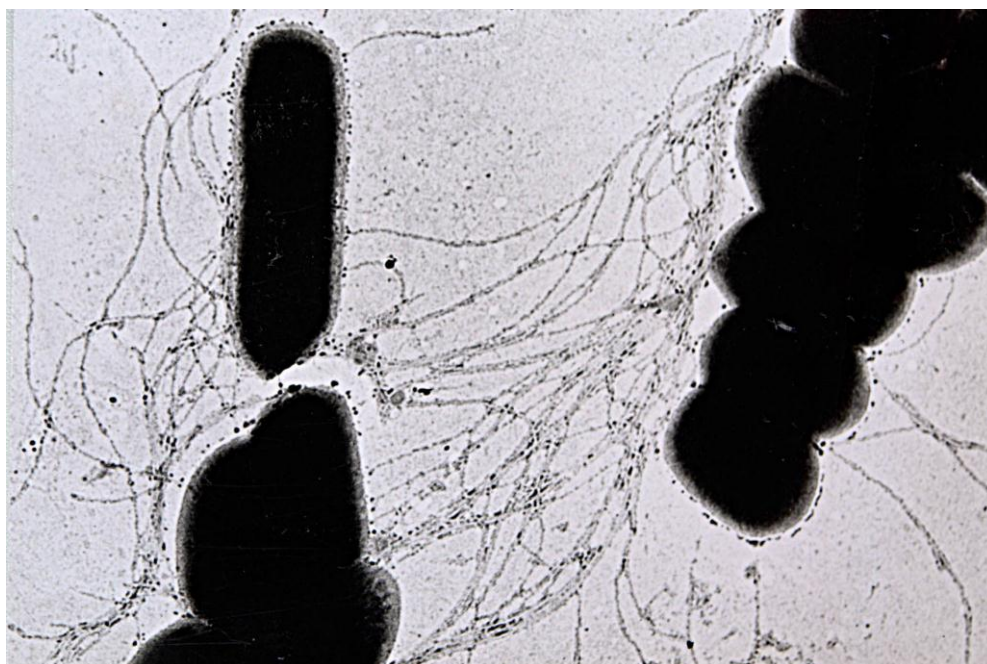


**ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«БАШКИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ

Учебное пособие для студентов



**Уфа
2014**

УДК 579.84/(.075.8)
ББК 52.64я7
У 75

Рецензенты:

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии
ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» МЗ РФ,
д.м.н. *И. Н. Чайникова*

Профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии
ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет»
МЗ РФ, д.м.н. *Л. Ф. Телешева*

Условно-патогенные грамотрицательные и грамположитель-
М 54 ные бактерии: уч. пос. для студентов /Сост.: З. Г. Габидуллин,
Т. А.Савченко, Ю. З. Габидуллин, М. М. Туйгунов, А. К. Булгаков,
Г. К. Давлетшина, Р. С. Суфияров, И. Н. Усманова, Р. Ф. Хуснаризова.
– Уфа: Изд-во ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2014.- 82с.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с типовой программой по дисциплине «Микробиология, вирусология» (М.2010г.) на основании рабочей программы (2012г.) действующего учебного плана (2013г) и в соответствии с требованиями ФГОС ВПО по специальности Лечебное дело, педиатрия, медико-профилактическое дело, стоматология, фармация для изучения дисциплины «Микробиология, вирусология»

В пособии излагаются современные представления по изучению свойств условно-патогенных грамотрицательных и грамположительных бактерий при оппортунистических инфекциях, представлены тесты и ситуационные задачи и словарь медицинских терминов.

Учебное пособие предназначено для студентов всех факультетов медицинских вузов для самостоятельной внеаудиторной работы и формирования общекультурных профессиональных компетенций.

Рекомендовано в печать по решению Координационного научно-методического совета и утверждено решением Редакционно-издательского совета ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России.

УДК 579.84/(.075.8)
ББК 52.64я7

© ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	4
Этиология оппортунистических инфекций (условно-патогенные грамотрицательные и грамположительные бактерии)	5
Факторы патогенности энтеробактерий	7
Диагностические подходы	11
Идентификация условно-патогенных грамотрицательных бактерий.	13
Характеристика отдельных родов у словно-патогенных энтеробактерий	20
Факторы патогенности стафилококков в микробных ассоциациях.	41
Роль условно-патогенных энтеробактерий в микробных ассоциациях.	42
Используемые профилактические и лечебные препараты.	52
Заключение	56
Приложения	57
Приложение 1	57
Приложение 2	61
Приложение 3	69
Приложение 4	77
Список рекомендуемой литературы	78
Список использованной литературы	78

ВВЕДЕНИЕ

В учебном пособии изложены современные сведения о морфологии, ультраструктуре и о биологических свойствах некоторых условно-патогенных энтеробактерий и стафилококка: адгезины, гемолезины, лейцитиназы, ДНК-азы, антилизозимы, антиинтерфероны, антикомплементы, LT-энтеротоксины, вирулентность, антибиотикорезистентность.

Представлены данные об изменении выше перечисленных свойств при инфекциях, вызванных ассоциацией условно-патогенных грамотрицательных энтеробактерий и стафилококка, описаны подходы к их профилактике и лечение.

Представленные материалы позволяют сформировать общекультурные и профессиональные компетенции.

Студент должен знать морфологию, ультраструктуры условно-патогенных энтеробактерий и стафилококка, а также изменение их биологических свойств при ассоциированных инфекциях.

Уметь идентифицировать бактерии по морфологическим, биологическим свойствам и ультраструктуре.

Уметь оценить механизм защиты бактерий от факторов иммунной системы макроорганизма, определять токсигенность, вирулентность, антибиотикоустойчивость бактерий. Использовать современные методы диагностики бактериальных инфекций.

