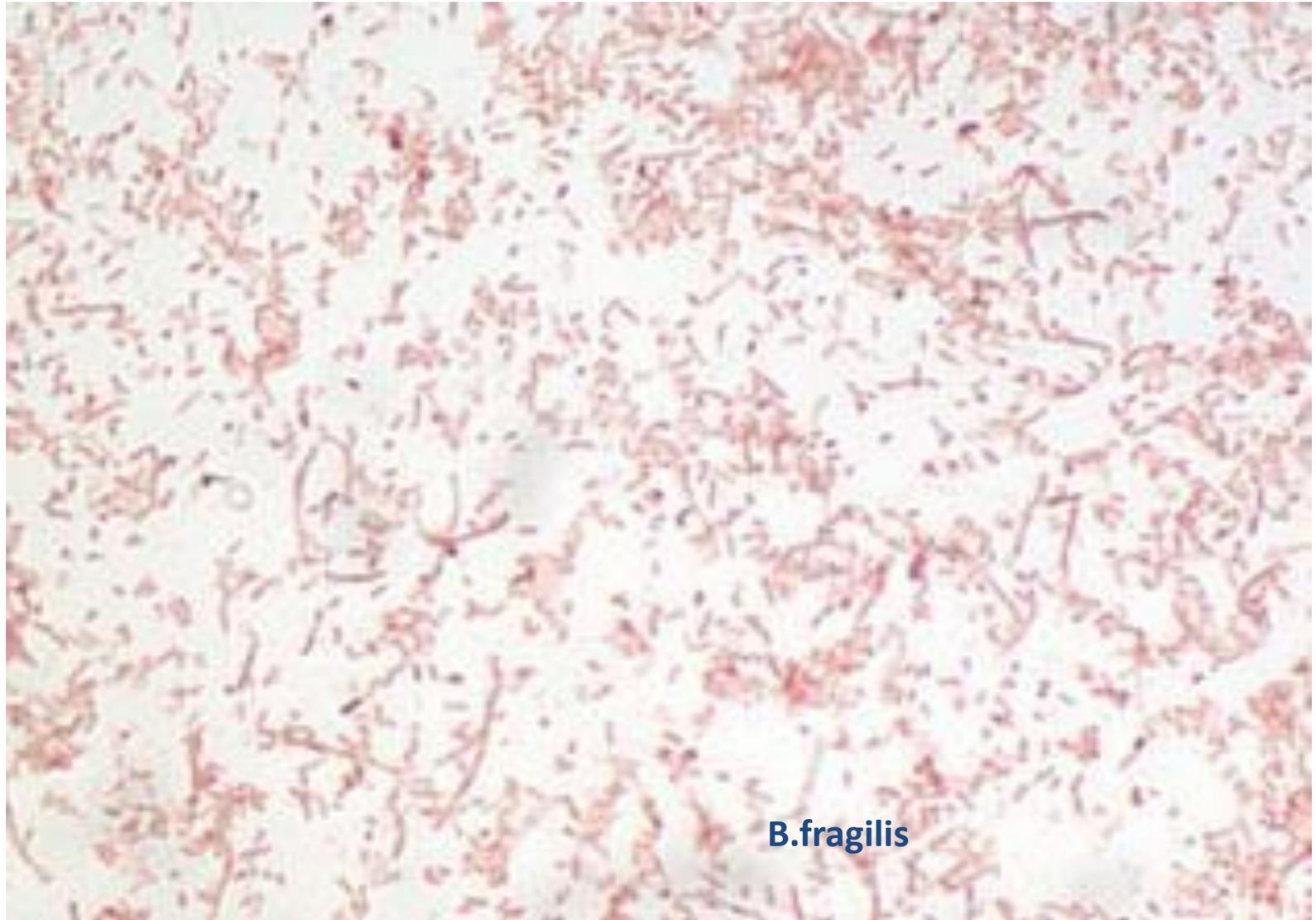
КОЛИСТИН

канамицин

ванкомицин



**B.fragilis**

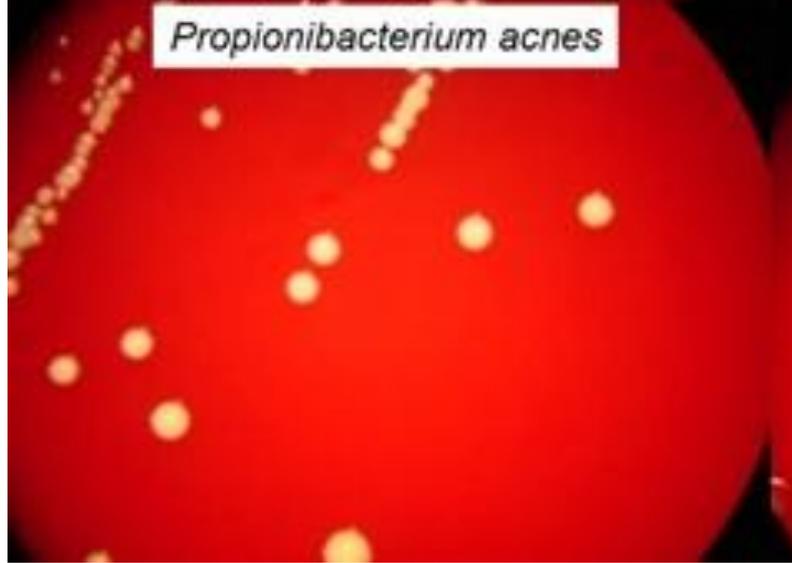


