

# Возбудители острых бактериальных пневмоний

# Возбудители острых бактериальных пневмоний:

род *Streptococcus* – *S. pneumoniae*

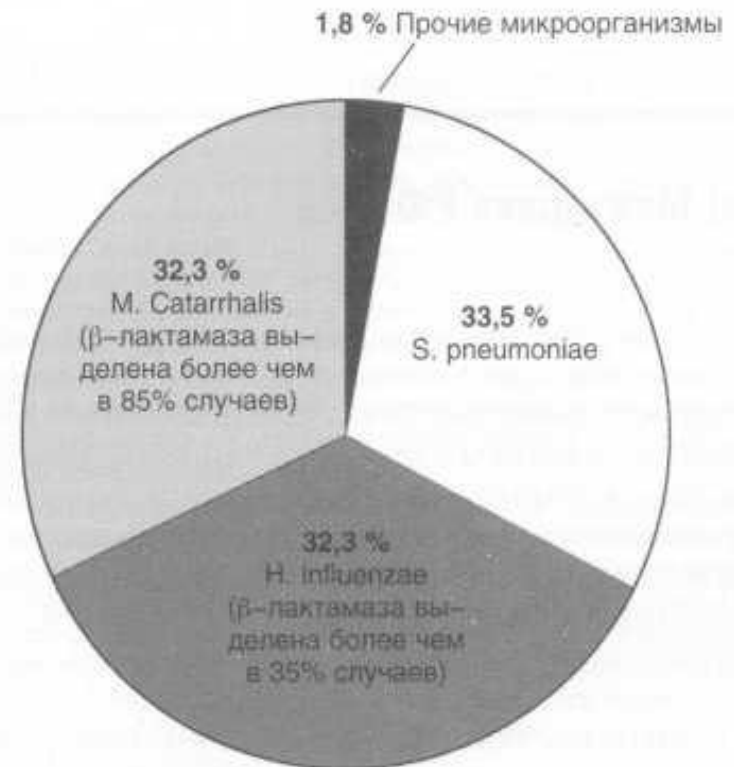
род *Haemophilus* – *H. influenzae*

род *Klebsiella* – *K. pneumoniae*

COMMON CAUSES OF PNEUMONIA IN COMMUNITY-BASED STUDIES IN THREE COUNTRIES

pathogen	percentage* of cases for which a pathogen was identified		
	Sweden	Denmark	Canada
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	66	26	11
<i>Legionella pneumophila</i>	4	30	5
<i>Mycoplasma Chlamydia</i>	9	8	10
<i>Haemophilus influenzae</i>	13	32	8
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3	0	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	7	6
viral cause (not specified)	15	13	21

\*note that more than one possible cause was isolated from some patients, therefore accounting for totals greater than 100%



***S. pneumoniae*** (Вайхзельбаума  
диплококк, пневмококк, Френкеля диплококк,  
*Diplococcus pneumoniae*,  
*Micrococcus pneumoniae*)

Семейство *Streptococcaceae*

Род *Streptococcus*

Вид *S. pneumoniae*

Обнаружены Л. Пастером в 1881 г.

Этиологическую роль в возникновении  
пневмоний доказали Френкель и

Вайхзельбаум в 1884 г.

# Эпидемиология

Регистрируемых вне стационаров (2-4 случая на 1000 человек); ежегодно в мире наблюдают не менее 500000 случаев пневмококковых пневмоний (реальная величина значительно больше).

Наиболее подвержены инфекции дети и лица преклонного возраста.

Резервуар инфекции - больные и носители (20-50 % детей дошкольного возраста и 20-25 % взрослых лиц); основной путь передачи - контактный; в период вспышек также воздушно-капельный.

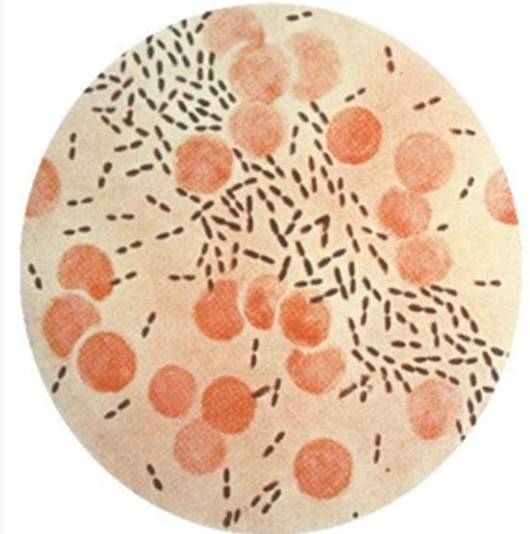
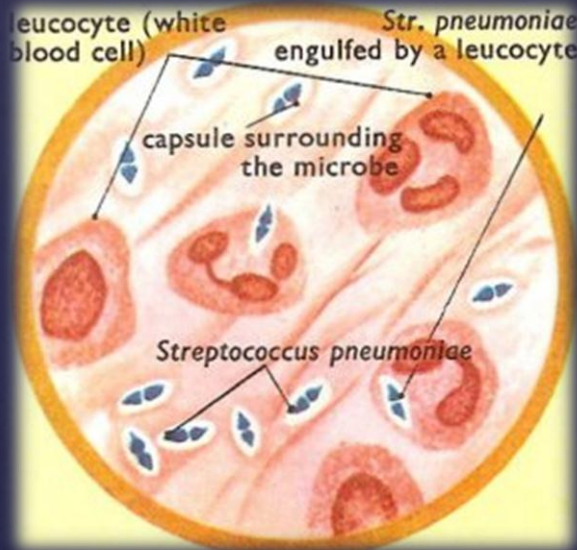
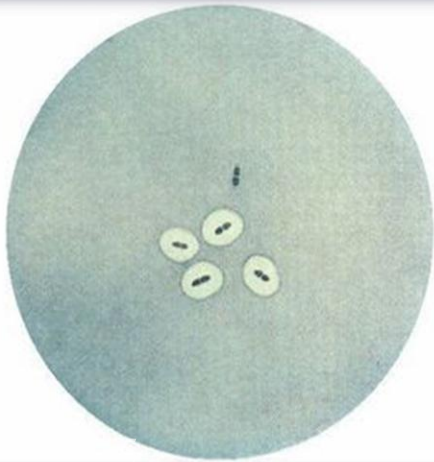
Пик заболеваемости приходится на холодное время года.