Изложены ситуационные задачи, способствующие более углубленному освоению предмета.

Учебное пособие предназначено для студентов медицинских и фармацевтических вузов.

Рекомендовано учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для системы вузовского образования.

ЭТИОЛОГИЯ ОППОРТУНИСТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ (УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ И ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ)

Спектр оппортунистических инфекций чрезвычайно широк и включает бактерии, вирусы, грибы, простейшие. На современном этапе основные возбудители бактериальных оппортунистических инфекций - это условно-патогенные энтеробактерии и стафилококки, а также их ассоциации.

Данные литературы показывают, что в очагах хирургических инфекций наиболее часто встречаются именно ассоциации стафилококков и энтеробактерий. При этом стафилококки инициируют инфекционный процесс, определяют условия для возможного развития в очаге грамотрицательных микроорганизмов, имеющих высокий персистентный потенциал.

Род *Staphylococcus* относится к семейству *Micrococcaceae*. Это грамположительные кокки 0,5-1,5 мкм в диаметре, располагаются в виде виноградных гроздей («staphyle»- гроздь, «coccus»- зернышко или ягода). Неподвижные, не образуют спор и капсул. Факультативные анаэробы по типу дыхания, хемоорганотрофы по типу питания. Восстанавливают нитраты до нитритов, устойчивые к лизоциму.

Вид стафилококка идентифицируют на основании фенотипических характеристик, а для внутривидовой дифференциации *St. aureus* с эпидемиологической целью используют фаготипирование.

Коагулазоположительный вид *St. aureus* хорошо известен в качестве оппортунистического патогена человека при гнойно-воспалительных, кишечных и урологических инфекциях.

Условно-патогенные энтеробактерии входят в состав семейства *Enterobacteriaceae* (кишечные бактерии) отдела *Gracilicutes*. Данное семейство включает около 30 родов, в которые объединены более 100 видов бактерий.

Согласно «Определителю бактерий Берджи» (1997) данное семейство

объединяет обширную группу грамотрицательных палочек 0,3-1,8 мкм длиной. Они бывают подвижными за счет перитрихиальных жгутиков, за исключением *Tatumella*, или неподвижными. Энтеробактерии спор не образуют, не кислотоустойчивы.

Культуральные признаки. Аэробы или факультативные анаэробы. Хемоорганотрофы. Большинство видов хорошо растут при 37°C, однако некоторые виды лучше растут при 25-30°C и при этой температуре метаболически более активны. Растут на обычных питательных средах, но некоторые нуждаются в ростовых добавках. Питание осуществляется за счет органических соединений.

Физиологические свойства энтеробактерий наиболее точно определяет термин «ферментирующие», поскольку они образуют кислоту при ферментации глюкозы. Эти бактерии являются каталазаположительными и оксидазаотрицательными.

Типовой род *Escherichia*.

В семейство энтеробактерий, по последним данным, входят следующие роды:

- | | |
|---|--|
| - <i>Arsenophonus</i> (описан в 1991г.) | - <i>Leminorella</i> (описан в 1985г.) |
| - <i>Budvicia</i> (описан в 1983г.) | - <i>Moellerella</i> (описан в 1984г.) |
| - <i>Buttiauxella</i> (описан в 1981г.) | - <i>Morganella</i> |
| - <i>Cedecea</i> | - <i>Pragia</i> (описан в 1988г.) |
| - <i>Citrobacter</i> | - <i>Proteus</i> |
| - <i>Edwardsiella</i> | - <i>Providencia</i> |
| - <i>Enterobacter</i> | - <i>Rahnella</i> |
| - <i>Erwinia</i> | - <i>Salmonella</i> |
| - <i>Escherichia</i> (описан в 1885г.) | - <i>Serratia</i> |
| - <i>Ewingella</i> | - <i>Shigella</i> |
| - <i>Hafnia</i> | - <i>Tatumella</i> |
| - <i>Klebsiella</i> | - <i>Xenorhabdus</i> |
| - <i>Kluysera</i> | - <i>Yersinia</i> |
| - <i>Leclercia</i> (описан в 1986г.) | - <i>Vokenella</i> |

Как видно, таксономия и номенклатура семейства Enterobacteriaceae изменяются и дополняются новыми родами.

Часть данных родов относится к условно-патогенным микроорганизмам, которые в норме лишены болезнетворных свойств и не вызывают инфекционных заболеваний. Эти роды энтеробактерий колонизируют слизистые оболочки, но способны и к длительному существованию в объектах внешней среды. Подразделение микроорганизмов на непатогенные и условно-патогенные роды условно.

Непатогенные роды при нарушении целостности анатомических барьеров и снижении сопротивляемости макроорганизма становятся оппортунистическими патогенами, т.е. возбудителями инфекционных процессов, которые *не имеют специфичности*, возникают при *массивности инфицирования*. Все условно-патогенные энтеробактерии обладают относительно высокой устойчивостью. На различных объектах внешней среды сохраняются от 10 дней до 6 месяцев, устойчивы к высоким концентрациям поваренной соли и к высушиванию, не погибают при минусовых температурах, жизнеспособны в сырой колодезной и водопроводной воде. Быстро погибают эти бактерии при температуре 68° С и выше.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Патогенное действие на организм человека условно-патогенные энтеробактерии оказывают при проникновении во внутреннюю среду в больших количествах, а также при резком снижении общего и местного иммунитета.

Представители данного семейства весьма разнообразны по особенностям экологии и патогенности для человека. Например, непатогенные виды *Escherichia coli* в норме обитают в толстом кишечнике и являются представителями нормальной микрофлоры. Но при изменении ан-

тигенной структуры (ОКН – антигены) этот микроб способен стать условно-патогенным и инвазивным.