**B.fragilis**

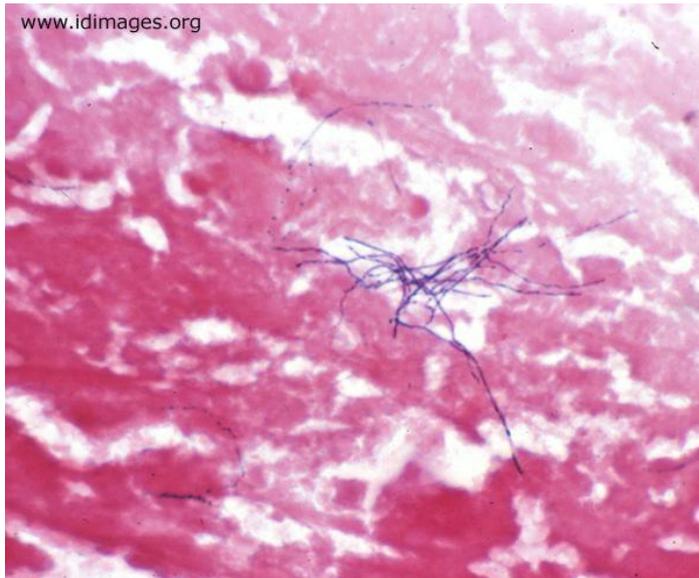
*Clostridium barati*



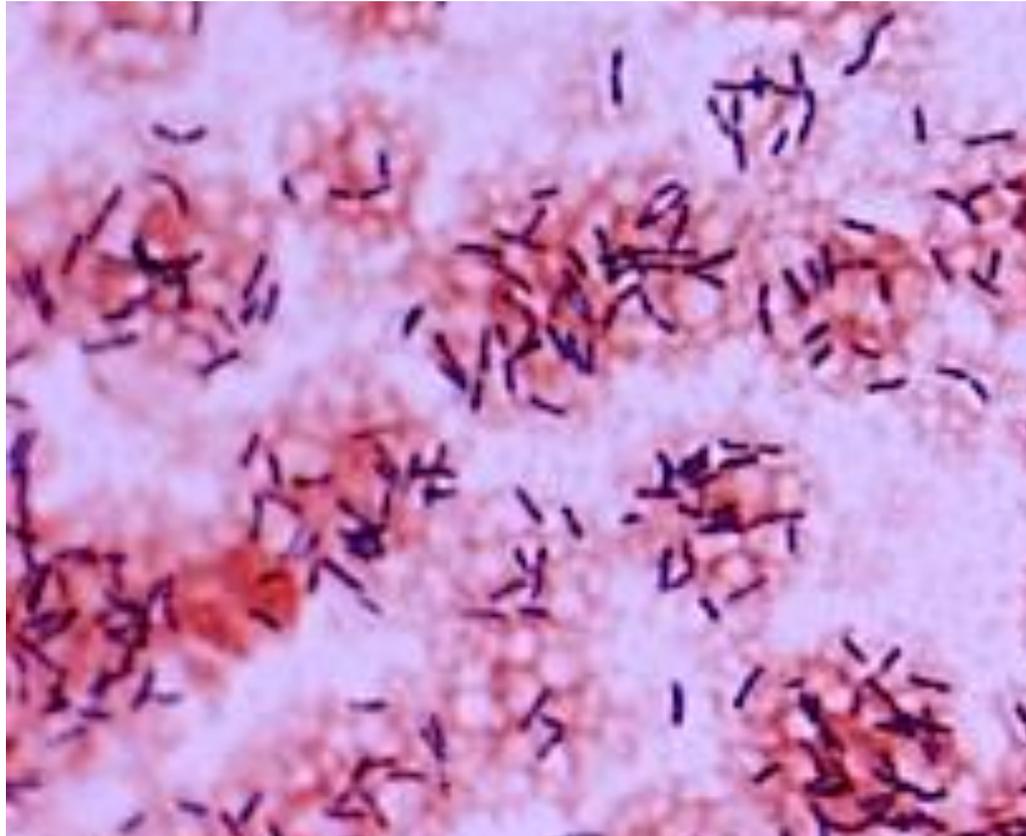
*Propionibacterium acnes*