# Морфология

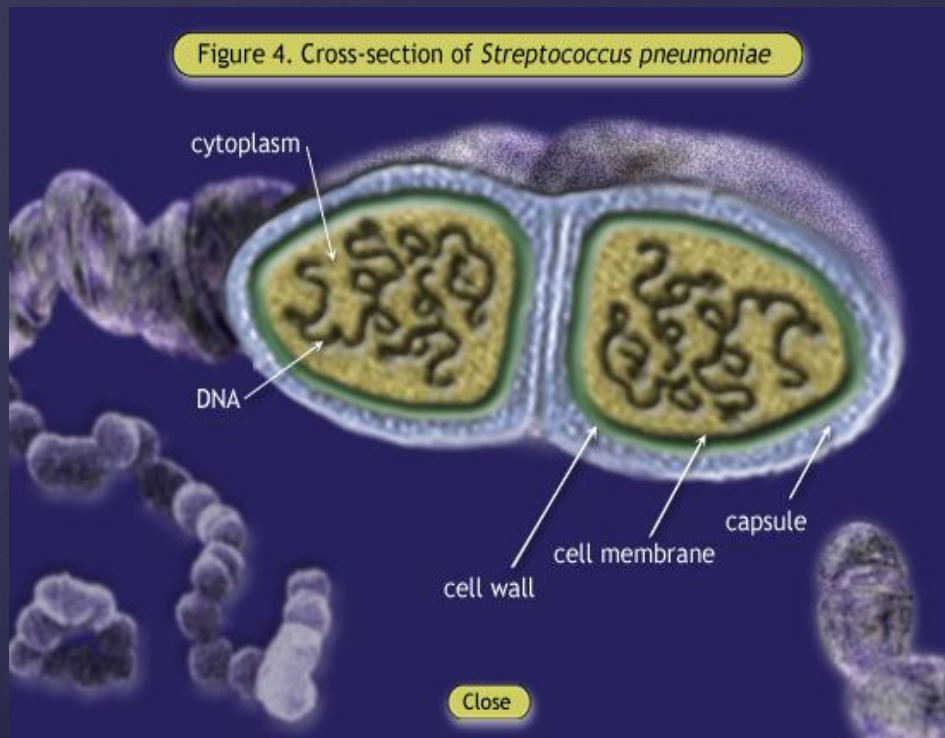
Представляют собой овальные или ланцетовидные грамположительные кокки диаметром около 1 мкм; в мазках из клинического материала клетки располагаются парами, каждая из которых окружена толстой капсулой; в мазках из чистой культуры могут располагаться цепочками и быть более округлыми.



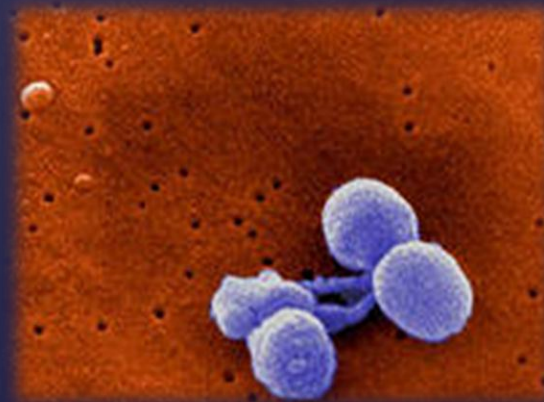
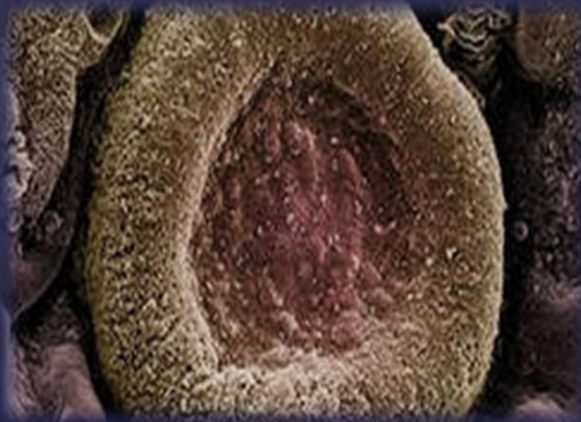
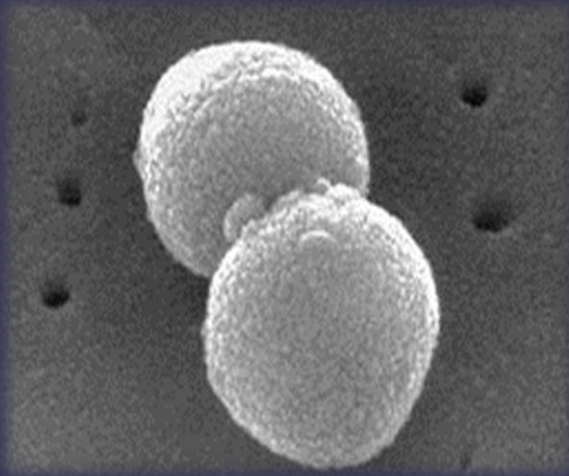
Рис 3.27. Чистая культура пневмококка. Окраска по Граму



На простых питательных средах образуют тонкую капсулу, (образование стимулирует добавление крови, сыворотки, асцитической жидкости)



# Морфология пневмококка

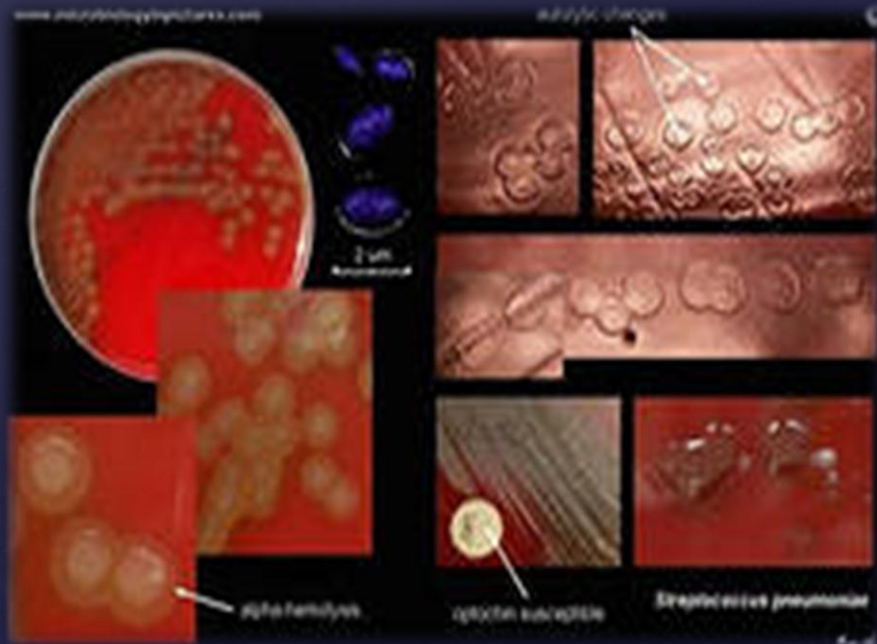
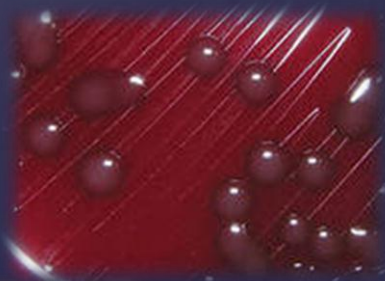


# Культуральные свойства

- ❖ факультативный анаэроб, температурный оптимум – 37 °С, оптимум рН – 7,6-7,8,
- ❖ предпочитают капнофильные условия (5-10 % двуокиси углерода)
- ❖ хорошо растет на кровяных или сывороточных средах, дополненных 0,1 % глюкозой
- ❖ на жидких средах дают равномерное помутнение и небольшой хлопьевичный осадок



На агаре образует нежные, полупрозрачные, четко очерченные колонии около 1 мм в диаметре; иногда они могут быть плоскими с центральным углублением, на кровяных средах формирует зону альфа-гемолиза (зеленоватая обесцвеченная зона – переход гемоглобина в метгемоглобин)



# Устойчивость

- ❖ в сухой мокроте сохраняются до двух месяцев;
- ❖ длительно сохраняться при низких температурах;
- ❖ при температуре 60 °С погибают в течение 3-5 минут;
- ❖ 3 % раствор карболовой кислоты убивает за 1-2 минуты;
- ❖ чувствительны к оптохину (в концентрации 1:100000) и желчи, что используют для идентификации бактерий.