Многие виды, обычно не связанные с желудочно-кишечными заболеваниями, служат возбудителями оппортунистических инфекций. Так, протеи в большом проценте случаев встречаются при смешанных гнойно-септических процессах, *Citrobacter* является этиологическим фактором тяжелых гнойно-воспалительных, урологических и кишечных инфекций. В последние годы установлено, что бактериальные инфекции, вызванные энтеробактериями родов *Enterobacter*, *Citrobacter* и *Proteus*, являются причиной гибели больных лейкозами. Интересным представляется тот факт, когда условно-патогенные энтеробактерии вступают в симбиотические связи и формируют ассоциацию микробов при микст-инфекциях. Имеются научные данные о сравнительной характеристике монокультур и ассоциаций *Enterobacter*, *Citrobacter* и *Serratia* по морфологическим особенностям и факторам вирулентности.

Факторы вирулентности условно-патогенных *Enterobacteriaceae* генетически детерминированы и могут использоваться для генетического мониторинга патогенного потенциала условно-патогенных энтеробактерий.

Как известно, к основным факторам патогенности (вирулентности) относят способность микроорганизмов к адгезии и колонизации, устойчивость к бактерицидным факторам организма, свойства инвазивности и токсигенности.

К факторам вирулентности условно-патогенных энтеробактерий относятся:

1. *Адгезия микроорганизмов*, которая служит началом инфекционного процесса и заключается во взаимодействии инфекционного агента с эпителиальными клетками. Молекулы адгезии расположены на поверхности бактериальной клетки и входят в состав фимбрий. Для изучения адгезивной активности ставят реакцию гемагглютинации с эритроцита-

ми человека, животных и птиц. На рис. 1 и 2 представлены клетки высокоадгезивных штаммов с пиями и клетки неадгезивных штаммов, у которых пили отсутствуют.



Рис.1. Электронная микроскопия (JEM-100В ув. 20000х)

а) клетки высокоадгезивных штаммов по периметру имеют пили.



Рис.2. Клетки неадгезивных штаммов не имеют пили (JEM-100В ув. 26000х).

2. Факторы инвазивности-нейраминидаза и гиалуронидаза.

Инвазивность бактерий – это возможность проникать через слизистые оболочки и соединительнотканые барьеры благодаря образованию экзоферментов.

Механизм действия нейраминидазы заключается в проникновении внутрь клеток и распространении в межклеточные пространства за счет преодоления слоя слизи. Если энтеробактерии синтезируют гиалуронидазу, то она расщепляет гиалуроновую кислоту, находящуюся в составе межклеточного вещества, и повышает проницаемость различных тканей.

3. *Выработка гемолизина*, особых белков определенной молекулярной массы, вызывающих лизис эритроцитов. Механизм лизиса до конца не расшифрован, однако известно, что гемолизин действует по принципу «единичного удара»

Гемолитическая активность условно-патогенных энтеробактерий в большей степени связана с продукцией тиолзависимых гемолизина, α -гемолизина, энтерогемолизина и проявляется в виде деструкции клеточного монослоя, развития геморрагической пневмонии у мышей, цитотоксического действия на эукариотические клетки.

4. *Продукция термолабильных и термостабильных энтеротоксинов.* Выяснено, что:

- термостабильный (ST) энтеротоксин низкомолекулярный, не обладает антигенными свойствами;
- термолабильный (LT) энтеротоксин представляет собой белок, имеет высокую молекулярную массу 100 000 и более, чувствителен к действию трипсина и пепсина.

LT - энтеротоксин цитробактера состоит из 2-х различных белков: ферментативного и рецепторсвязывающего, которые участвуют в процессах межклеточной регуляции. У бактерий рода *Citrobacter* определены генетические детерминанты, контролирующие адгезивность и термолабильную энтеротоксигенность.

5. *Факторы, обеспечивающие длительное выживание бактерий в организме (персистенцию).* Взгляд на патогенность бактерий в настоящее время переосмыслен, и согласно новым воззрениям патогенность рассматривается как динамическое состояние условного и безусловного патогена, следствием которого является персистенция как новый вариант существования. Разнообразные роды условно-патогенных энтеробактерий в ряде случаев хорошо выдерживают воздействие защитных сил и колонизируют нестерильные полости. Иногда развивающиеся иммунные реакции оказываются бессильными удалить возбудитель из организма.

6. *Антилизосимная, антиинтерфероновая и антикомплиментарная активность энтеробактерий.*

Условно-патогенные энтеробактерии, входящие в состав нормальной и патогенной флоры человека, способны инактивировать факторы видового иммунитета: лизоцим, интерферон и комплемент в ассоциативных культурах энтеробактерий. Эта активность значительно выше, чем у монокультур родов *Enterobacter*, *Citrobacter* и *Serratia*.

Именно поэтому инфекционные процессы, вызванные несколькими микробами, т.е. ассоциированные, или микст – инфекции протекают гораздо тяжелее, чем моноинфекции. Ассоциированные инфекции часто встречаются у больных, страдающих гнойно-воспалительными, урологическими и кишечными заболеваниями.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ

Ведущим методом лабораторной диагностики инфекций, вызванных энтеробактериями, является бактериологический, который проводится поэтапно;

- пробы отбираются в достаточном объеме, исключая возможности дополнительной контаминации; выбор оптимальных сред для первичного посева и накопления возбудителя;

- идентификация по:
 - 1) морфологическим признакам;
 - 2) антигенной структуре;
 - 3) биохимическим признакам («минимальный дифференцирующий ряд»);
 - 4) прочим тестам для идентификации отдельных родов условно-патогенных энтеробактерий.