# *Actinomyces* spp.

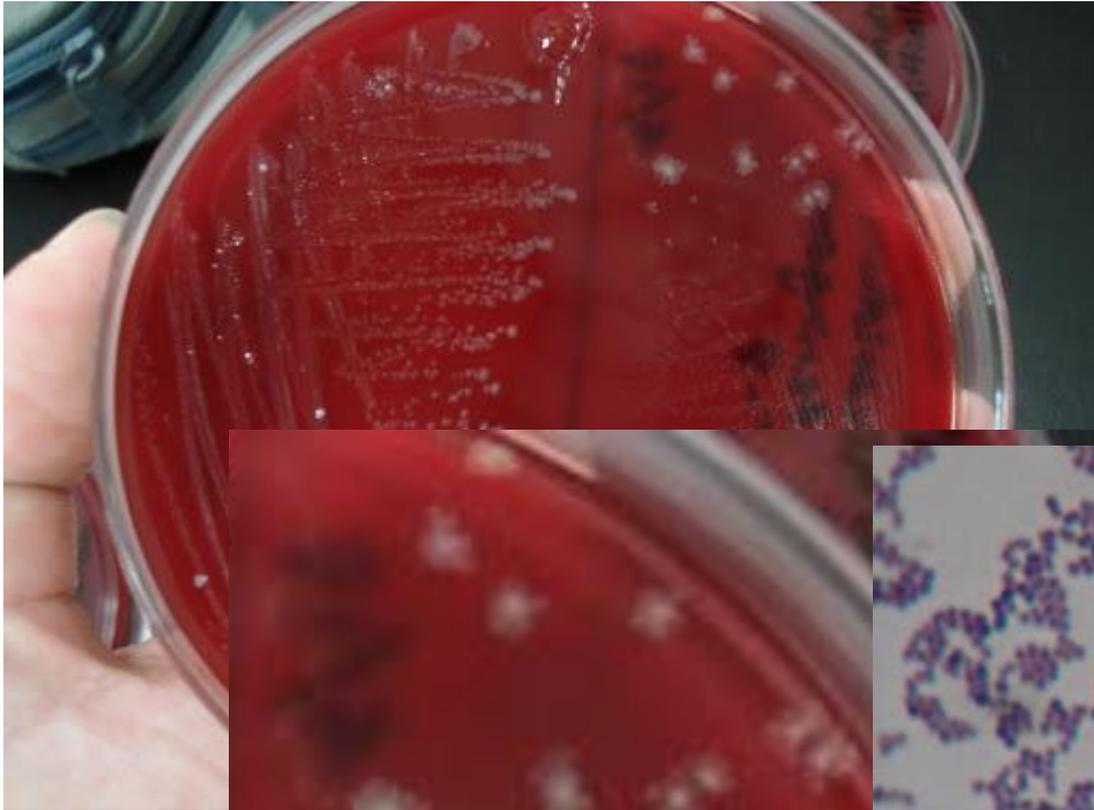


# *Eubacterium rectale*

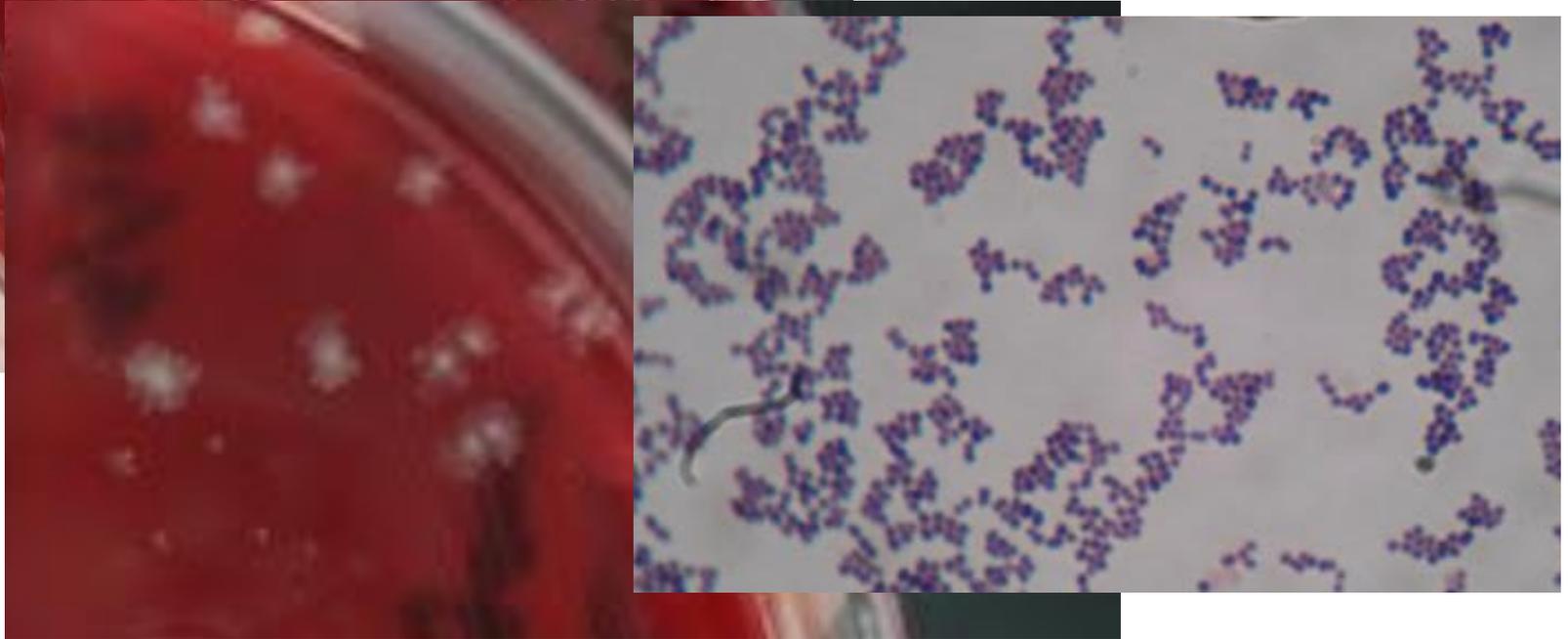