В настоящее время с появлением множества антибиотиков, из достаточно «безобидного» микроба пневмококки стали устойчивыми к традиционным антибиотикам.

Уровень устойчивости к пенициллину составляет до 50 %, к тетрациклину и левомицетину – около 30 %.

Если пневмококк не чувствителен к пенициллину, то он гарантированно не чувствителен и к некоторым другим антибиотикам.

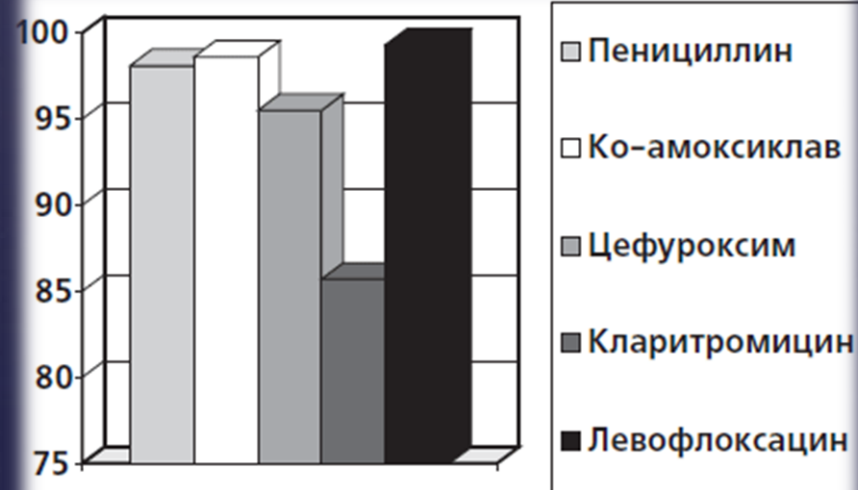


Рисунок 1. Чувствительность *S. pneumoniae* к антибиотикам (исследование МОХАКТИВ, n = 426)

# Биохимические свойства

- ❖ разлагает до кислоты без газа спирты и сахара: глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, инулин (60 % штаммов)
- ❖ лизируется желчью, дезоксихолатом натрия, оптохином (этилгидрокупреин гидрохлорид).

# Антигенное строение

У пневмококков обнаружены несколько видов антигенов:

- ❖ М-белок;
- ❖ полисахаридный, О-соматический антиген, находящийся в клеточной стенке, аналогичен С-субстанции других стрептококков за счет сходства химической структуры рибиттейхоевых кислот;
- ❖ полисахаридные капсульные К-антигены, состоят из повторяющихся в различном сочетании моносахаров: D-глюкозы, D-галактозы и L-рамнозы. При переходе из S в R-форму капсульные антигены утрачиваются. По структуре К-антигена пневмококки разделяют на 84 серовара. Перекрёстно реагируют с антисыворотками к антигенам стрептококков групп А и В, а также с сыворотками к антигенам клебсиелл и эшерихии

# Факторы патогенности

- ❖ **капсула** - защищает бактерии от микробицидного потенциала фагоцитов, некапсулированные штаммы практически авирулентны и встречаются редко.
- ❖ **субстанция С** - тейхоевая кислота клеточной стенки, взаимодействующая с С-реактивным белком, что приводит к высвобождению медиаторов острой фазы воспаления и формированию очагов воспаления в легочной ткани.

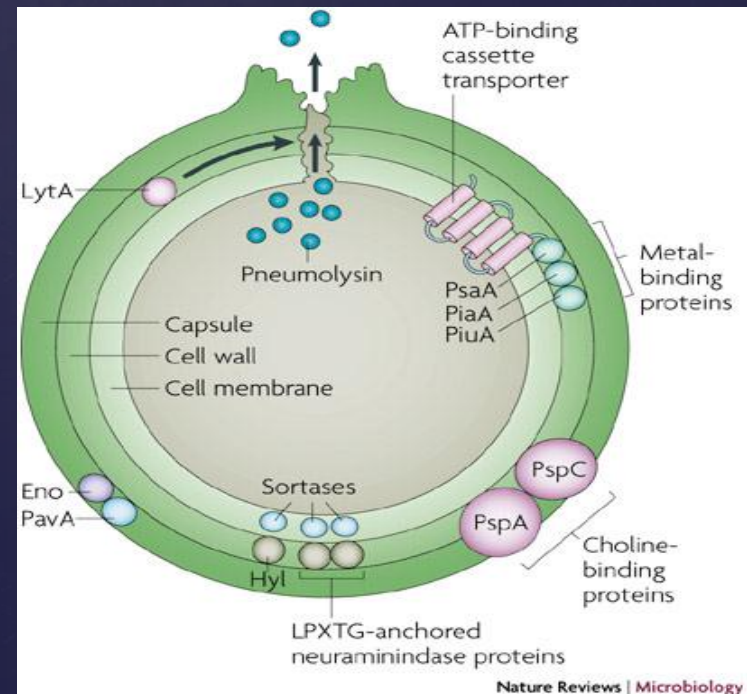
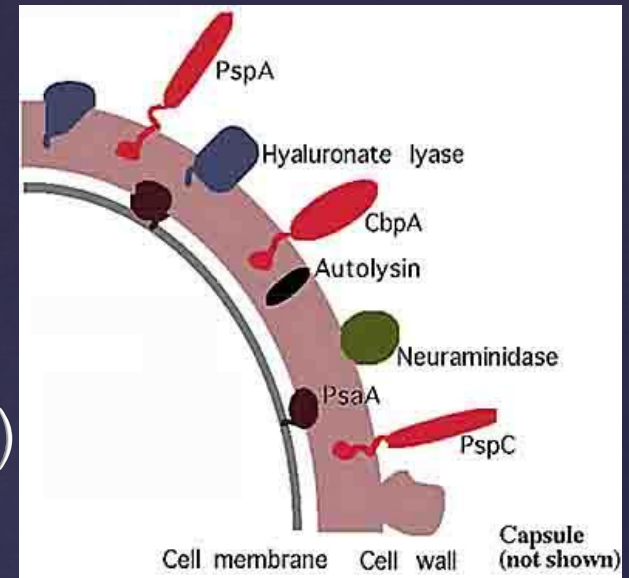
# Токсины и ферменты:

## Токсины

- ❖ эндотоксин
- ❖ альфа- и бета-гемолизин (пневмолизин)
- ❖ лейкоцидин

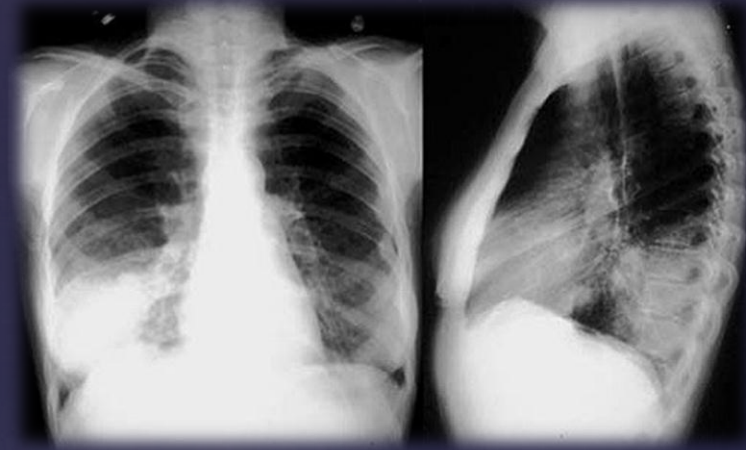
## Ферменты

- ❖ мурамидаза
- ❖ нейраминидаза
- ❖ гиалуронидаза (способствует распространению микроорганизмов в тканях),
- ❖ пептидаза (расщепляет IgA).