Исследуемым материалом при заборе клинического материала на условно-патогенные энтеробактерии служили пробы, взятые от:

- больных кишечными инфекциями;
- урологических больных;
- больных гнойно-воспалительными инфекциями;
- гинекологических больных;
- онкологических больных;
- практически здоровых людей и из объектов окружающей среды.

Для посева данных проб материала наиболее целесообразно применение селективных питательных сред. Например, для накопления клебсиелл и энтеробактеров используется глюкозный бульон, для накопления протеев – среда П-1, клебсиелл – К-1, иерсиний и эдвардсиелл – среда Эт-1. По способности сбрасывать лактозу энтеробактерии разделяют на ферментирующие и неферментирующие. Для определения отношения к лактозе наиболее часто используют дифференциально-селективные среды Плоскирева и МАК-Конки. Универсальной дифференциально-селективной средой для энтеробактерий является агар Клин-гера.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

Первичная идентификация с использованием комбинированных сред позволяет определить лишь 4-5 признаков, на основании которых однозначное решение об отнесении культуры к определенному роду невозможно. Поэтому результаты первичной идентификации являются ориентировочными. Спектр биохимических признаков считается достаточно надежным признаком и представлен минимальным дифференцирующим рядом:

- оксидазный тест;
- ферментация углеводов;
- восстановление нитратов;
- реакция Фогеса-Проскауэра;
- образование сероводорода, тест на подвижность.

Поскольку каждый род условно-патогенных бактерий обладает рядом дифференцирующих признаков, присущих только ему, разберем идентификацию условно-патогенных энтеробактерий на конкретных примерах (см. ниже).

Антибиотикоустойчивость условно-патогенных энтеробактерий связана с:

- увеличением числа циркулирующих резистентных штаммов;
- формированием плазмид множественной лекарственной устойчивости.

Для изучения антибиотикоустойчивости условно- патогенных энтеробактерий используются традиционные методы: качественный (бумажных дисков) и количественный (серийных разведений).

Имеется принципиально новый метод выявления антибиотикорезистентности с использованием полимеразной цепной реакции.

Изучение адгезивной активности условно-патогенных энтеробактерий проводили с помощью реакции гемагглютинации на предметном стекле с эритроцитами человека, животных и птиц. С помощью метода электронной микроскопии обнаружено, что клетки штаммов с высокой адгезивной активностью в большом количестве плотно прилегают к эритроцитам птиц и имеют по периметру реснички длиной 110-420 нм и шириной 5 нм. Таким образом, условно-патогенные энтеробактерии имеют особые фимбрии, которые специфически взаимодействуют с рецепторами клеток-мишеней (эритроцитов).

На рис. 3 представлены клетки протей, имеющие реснички, под электронным микроскопом.

На рис. 4 и 5 представлены клетки высокоадгезивных штаммов и бактериальные клетки, не дающие феномена гемагглютинации.



Рис. 3. Клетки протей под электронным микроскопом (JEM-100 В ув. 30000х) с ресничками длиной от 125 до 583 нм и шириной 8,3 нм.

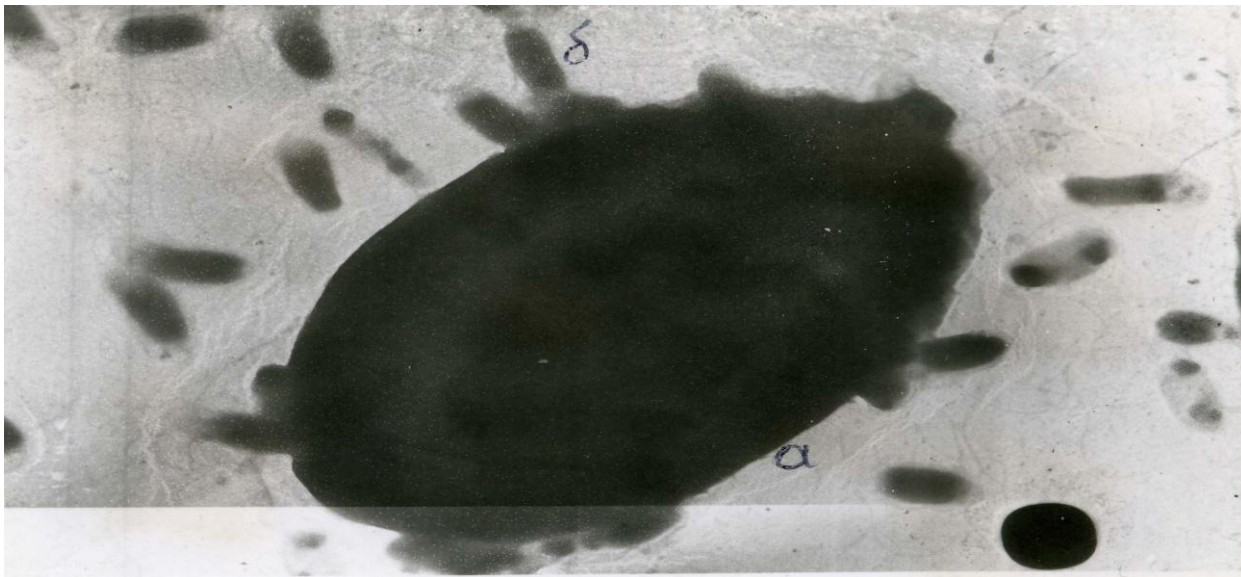


Рис. 4. Электронная микроскопия (JEM-100 В ув. 3000х). Клетки высокоадгезивных штаммов (б) в большом количестве (более 10) плотно прилегают к эритроцитам (а).