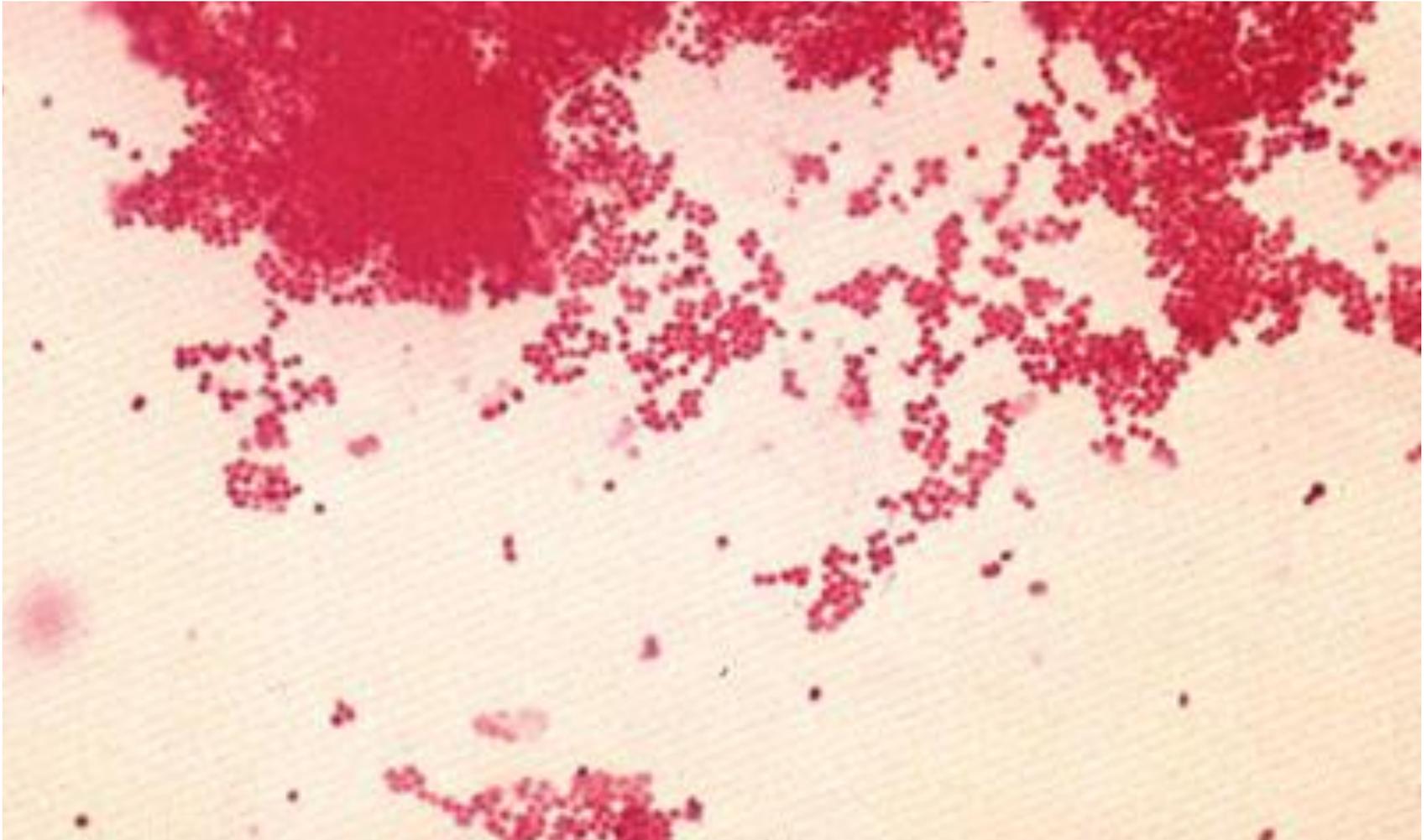
***Bifidobacterium spp.***

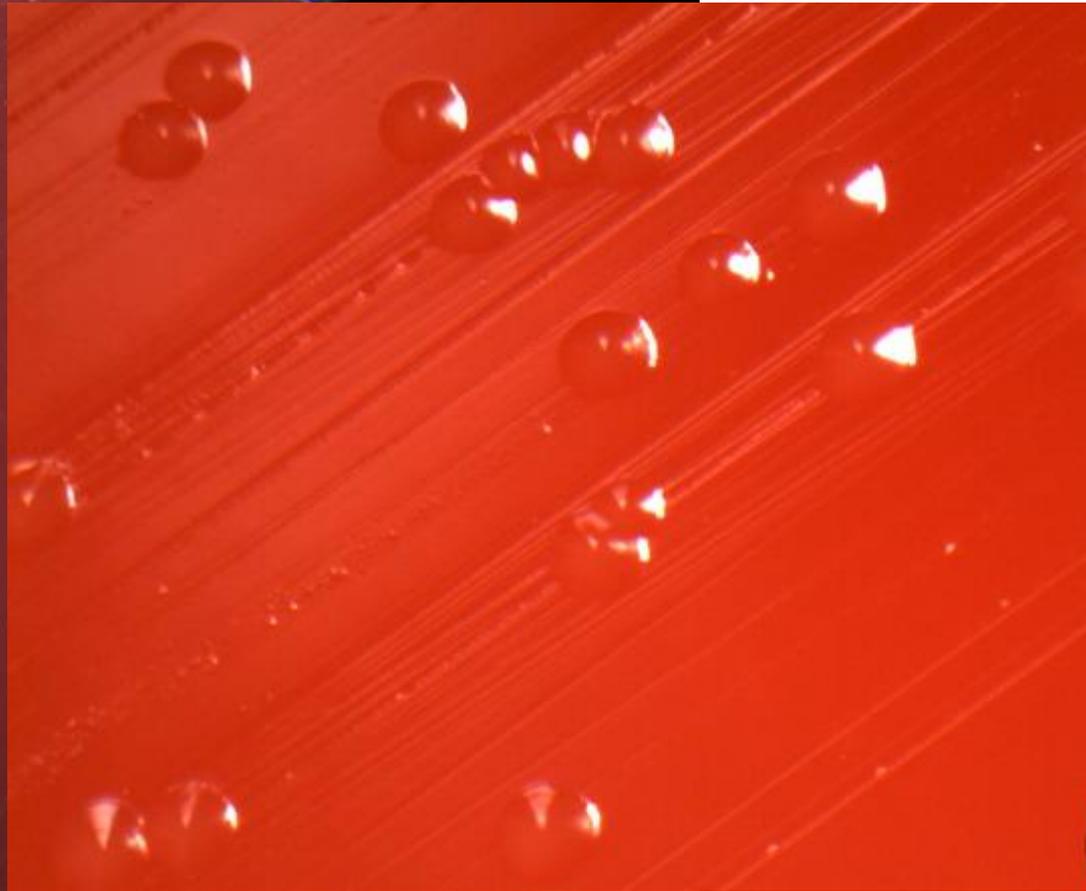
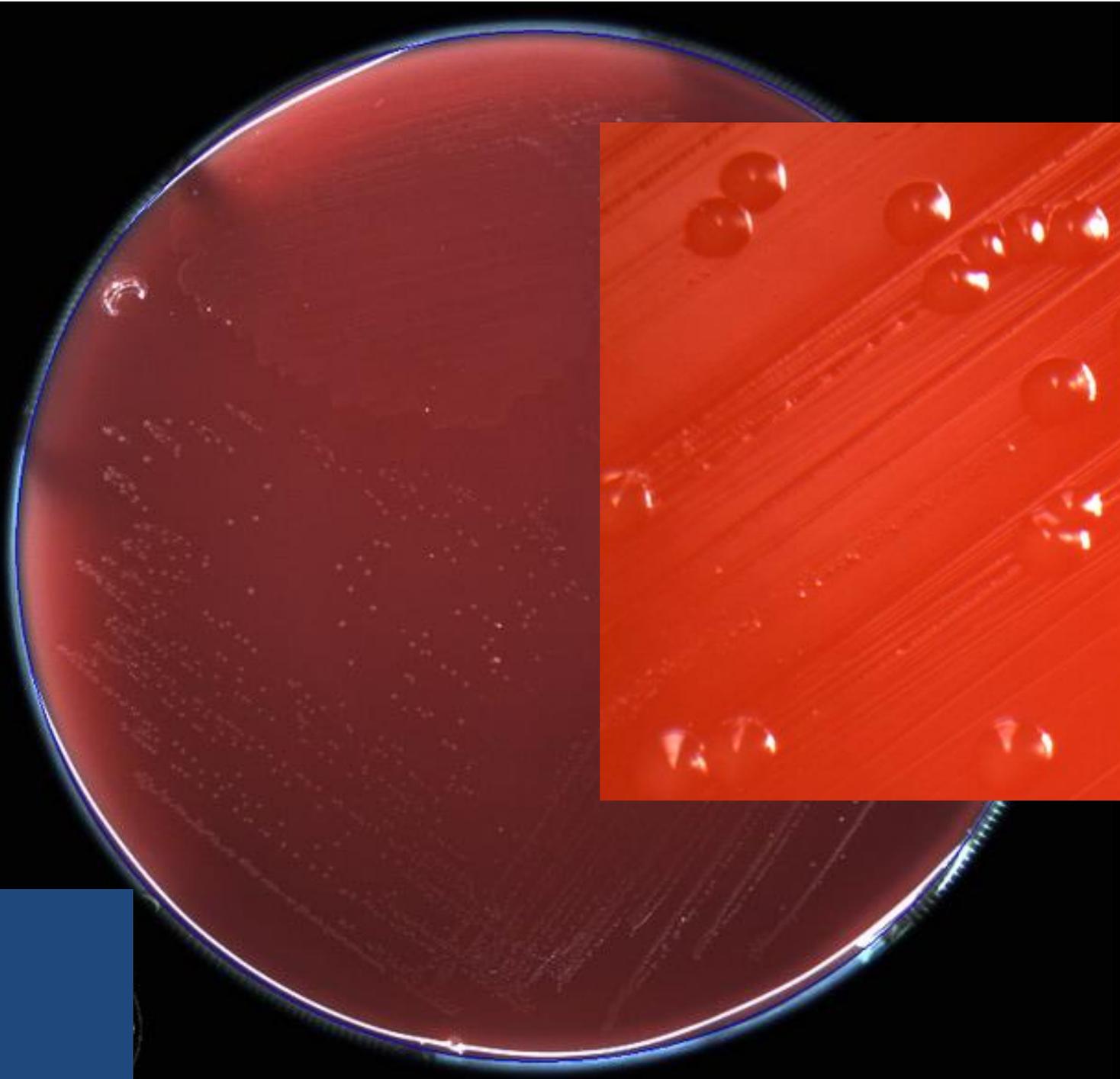