# Патогенез легочных поражений

- ❖ аспирация слюны
- ❖ проникновение бактерий в нижние отделы дыхательных путей
- ❖ из первичного очага возбудитель может проникать в плевральную полость и перикард либо гематогенно диссеминировать и вызывать менингиты, эндокардиты и суставные поражения.



Инфицирование наиболее вирулентным сероваром 3 могут сопровождаться образованием полостей в паренхиме легких



# Специфическая профилактика

Проводится:

- ❖ детям от двух месяцев,
- ❖ взрослым, входящим в группы риска,
- ❖ здоровым лицам в период вспышки инфекции

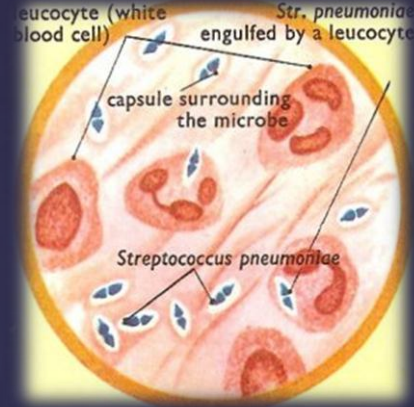
Используют:

- ❖ поливалентную полисахаридную вакцину «Пневмовакс 23» (США, Нидерланды)
- ❖ 7-валентная конъюгированная вакцина «Превенар» (США)
- ❖ полисахаридная вакцина «Пневмо 23» (Франция)



# Материал для исследования:

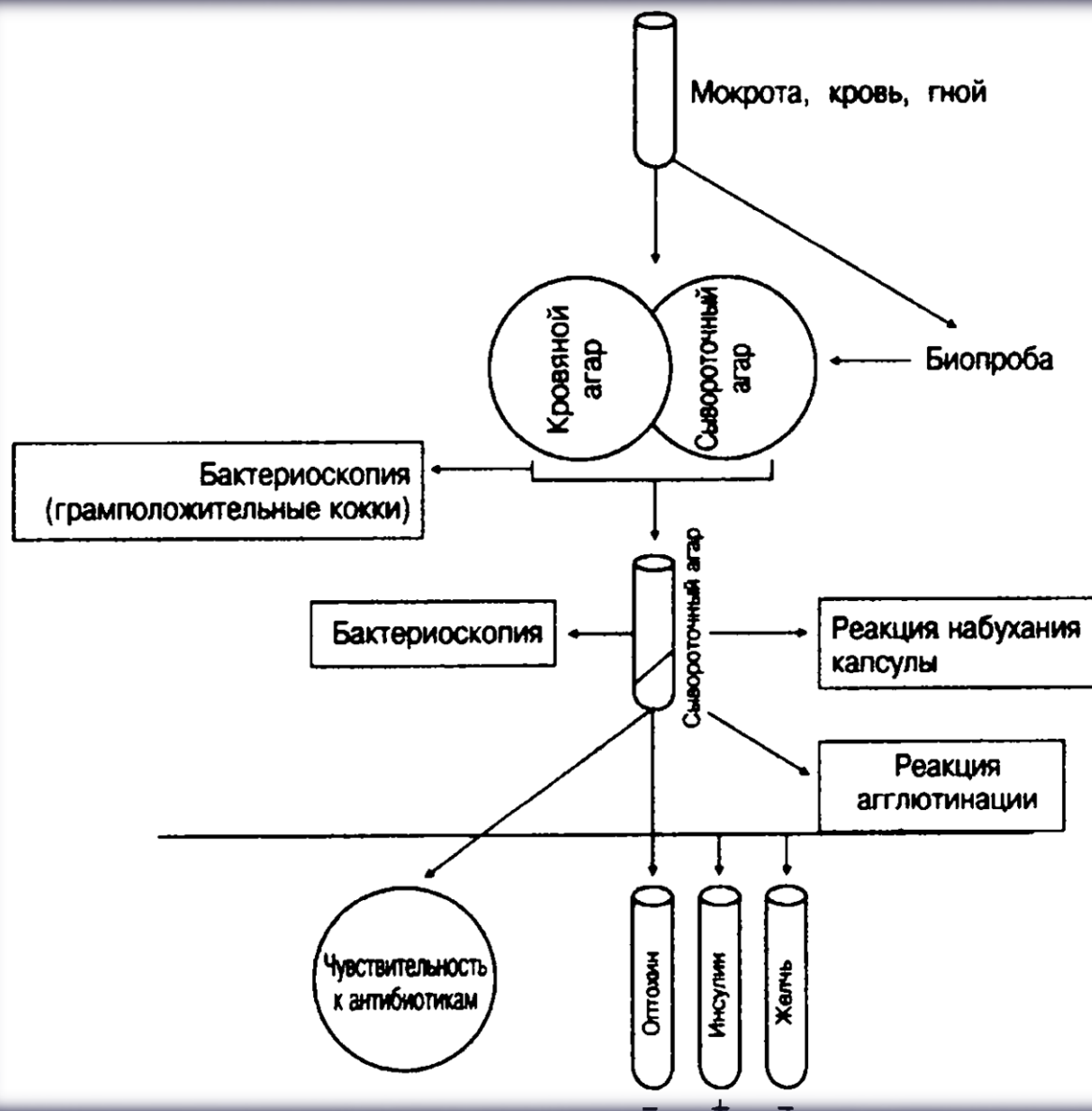
- ❖ мокрота,
- ❖ плевральный выпот,
- ❖ кровь,
- ❖ слизь из носа и зева,
- ❖ кусочки органов (в случае смерти больного).



Материал необходимо исследовать быстро, т.к. бактерии склонны к быстрому аутолизу, обусловленному активностью внутриклеточных ферментов.