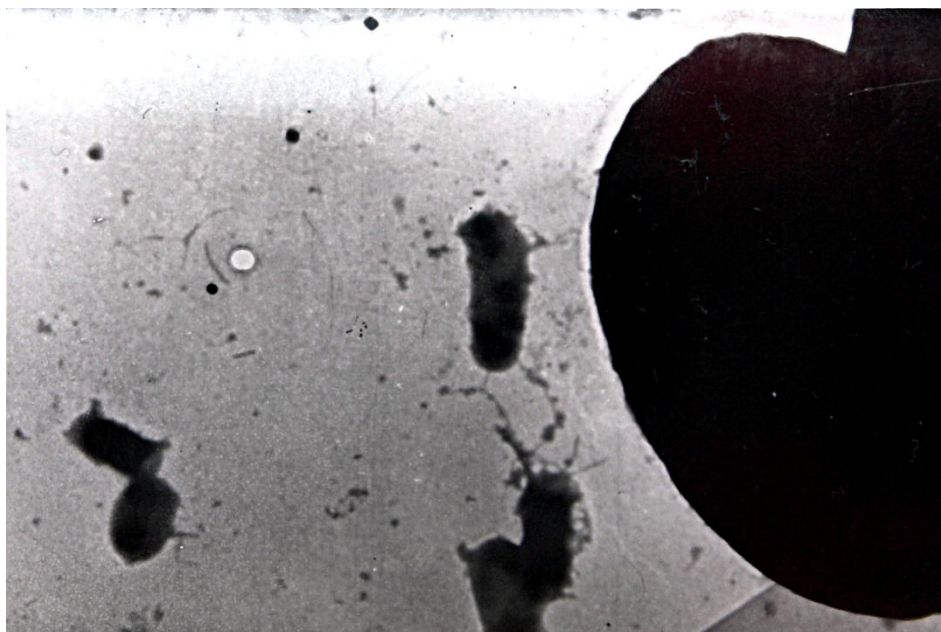


Рис. 5. Электронная микроскопия (JEM-100В ув. 3000х). Количество бактериальных клеток, не дающих феномена гемагглютинации вокруг эритроцитов птиц, составляет не более 2-3.

Изучение гемолитической активности и энтеротоксигенности.

Гемолитическая активность бактерий традиционно изучается на чашках Петри с кровяным агаром, содержащим 5% дефибринированной крови барана. Поскольку роящийся рост протей ограничивает возможность выявления на кровяном агаре α - гемолитической активности, разработан быстрый и доступный метод определения гемолитической активности протей, который предложен как экспресс-метод для бактериологических лабораторий. Методика заключается в следующем: 5-7 капель 10 млрд. суспензий суточной агаровой культуры смешивали на предметном стекле с каплей 3% суспензии крови человека или кролика. Учет результатов производится по наличию гемолиза (таблица 1).

Таблица 1

Степень гемолитической активности

Степень гемолитической активности	Количество суспензии культуры (в млрд. микр. тел)
Высокая	4-5
Средняя	7-7,5
Слабая	10
Отсутствует	> 10

Помимо этого, можно использовать биологический метод исследования на кроликах, так как при действии условно-патогенных энтеробактерий возникают воспаление кишечника и диарейный синдром. Заражение проводят по следующей методике:

Первый этап - у предварительно голодавших кроликов вскрывают брюшную полость и на тонкую кишку накладывают шелковые лигатуры. В образовавшиеся сегменты вводят по 1 мл центрифугата исследуемых культур. Затем брюшную полость послойно зашивают.

Второй этап - на следующий день кроликов умерщвляют путем воздушной эмболии, затем вскрывают брюшную полость.

Для дифференцирования энтеротоксинов (термостабильной-ST и термолабильной - LT) изучают характер экссудата при нагревании до

56°C. Среди штаммов бактерий рода *Citrobacter* были штаммы, продуцирующие как термостабильные, так и термолабильные энтеротоксины.

Изучение персистирующих свойств условно-патогенных энтеробактерий.

Как уже указывалось ранее, персистирующие свойства энтеробактерий основаны на инаktivации факторов видового иммунитета: лизоцима, комплемента и интерферона. Так, бактерии различных родов семейства *Enterobacteriaceae* выделяют антилизозимный фактор, который инаktivирует тканевой лизоцим. Штаммы, обладающие антилизозимной активностью, чаще выделяют от больных, страдающих хроническими гнойно-воспалительными процессами. Антилизозимная активность является хромосомным признаком.

Изучение антилизозимной активности (АЛА) состоит из нескольких этапов.

I этап - 1,5% агар с различными концентрациями яичного лизоцима разливали в чашки Петри. После застывания среды наносили исследуемые суточные культуры. Чашки инкубировали в термостате сутки при 37°C.

II этап - культуры убивали парами хлороформа в течение 10 минут. Затем настилали 0,7% питательный агар с 0,1 мл 1 млрд. взвеси суточной агаровой культуры *Micrococcus lysodeicticus*. Инкубировали в термостате сутки при 37°C.

III этап - учет результатов.

Тест считается положительным, если культуры *Micrococcus lysodeicticus* вырастают вокруг колоний штаммов, которые нейтрализовали внесенный в слой агара яичный лизоцим. Антилизозимная активность инаktivированного в среде лизоцима выражается в мкг.

Антиинтерфероновая активность обеспечивает персистирование микробной клетки и характеризует способность бактериальной клетки инаktivировать интерферон.

Определение антиинтерфероновой активности состоит из нескольких этапов.

I этап. Исследуемые культуры выращивают в среде, содержащие препарат человеческого лейкоцитарного интерферона в различных разведениях. Инкубация производится в термостате 24 часа при 37°C.