***P. anaerobius***

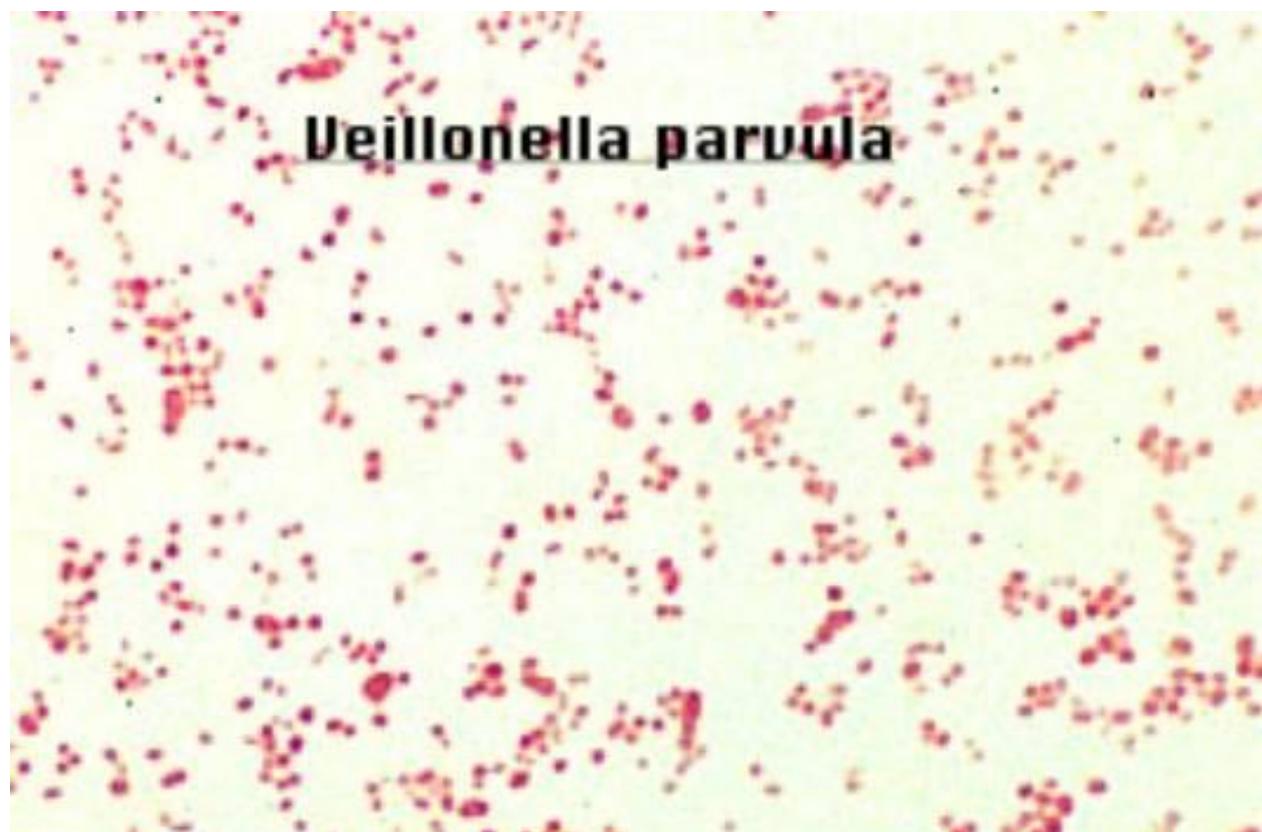


***Veillonella* spp.**



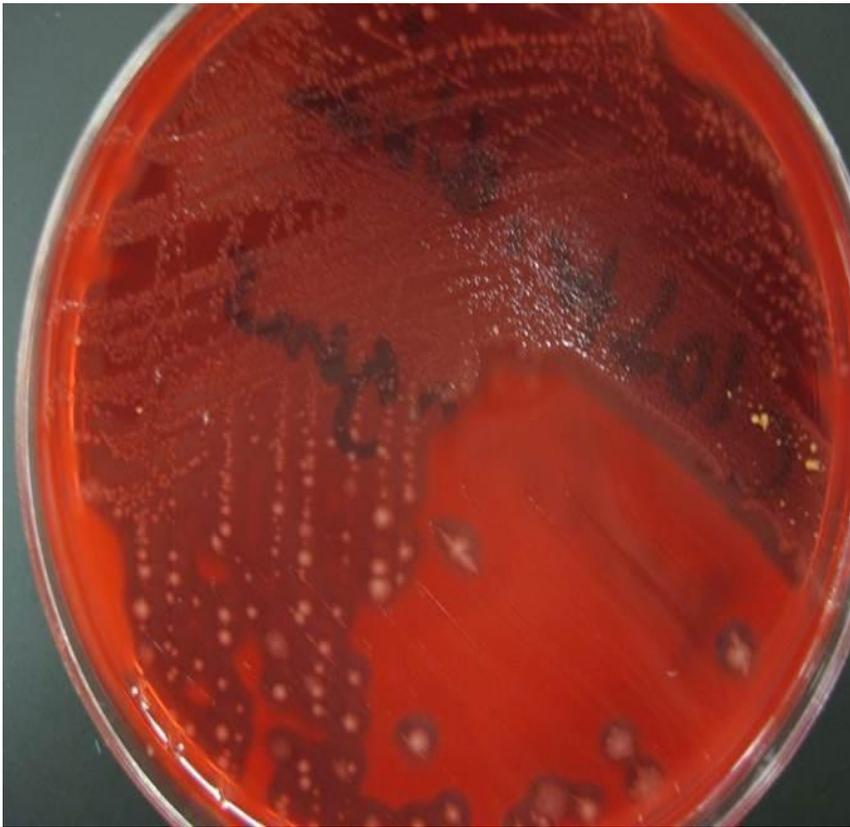


***Veillonella parvula***



# *Clostridium perfringens*

Рост на КА



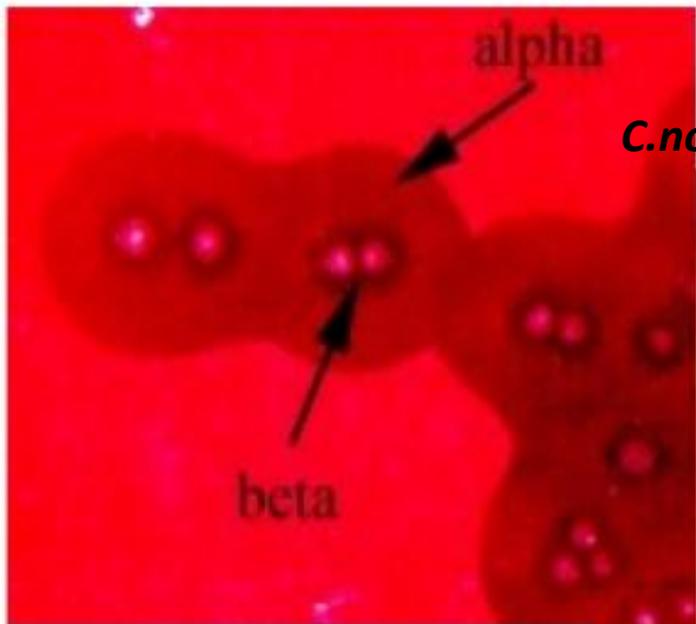