Сигнальный ответ быть выдан при обнаружении в мазках из мокроты нейтрофилов и грамположительных ланцетовидных диплококков (не менее 10 в поле зрения)

# Схема лабораторной диагностики



# Первый этап исследования

Бактериоскопия  
(кроме крови)

- окраска по Граму
- окраска по Бури-Гинса (капсула)

Посев  
клинического  
материала на  
питательные  
среды

- 5-10 % кровяной или сывороточный агар
- 8-10 % сывороточный бульон

Постановка  
биопробы

- заражение 2 белых мышей внутрибрюшинно (материал разводят 1:2-1:5)

# Второй этап исследования

## Рост на питательных средах

- на кровяном агаре (мелкие, круглые, зона гемолиза)
- на сывороточном агаре (нежные, полупрозрачные и прозрачные)
- на сывороточном бульоне (равномерное помутнение, осадок)

## Бактериоскопия подозрительных колоний

- с плотных питательных сред (по Граму)
- с сывороточного бульона (по Граму)

## Пересев подозрительных колоний

- 5-10 % кровяной или сывороточный агар
- 8-10 % сывороточный бульон

## Вскрытие биопробных животных

- посев крови из сердца или перитонеальной жидкости на кровяной агар

# Третий этап исследования – идентификация

## проба с оптохином

- диско-диффузионный метод (зона не менее 14 мм)
- кровяной агар, содержащий 1:50000 оптохина, сывороточный бульон, содержащий 1:100000 оптохина
- **Пневмококк чувствителен к оптохину**

## тест с желчью

- диско-диффузионный метод
- сывороточный бульон с 10 % желчи
- **Пневмококк растворяется желчью**

## способность разлагать инулин

- посев на бычью сыворотку с инулином и лакмусовой настойкой
- **Пневмококк разлагает инулин, среда краснеет**

## серологические тесты

- реакция Нейфельда («набухания капсулы»)
- РА с диагностическими сыворотками

При отсутствии диагностических сывороток и оптохина пневмококки можно идентифицировать с помощью теста с желчью в сочетании с культуральными и морфологическими свойствами.

# Клебсиелла (палочка Фридлиндера)



Одна из распространенных этиологических форм госпитальных пневмоний, сепсиса и урологических заболеваний, поражает мозговые оболочки, суставы и позвоночник, глаза.

Открыты Клебсом в 1875 г.

Фидлендер выделил возбудитель в чистой культуре (1882 г.).



# Таксономия

Семейство *Enterobacteriaceae*

Род *Klebsiella*

Подвиды:

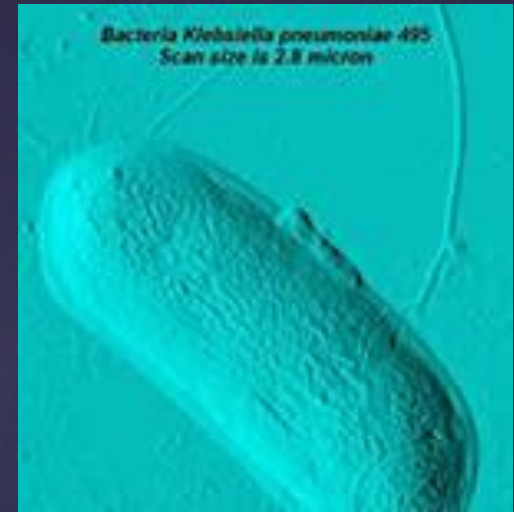
*K. pneumonia subsp. pneumonia*

-“-

*s. ozaenae*

-”-

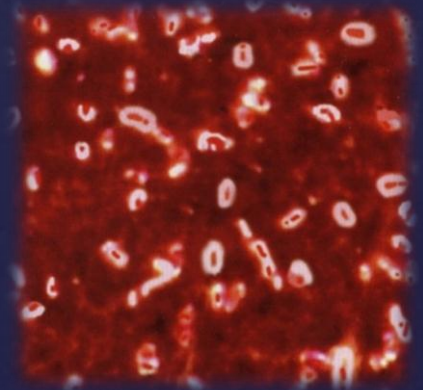
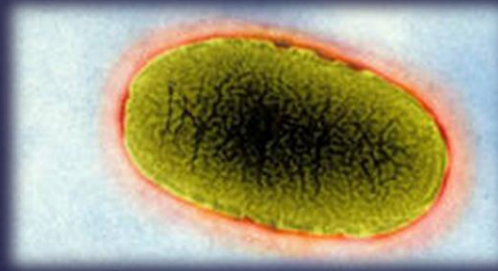
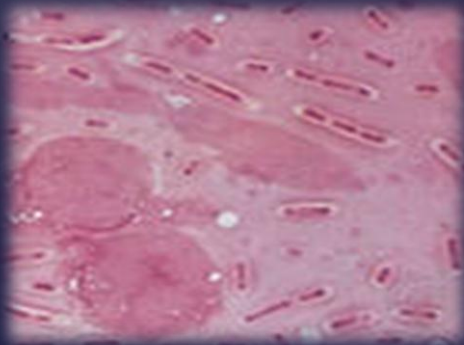
*s. rhinoscleromatis*



# Морфология

Прямые, грамотрицательные, неподвижные палочки (0,3-6,0 мкм), имеющие выраженную капсулу (присутствует у штаммов, непосредственно выделенных от человека и животных), в мазках располагаются одиночно, парами, короткими цепочками

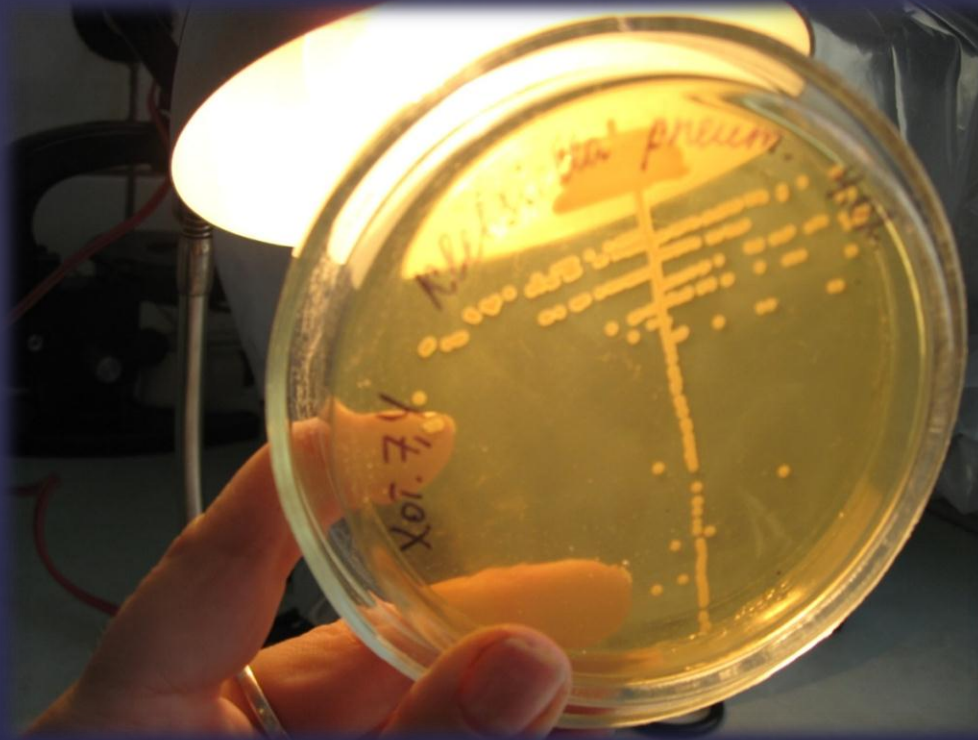
После пересевов на питательные среды, под действием низкой температуры, иммунной сыворотки и /или антибиотиков могут терять способность к капсулообразованию.