II этап. Выросшие культуры убивают хлороформом в течение 10 минут.

На посев наслаивают 0,7% агар, содержащий взвесь тест-культур *Corynebacterium xerosis*. Инкубация - в термостате 24 часа при 37°C.

III этап. Антиинтерфероновая активность определяется по наличию роста тест-культур вокруг колоний исследуемых культур.

Определение антикомплиментарной активности состоит из нескольких этапов.

I этап. Изучаемые культуры выращивали на слое 1,5% питательного агара. Инкубация в термостате -24 часа при 37°C.

II этап. Инактивация парами хлороформа 30 минут. Затем на культуры наслаивают второй слой 0,7% агара, содержащий комплемент в различных концентрациях. Инкубация в термостате -1 час при 37°C.

III этап. В результате происходит инактивация комплемента вокруг колоний, обладающих указанным признаком. В дальнейшем наслаивали третий слой 0,7% питательного агара, содержащего взвесь индикаторной культуры *E. coli*. Инкубация в термостате -18 часов при 37°C.

IV этап. Регистрация результатов по росту индикаторного штамма вокруг исследуемых штаммов, где произошла инактивация комплемента.

Молекулярно-биологические методы являются наиболее информативными. Использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) позволяет обнаружить единственную молекулу ДНК в присутствии других молекул. ПЦР позволяет использовать клинический материал, взятый от больного, а также проводить диагностику персистирующих микроорганизмов.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) имитирует естественную репликацию ДНК и позволяет обнаружить единственную молекулу ДНК в

присутствии других молекул. Суть метода заключается в размножении в пробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов. На каждом цикле вновь синтезированные молекулы копируются ДНК-полимеразой. Благодаря этому происходит многократное удвоение специфических фрагментов ДНК. Термостабильная ДНК – полимераз, полученная из термофильных бактерий, служит катализатором ПЦР.

В ПЦР участвуют праймеры – две искусственно синтезированные молекулы ДНК, которые комплементарны последовательностям ДНК на левой и правой границах специфического фрагмента. Синтез протекает только между праймерами, и количество копий фрагмента удваивается.

Этапы цикла амплификации:

1. Денатурация ДНК при $t=95^{\circ}\text{C}$ 1 мин.
2. Отжиг (присоединение) праймеров при $t=50-65^{\circ}\text{C}$ 1-2 мин.
3. Синтез фрагмента ДНК при $t=72^{\circ}\text{C}$ 1-3 мин.

Продукты синтеза первого цикла амплификации служат матрицей для второго цикла, а продукты синтеза второго цикла – матрицей для третьего цикла амплификации. Цикл амплификации проводится в термоциклере или амплификаторе. За 30 циклов амплификации образуется 10 копий специфического фрагмента.

Достоинства ПЦР:

- высокая чувствительность и специфичность;
- быстрота;
- возможность диагностики внутриклеточных паразитов и персистирующих микроорганизмов;
- использование клинического материала, взятого от больного.

Для выявления структурных элементов хромосомной природы у условно-патогенных энтеробактерий на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии определяют профиль плазмидной ДНК и выявляют конъюгативные плазмиды.

ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ РОДОВ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ

Род *Escherichia*.

Кишечная палочка является родоначальником семейства кишечных бактерий. Впервые выделена из содержимого кишечника детей немецким педиатром Эшерихом. Это прямые палочковидные бактерии, перитрихи, в мазках располагаются одиночно, многие штаммы образуют микрокапсулу. Эшерихии ферментируют наиболее часто лактозу с образованием кислоты и газа, оксидаза-отрицательны и каталаза - положительны.

Эшерихии – это основная аэробная микрофлора толстого кишечника человека. В санитарной эпидемиологии кишечная палочка является санитарно – показательным микроорганизмом при анализе воды и пищевых продуктов. Поскольку патогенные и непатогенные эшерихии не различаются по морфологическим и тинкториальным признакам, их дифференциация проводится по антигенной структуре ОКН.

В таблице 2 представлены Серовары *Escherichia coli*, наиболее часто вызывающие поражения у человека

Таблица 2

Серовары *Escherichia coli*, наиболее часто вызывающие поражения у человека

Поражения	Серогруппа
	O-Аг
Кишечные	
Энтеротоксигенные	O11, O15, O78, O115
Энтеропатогенные	O26, O55, O111ab, O127
Энтероинвазивные	O124, O135
Энтерогеморрагические	O26, O111
Инфекции мочевыводящих путей	O9, O18, O22
Бактериемии	O1, O11, O18,
Менингиты	O1, O7, O16, O18

Цель бактериологического исследования при эшерихиозах, вызываемых условно-патогенными штаммами, это определение антигенных свойств бактерий. Изучение биохимических признаков проводится дополнительно для установления родовой принадлежности с помощью стандартных наборов или минимального дифференцирующего ряда.

I этап. Посев материала методом Дригальского на дифференциально-диагностические среды Эндо или Левина. Чашку инкубируют в термостате 24 часа при 37°C.

II этап. Выделение чистой культуры. Макро-и микроскопическое изучение колоний: на среде Эндо малиново-красных с металлическим блеском, на среде Левина темно-синих, для дифференциации патогенных кишечных палочек от непатогенных. Постановка реакции агглютинации на предметном стекле со смесью сывороток ОКА, ОКВ, ОКС, ОКД, ОКЕ. Из агглютинабельной колонии пересев на скошенный агар для выделения чистой культуры.