Окраска по Граму



# Gas gangrene clostridia: *Cl. perfringens*

- Isolation and identification -

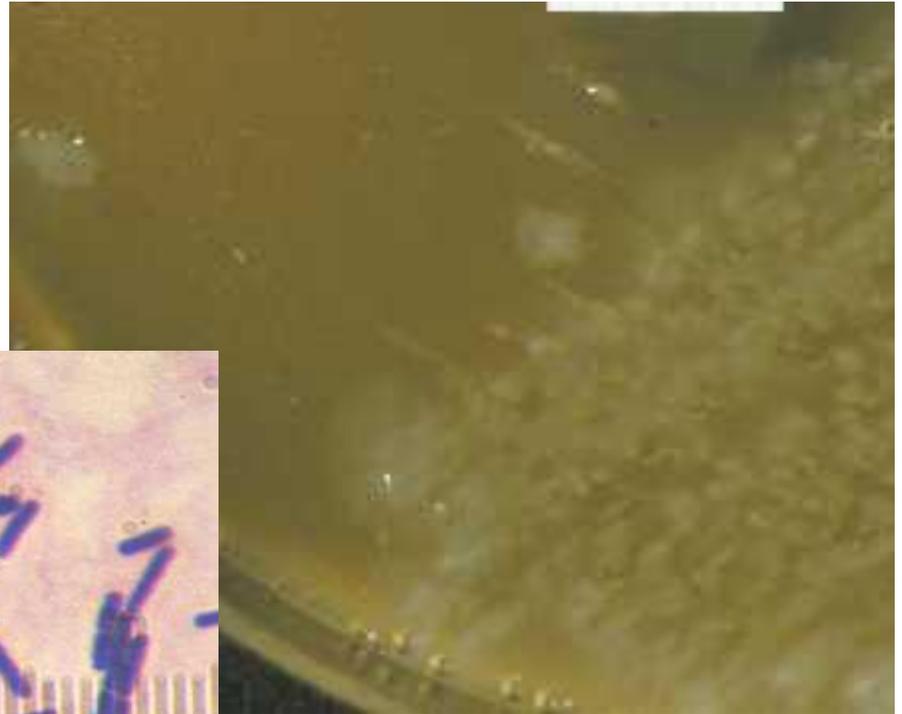
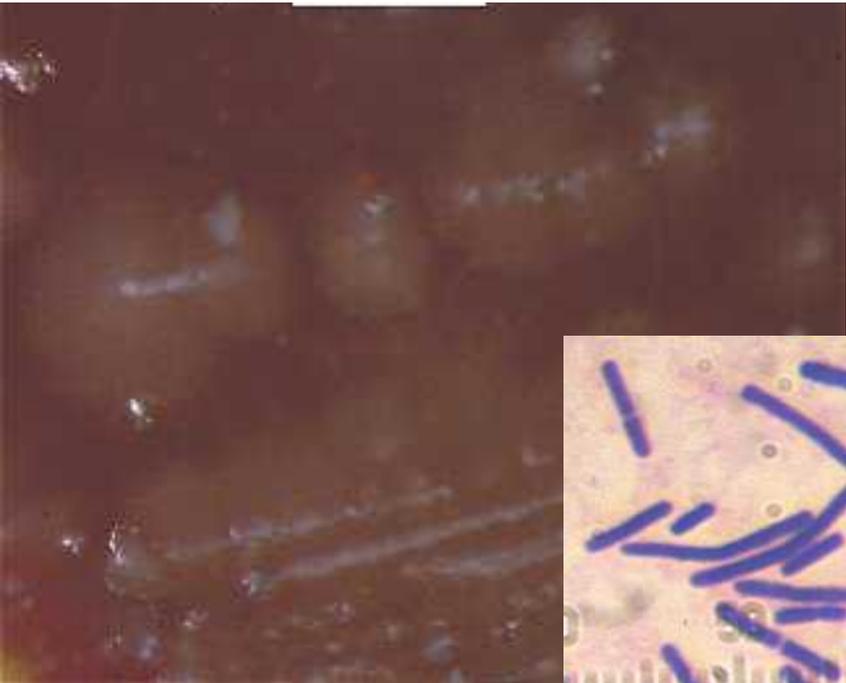
Blood agar: double  
hemolysis