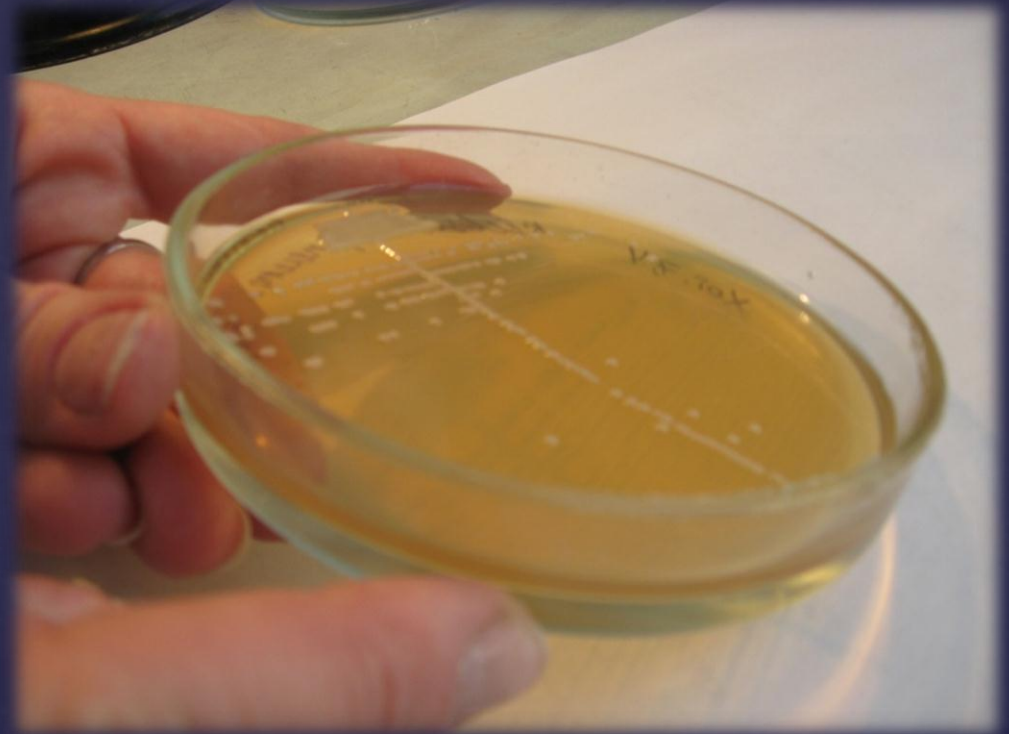
# Культуральные свойства

- ❖ рост при температуре 12-41 °С,
- ❖ оптимум – 35-37°,
- ❖ рН 7,2 – 7,4
- ❖ факультативные анаэробы
- ❖ на агаре формируют крупные куполообразные слизистые колонии белого цвета.
- ❖ на средах Эндо и Плоскирева обычно образуют красные колонии с металлическим блеском, что характерно для бактерий, ферментирующих лактозу
- ❖ в бульоне дают равномерное помутнение, иногда пленку на поверхности и пристеночное кольцо.

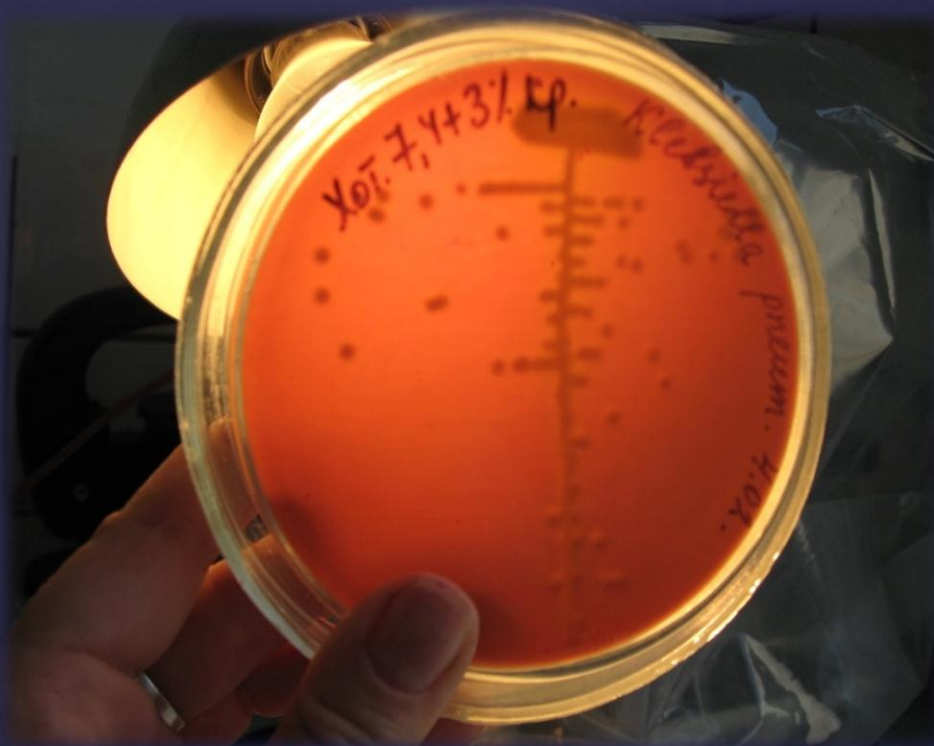
# Колонии клебсиеллы на агаре Хоттингера в проходящем свете



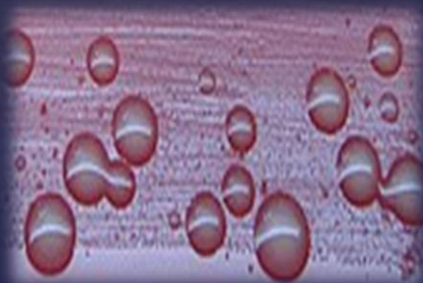
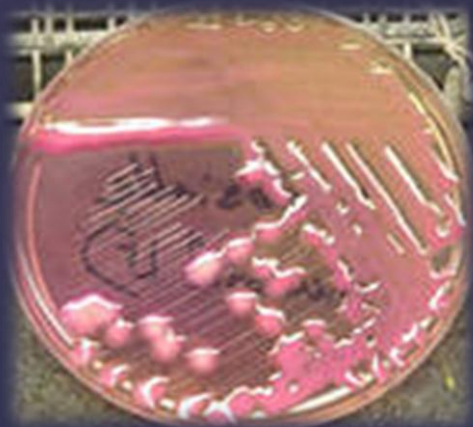
# Колонии клебсиеллы на агаре Хоттингера в падающем свете



# Рост на кровяном агаре



# Колонии клебсиеллы на среде Эндо



# Рост клебсиеллы в бульоне





# Биохимические свойства

- ❖ ферментируют сахара и спирты до кислоты и газа (есть исключения): глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу, маннит, салицин, глицерин;
- ❖ не разлагают желатин, не образуют индол и сероводород, а также орнитиндекарбоксилазу и аргининдегидролазу, индофенолоксидазу;
- ❖ имеют уреазу, каталазу.