III этап. Идентификация выделенной культуры:

- а) по морфологическим признакам;
- б) по биохимическим признакам (среды Гисса с углеводами)

лактоза →	$\frac{\text{кислота}}{\text{газ}}$
сахароза →	
глюкоза →	$\frac{\text{кислота}}{\text{газ}}$
манит →	$\frac{\text{кислота}}{\text{газ}}$
мальтоза →	$\frac{\text{кислота}}{\text{газ}}$

- в) по антигенной структуре.

Постановка реакции агглютинация на стекле с чистой культурой *E. coli* и иммунными ОВ-сыворотками (О55, О111, О124 и др.) для ориентировочного определения серогруппы.

Постановка развернутой реакции агглютинации в пробирках с гретой культурой, содержащей только О-антиген.

Учет реакции через 24 часа после инкубации в термостате. Схема протокола исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3

Схема протокола исследования

Исследуемый материал	Метод диагностики	Среда для посева	Изучение колоний и выделение чистой культуры		Идентификация чистой культуры							Виды культуры, серогруппа		
					Морфология (рисунок)	Биохимические свойства				Реакция агглютинации				
			Цвет колоний	Реакция агглютинации со смесью ОВ-сывороток (085+0124или 0111+055)		Лактоза	Глюкоза	Манит	Мальтоза	Сахароза	На стекле с сыво-ротками		В пробир-ках (ука-зать титр)	
											О85,О124 или О111,О55		С живой культуры	С гретой культуры

E.coli вызывают инфекционные осложнения у онкологических больных, которые были связаны со структурными элементами хромосомной природы и принадлежат к серогруппам О6, О8, О80, О25. Данные штаммы, выделенные от онкологических больных, обладали множественной лекарственной устойчивостью и чувствительностью к пхио-бактериофагу.

Был проведен анализ антибиотикочувствительности условно-патогенных микроорганизмов в зависимости от источника выделения и вида микроорганизма. Наиболее часто условно-патогенные Эшерихии выделялись из раны (39,2%), из желудочно-кишечного тракта (12,0%), из мокроты (3,5%). Условно-патогенные Эшерихии, выделенные из данных источников, были чувствительными к ципробаю, клафорану и гентамицину. Разработан способ выявления антибиотикорезистентности с использованием полимеразной цепной реакции, позволяющей определить участки генов условно-патогенных эшерихий, отвечающих за устойчивость к β -лактамам антибиотикам и аминогликозидам.

Род *Klebsiella*.

Клебсиеллы вызывают заболевания урогенитального тракта, внутрибольничные инфекции, а также широко распространены в природе: почве, воде, овощах, древесине. Такое широкое повсеместное распространение клебсиелл называют экологической загадкой и связывают с наличием капсулы. Заболевания, вызываемые клебсиеллами, выделены в самостоятельную нозологическую единицу – клебсиеллез. К этому роду относятся *K. pneumoniae*, выделенная из мокроты, *K. aerogenes*, выделенная из мочи, испражнений, отделяемого ран. Общие признаки это:

- наличие капсулы;
- порядковый номер капсульного антигена.

Идентификации проводится по сероварам, фаговарам и биоварам. Биохимическое исследование включает 3 тест – субстрата: дульцит, сорбозу и Д-тартрат. Таким образом, дифференцирующим признаком является: наличие полисахаридной капсулы, отличающей *Klebsiella* от других представителей *Enterobacteriaceae*. Известно более 80 капсульных (K) антигенов, используемых для серотипирования клебсиелл. В таблице 4 представлены признаки, отличающие виды *Klebsiella* от видов *Enterobacter*.

Признаки, отличающие виды *Klebsiella* от видов *Enterobacter*

Тест	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. aerogenes</i>
Подвижность	-----	+
Орнитиндекарбоксилаза	-----	+

Род *Citrobacter*.

Встречается у практически здоровых людей, а также выделяется при кишечных инфекциях (67,2%), гнойно-воспалительных процессах (23,5%) и урологических заболеваниях (11,9%). Электронно-микроскопическое исследование ультраструктуры бактериальных колоний показало, что между клетками колоний *Citrobacter* существуют контакты различных типов. (Рис. 6)

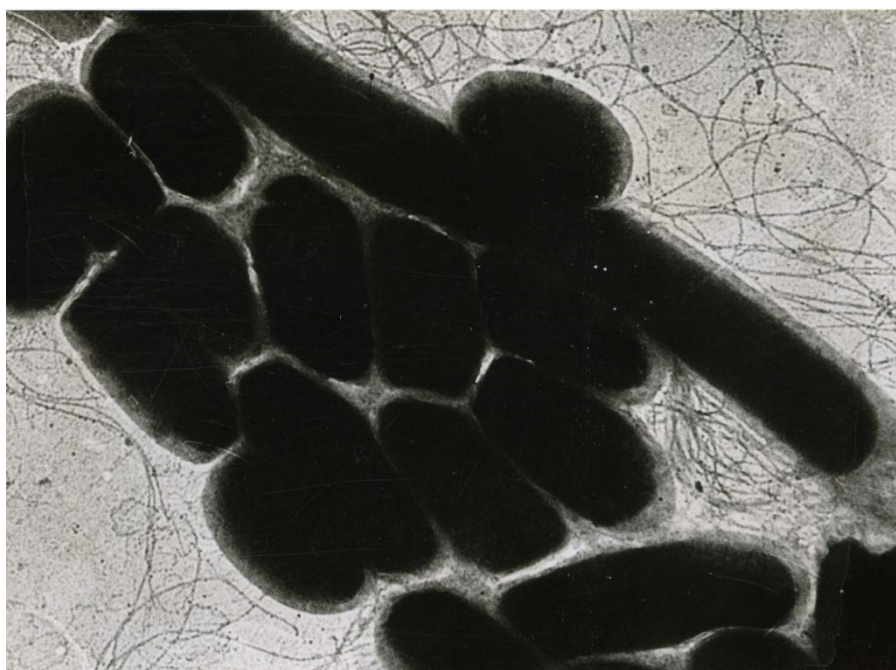


Рис. 6. Электронная микроскопия (JEM-100 В ув. 12000х)

а) Контакты различных типов

Штаммы *Citrobacter* обладали адгезивной активностью, при этом высокоадгезивные штаммы по периметру имели реснички длиной до

420нм. Генетической детерминантой адгезивной активности являлись хромосомы.