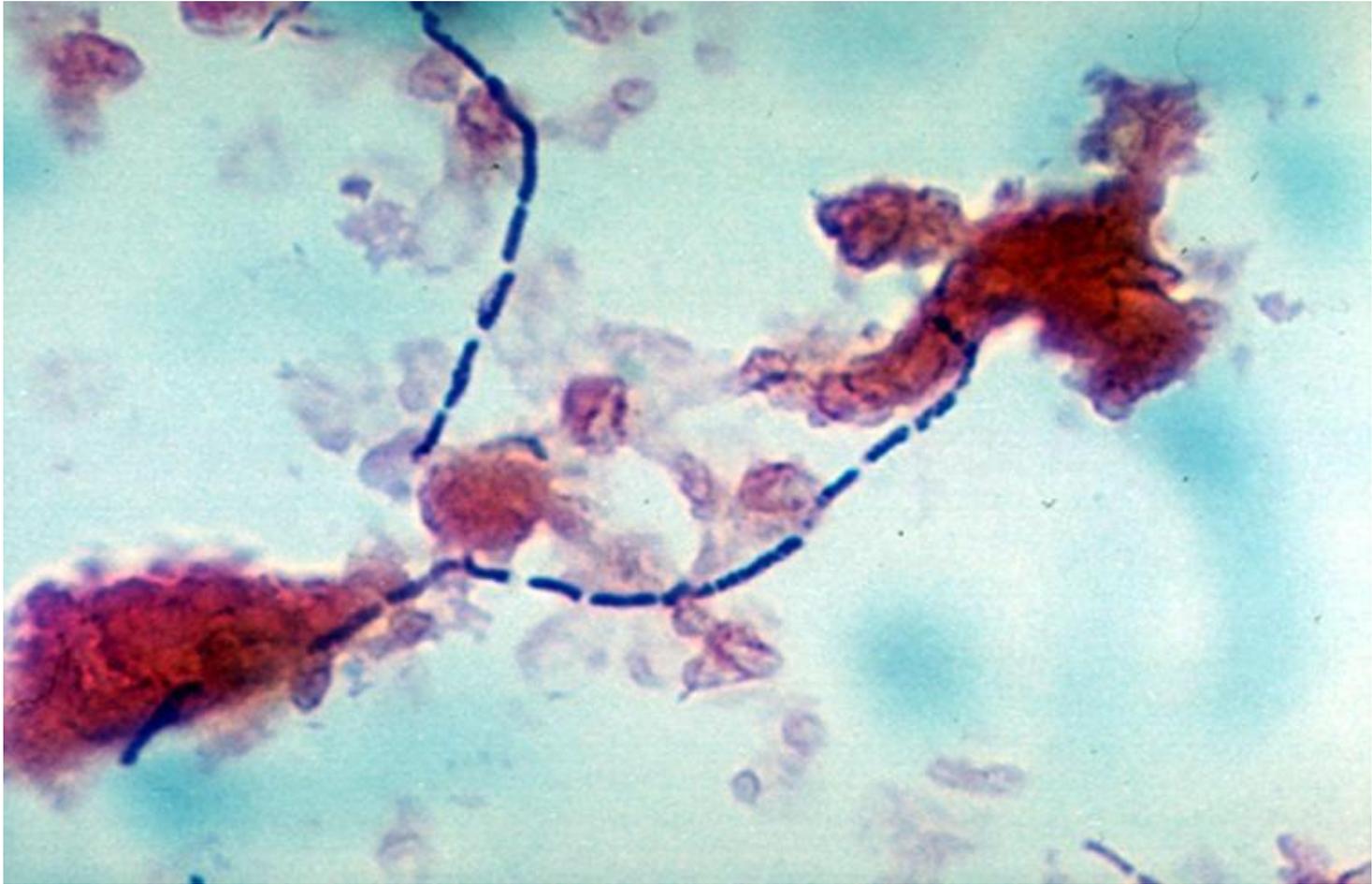
*C.novyi*



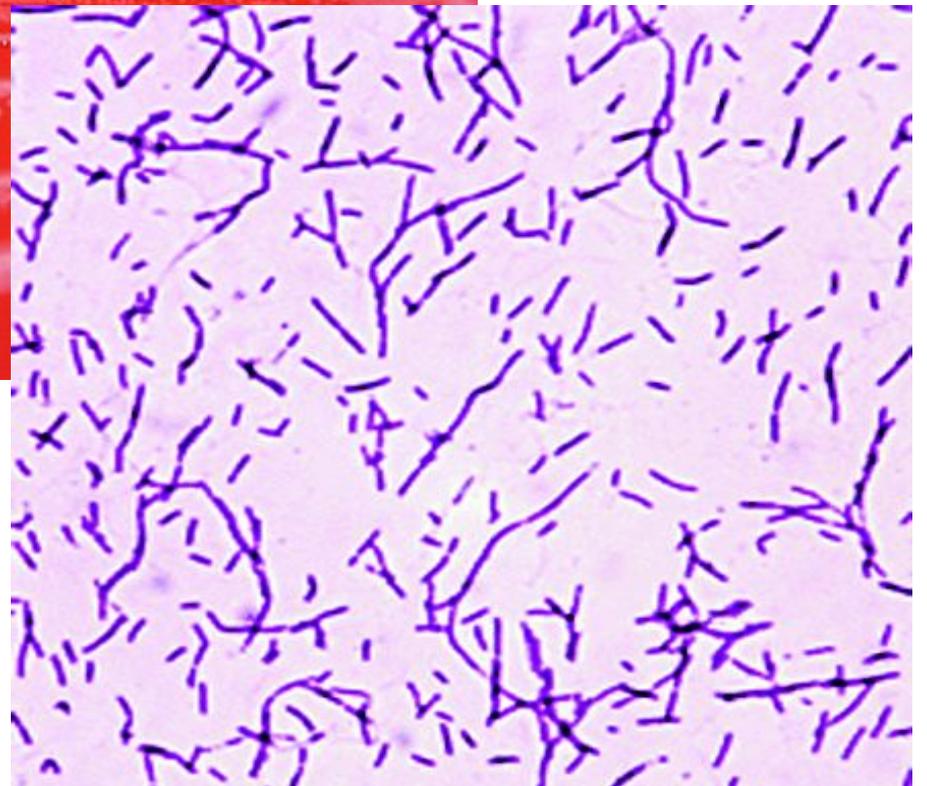
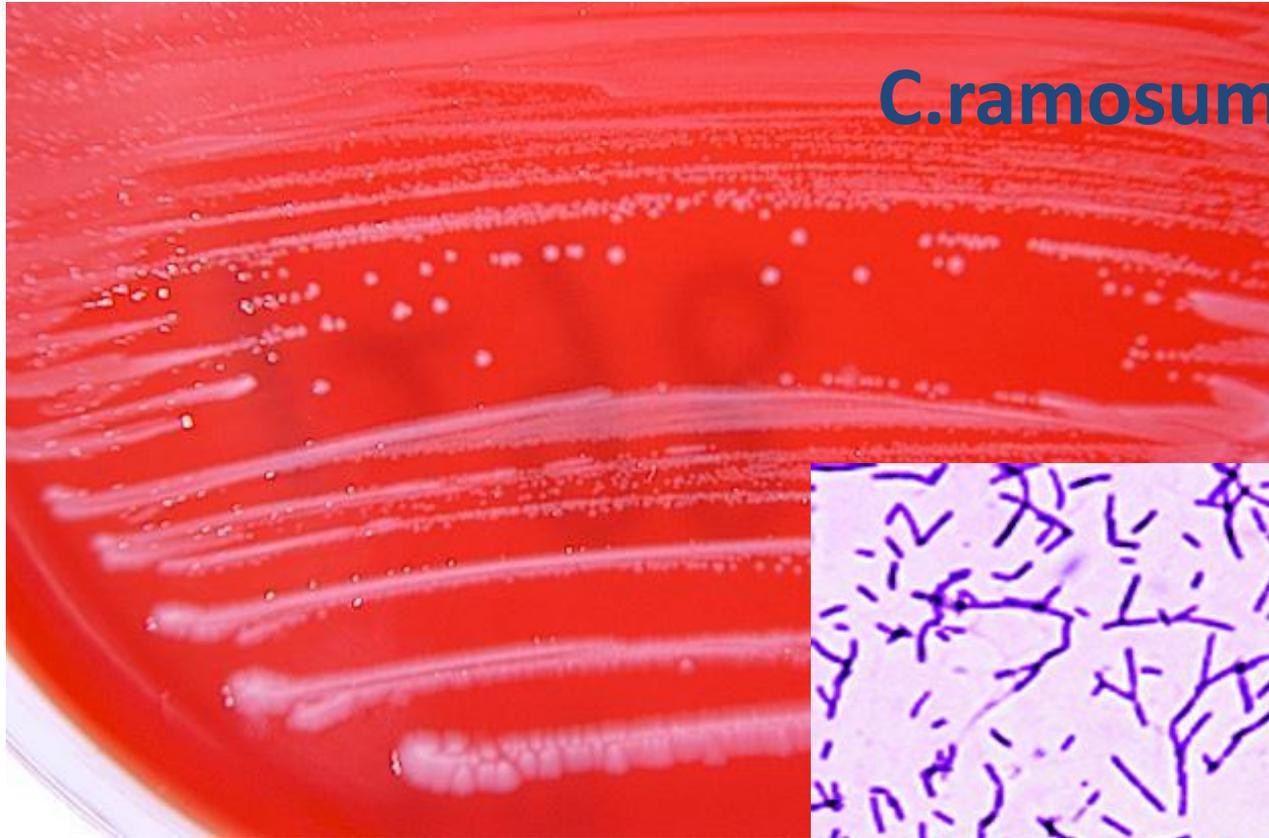
# *C.septicum*