Дифференциация между видами внутри рода и подвидами внутри вида *K. pneumoniae* осуществляется по биохимическим свойствам.

# Антигены

- ❖ соматические O- и R-антигены (11 сероваров)
- ❖ капсульные K-антигены (82 серовара) – используются для серологического типирования, поскольку все свежевыделенные штаммы обладают капсулой

# Факторы патогенности

- ❖ полисахаридная капсула;
- ❖ фимбрии и поверхностные белки обеспечивают адгезию;
- ❖ энтеротоксин;
- ❖ эндотоксин;
- ❖ сидерофорная система, снижающая содержание железа в тканях хозяина.

Предположительный источник клебсиелл — больной человек.

*K. pneumoniae* выделяют из ротоглотки и ЖКТ у 5 % здоровых лиц.

*K. pneumoniae* подвида *pneumoniae* является возбудителем неспецифических инфекций дыхательных путей (бронхитов, пневмоний).

# Лабораторная диагностика

## *Материал для исследований*

- ❖ кровь
- ❖ мокрота
- ❖ СМЖ
- ❖ гнойное отделяемое
- ❖ испражнения
- ❖ СМВЫ и др.

# Бактериологическое исследование

- ❖ посев образцов клинического материала на селективно-дифференциальную среду К-2 (с мочевиной, рафинозой и бромтимоловым синим) или лактозосодержащие дифференциальные питательные среды.
- ❖ изучение биохимических свойств на минимальном дифференцировочном ряду

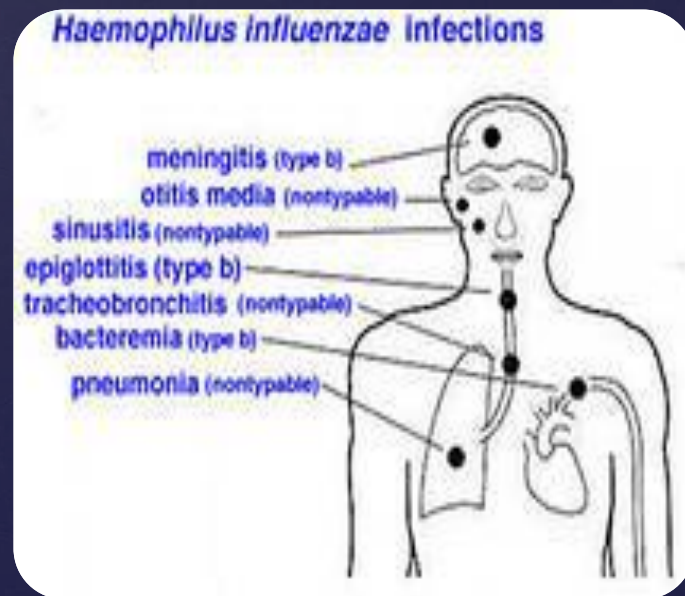
Показатель	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumonia</i>		
		<i>ozaenae</i>	<i>pneumonia</i>	<i>rhinoscleromatis</i>
Индолообразование	+	—	—	—
Реакция метил-рот	±	+	—	—
Реакция Фогес-Проскауэра	±	—	+	—
Утилизация цитрата	+	±	+	—
Утилизация малоната	+	±	+	—
Расщепление мочевины	+	±	+	—
Лизиндекарбоксилаза	+	±	+	—
Ферментация лактозы	+	±	+	—

# *H. influenzae* (гемофильная палочка, палочка Афанасьева- Пфейфера)



Открыта М. И. Афанасьевым в 1891 г., выделена из мокроты больного и описана Р. Пфейффером и С. Китазата в 1892 г.

Вызывает воспалительные процессы: пневмонии, бронхиты, гнойные плевриты, трахеиты, отиты, конъюнктивиты, менингиты у детей.

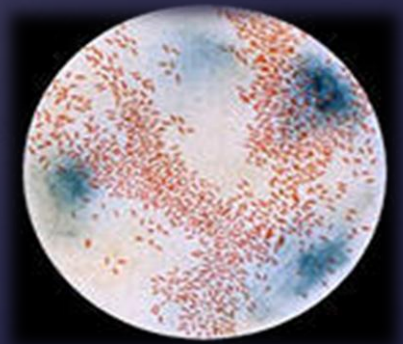




# Таксономия и морфология

- ❖ Семейство *Pasteurellaceae*
- ❖ Род *Haemophilus* насчитывает около 20 видов
- ❖ Вид *H. influenzae*

Клетки сферические, овальные или палочковидные до 1-1,5 мкм в длину. Формируют короткие цепочки или располагаются поодиночке. Грамнегативные, неподвижны, не образуют спор, до 10 % выделенных штаммов имеют капсулу.



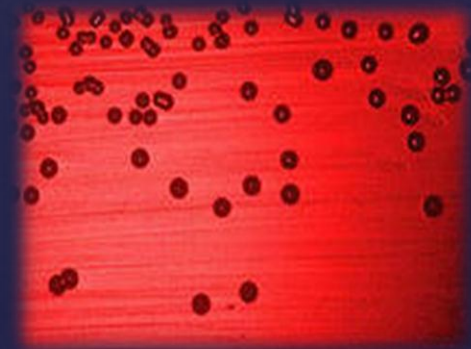
# Культуральные свойства

Факультативные анаэробы. При росте на средах нуждаются в факторах роста, присутствующих в крови – гемине и НАД (фактор V и X).

Наиболее физиологичными средами для гемофилов являются среды с гретой кровью («шоколадный» агар).

Образуют 3 вида колоний:

- крупные серовато-мутные слизистые (M);
- крупные полупрозрачные голубоватые (S);
- мелкие (менее 1 мм) непрозрачные (R).



- ❖ **Фактор X** присутствует в эритроцитах в виде термостабильной группы тетрапирролов, входящих в состав гематина и гемина.
- ❖ **Фактор V** - термолабильный кофермент (включает НАД или НАДФ), продуцируемый многими бактериями, а также присутствующий в эукариотических клетках, в эритроцитах, являясь составной частью витаминов группы В, принимает участие в окислительно-восстановительных процессах при росте клеток.

На шоколадном агаре капсулосодержащие штаммы *H. influenzae* формируют слизистые M-колонии (сочные, сероватые, с радужными переливами) либо полупрозрачные блестящие S-колонии диаметром 3-4 мм.



Некапсулированные штаммы на плотных питательных средах формируют более мелкие зернистые R-колонии, с неровным краем, серовато-белого цвета.

При росте на плотных питательных средах регистрируется специфический «мышинный» запах, который служит распознаванию гемофильных бактерий.

В бульоне *H. influenzae* дает диффузный рост, иногда белесые хлопья и осадок на дне.

# Биохимические свойства

Сахаролитические свойства выражены слабо и непостоянны. Ферментируют глюкозу, рибозу, галактозу до кислоты, некоторые штаммы имеют каталазу, оксидазу, уреазу.

По способности разлагать мочевину, образовывать индол и декарбоксилировать орнитин выделяют шесть биоваров (I-VI).

В диагностике рекомендуется использовать СИБ или тест-системы.



# Антигены

- ❖ соматический O-антиген
- ❖ капсульный K-антиген. По структуре K-антигена все известные штаммы разделяют на шесть сероваров (a-f).

Серодиагностика основана на определении K-антигена в реакциях агглютинации, ко-агглютинации, латекс-агглютинации на стекле.

# Факторы патогенности:

- ❖ капсула и пили подавляют фагоцитоз и облегчают адгезию микробных клеток к эпителию верхних дыхательных путей.
- ❖ эндотоксин, выделяемый при гибели клеток.
- ❖ ферменты каталаза, уреазы и др.
- ❖ некоторые штаммы *H. influenzae* образуют бета-лактамазы проявляя устойчивость к данным антибиотикам



*H. influenzae* патогенна только для человека. В большинстве случаев возбудитель локализуется в носоглотке.

Среди здоровых лиц носительство может достигать 90 %; у 3-5 % отмечают носительство капсулированных штаммов, преимущественно типа b.

Основные пути передачи *H. influenzae* – воздушно-капельный и контактный.

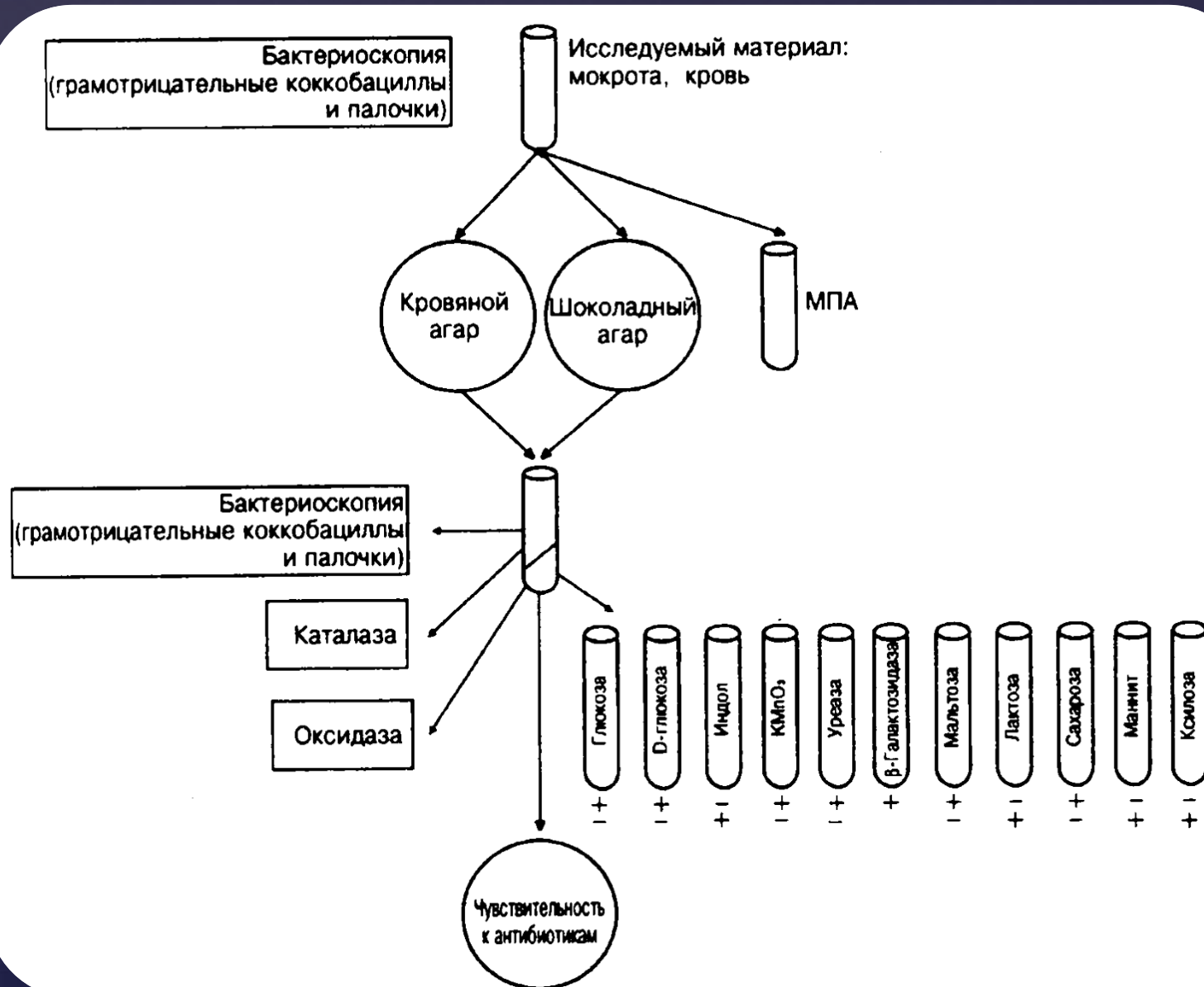
# Лабораторная диагностика

Основной метод диагностики –  
бактериологический

Материал для исследования

- ❖ слизь из зева,
- ❖ СМЖ,
- ❖ гнойное отделяемое,
- ❖ мокрота и др.

# Схема лабораторной диагностики



# Этапы лабораторной диагностики

День анализа	Процедура	Результат
1 день	<ul style="list-style-type: none"> <li>- микроскопия мазков из исследуемого материала в окраске по Грамму</li> <li>- посев материала на кровяной или шоколадный агар, инкубация при температуре 37 °С в атмосфере с 5-10% CO<sub>2</sub></li> </ul>	<p>Мелкие палочки равномерно окрашенных в бледно-красный цвет</p>
2 день	<ul style="list-style-type: none"> <li>- учет посевов на агаре с нативной кровью (5%-10%)</li> <li>- учет посевов на шоколадном агаре</li> <li>- изучение биохимической активности колоний с шоколадного агара на наличие ферментов каталазы, оксидазы, уреазы, бета-галактозидазы, образование индола, редукции нитратов</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- мелкие полупрозрачные колонии, не имеющих характерных особенностей</li> <li>- полупрозрачные, сероватые, нежные, сочные колонии (1-2 мм), «мышиный запах»; в зависимости от состояний популяции могут формировать три вида колоний: М-форма; S-форма; R-форма</li> <li>- предварительный ответ в пользу <i>H. influenzae</i></li> </ul>
3 день	<ul style="list-style-type: none"> <li>- оценка результатов биохимической активности</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- каталаза (+), уреазы (+), оксидаза (-), бета-галактозидаза (-), образование индола (у капсульных штаммов), редукция нитратов (+)</li> </ul>

# Анализ потребности *H. influenzae* в факторах X и V

## ❖ Прямой метод

Выполняют газонный посев культуры на плотную питательную среду. Полоски бумаги, пропитанные факторами X и V, накладывают на поверхность агара. Рост бактерий вокруг полосок, а не на других участках среды, подтверждает предположение об их принадлежности к виду *H. influenzae*.

## ❖ Метод сателлитных колоний

На кровяной агар засевают исследуемую культуру, а через центр чашки (по диаметру – штрихом) засевают золотистый стафилококк. Последний синтезирует фактор V, а также высвобождает фактор X, разрушая эритроциты. Около зоны роста стафилококка *H. influenzae* образует более крупные колонии.