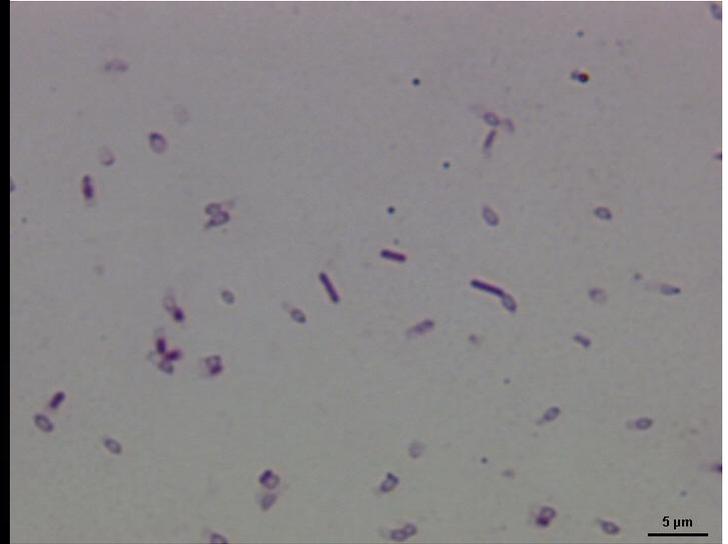
# *C.septicum*



**C. ramosum**

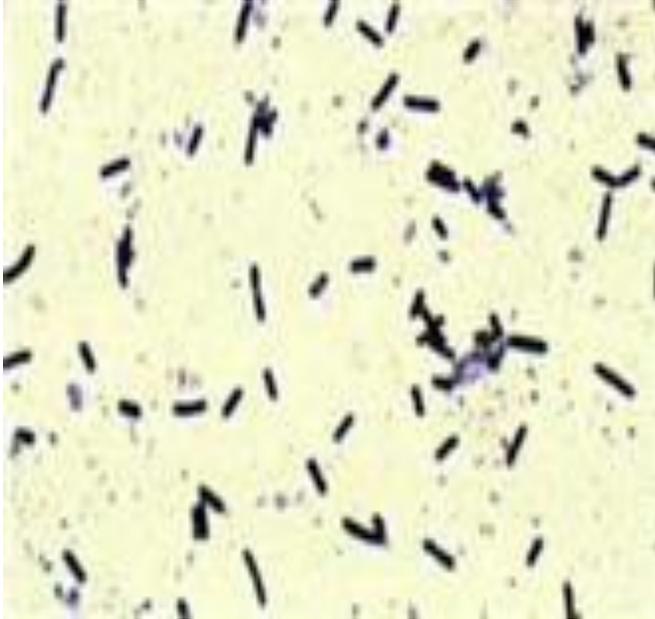


# *C.sporogenes*



***C.sordelii***

**ΦΑ**



# *C.sordelii*



# *Clostridium difficile*

## Лабораторная диагностика

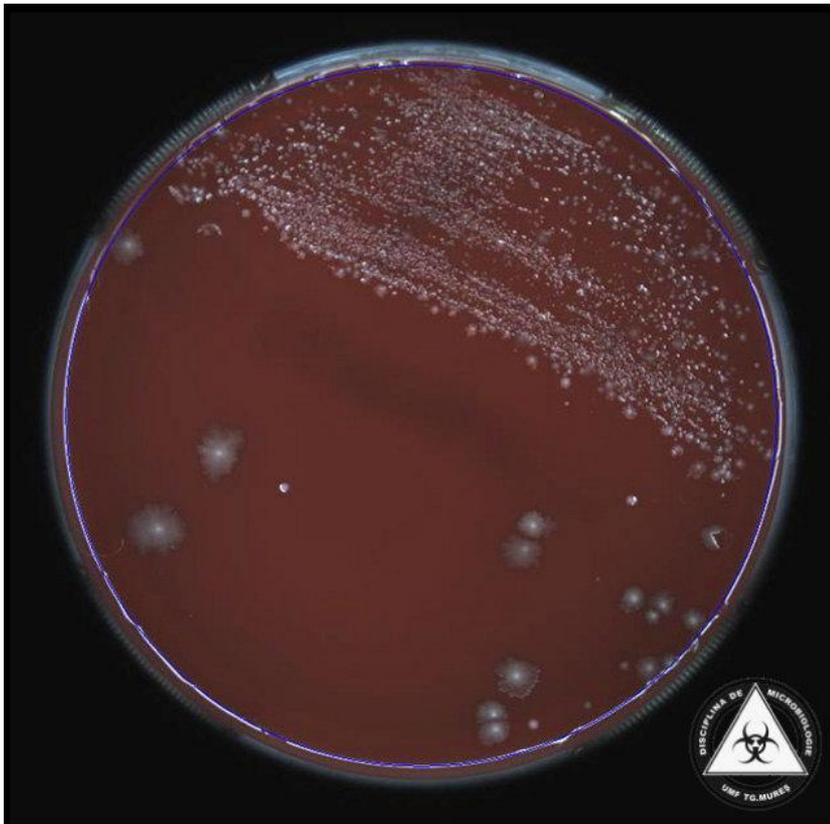
- Бактериологический метод (КА, ССФА)
- Экспресс методы :
  - ✓ ИФА (токсины А/В, глутаматдегидрогеназа)
  - ✓ Иммунохроматография
  - ✓ ПЦР

# *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.