Был сконструирован молекулярный зонд для обнаружения энтеротоксигенных штаммов в опытах гибридизации.

Род *Enterobacter*.

Вопрос о патогенности бактерий рода *Enterobacter* длительное время оставался открытым. В настоящее время установлено, что бактерии рода *Enterobacter* могут быть причиной сепсиса и менингитов у детей в 46% случаев, а при воспалительных процессах верхних дыхательных путей по частоте выделения занимают третье место после клебсиелл и эшерихий. Для идентификации энтеробактеров традиционно используют биохимические тесты. Идентификация бактерий рода *Enterobacter* проводится по сероводороду, желатину, реакции Фогеса-Проскауэра и другим тестам.

Таблица 5

Ферментативные отличия видов *Enterobacter* от *E. coli*

Тест	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>
Цитрат Симонса	+	-
Малонат	+	-
Индол	-	+
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	-

**Биохимическая характеристика клинических штаммов
бактерий рода *Enterobacter***

Тест или субстрат	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. gergoviae</i>	<i>E. sakazakii</i>	<i>E. agglomerans</i>
Малонат натрия	+	В	+	-	В
Лизин	+	-	-	-	-
Аргинин	-	+	+	+	-
Орнитин	+	+	+	+	-
Уреаза	-	В	В	-	-
Инозит	+	-	-	+	-

Примечание:

в - тест вариабелен

(+) – положительная реакция

(-) – отрицательная реакция

Весьма актуальным является изучение факторов патогенности бактерий рода *Enterobacter*:

- адгезивности
- энтеротоксигенности
- гемолитической активности
- лецитиназной активности
- ДНК-азной активности.

Бактерии рода *Enterobacter* обладают множественной лекарственной устойчивостью, которая связана с конъюгативными плазмидами. Для обнаружения антибиотико-резистентных штаммов рекомендуется использовать современные методы экспресс - диагностики: ИФА и ПЦР.

Род *Nafnia*.

Имеет единственный типовой представитель *Nafnia alvei*. По свидетельству отечественных и зарубежных авторов, бактерии рода *Nafnia* обнаруживаются как у больных, так и у здоровых людей. Бактерии рода

Hafnia выделяются преимущественно в копрокультурах при гастроэнтеритах и энтероколитах. При дифференциации гафний от шигелл и клебсиелл можно определять каталазную активность. Бактерии рода *Hafnia alvei*, как правило, изменяют свою ферментативную активность в зависимости от температуры культивирования. Эта особенность используется с целью дифференцирования *Hafnia* от сходных культур. Ниже представлены основные биохимические свойства, дифференцирующие бактерии рода *Hafnia* от рода *Shigella* (таблица 7).

Таблица 7

Тест	<i>Hafnia</i>	<i>Shigella</i>
Реакция Фогеса-Проскауэра	+	-
Подвижность (37°C)	+	-
Малонат	+	-
Лизиндекарбоксилаза	+	-

Hafnia alvei обладает бактериоциногенностью приблизительно в 30% случаев.

Род *Serratia*.

Ранее считался непатогенным. Однако в 60-е годы была установлена способность серраций вызывать бактериемию у стационарных больных и наркоманов. Наиболее часто серрации проникают в организм через катетеры, интубационные устройства и растворы для внутривенных инфузий.

S.marcescens образует водорастворимый пигмент продигиозин, культура имеет запах карамели. На кафедре микробиологии среди клинических штаммов бактерий рода *Serratia* выделены два штамма *S.odorifera* и *S.marcescens*, обладающие комплексом факторов патогенности и персистенции, которые депонированы в ГНИИСК Л. А. Тарасевича и запатентованы, что свидетельствует об их роли в инфекционной патологии человека.

Генетическими детерминантами факторов патогенности бактерии рода *Serratia* являются:

- хромосомная ДНК- адгезивная активность
- плазмиды массой 60МД и 120МД.

Указанные плазмиды контролируют:

- продукцию It- энтеротоксина и α - гемолизина соответственно

У серраций выделяют 15 сероваров по О - антигену и около 20 сероваров по Н – антигену. Некоторые из них могут давать перекрестные реакции между собой. В качестве эпидемиологических маркеров используются бактериоциногенность и определение О – серогруппы. На кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии БГМУ дополнительно изучались следующие факторы вирулентности серраций: адгезивная активность, гемолитическая активность, лецитиназная и ДНК-азная активность, которые имеют генетические детерминанты.

Род *Proteus*.

Отвечает общей характеристике условно-патогенных энтеробактерий, однако ряд исследователей по таксономии считают протеи лишь отдаленно связанными с семейством Enterobacteriaceae. Культуральной особенностью протея является феномен «роения», когда при посеве бляшкой жгутиковые (Н) формы образуют концентрически расходящиеся зоны роста голубовато-серого цвета (рис. 7).

При бактериоскопии в раздавленной и висячей каплях бактериальные клетки роящиеся формы обладали выраженной подвижностью. При просвечивающей электронной микроскопии (увеличение в 20 тысяч раз), бактериальные клетки представляли собой палочки длиной 0,5-3,0 мк и 0,5-0,6 мк в поперечнике (рис. 8).

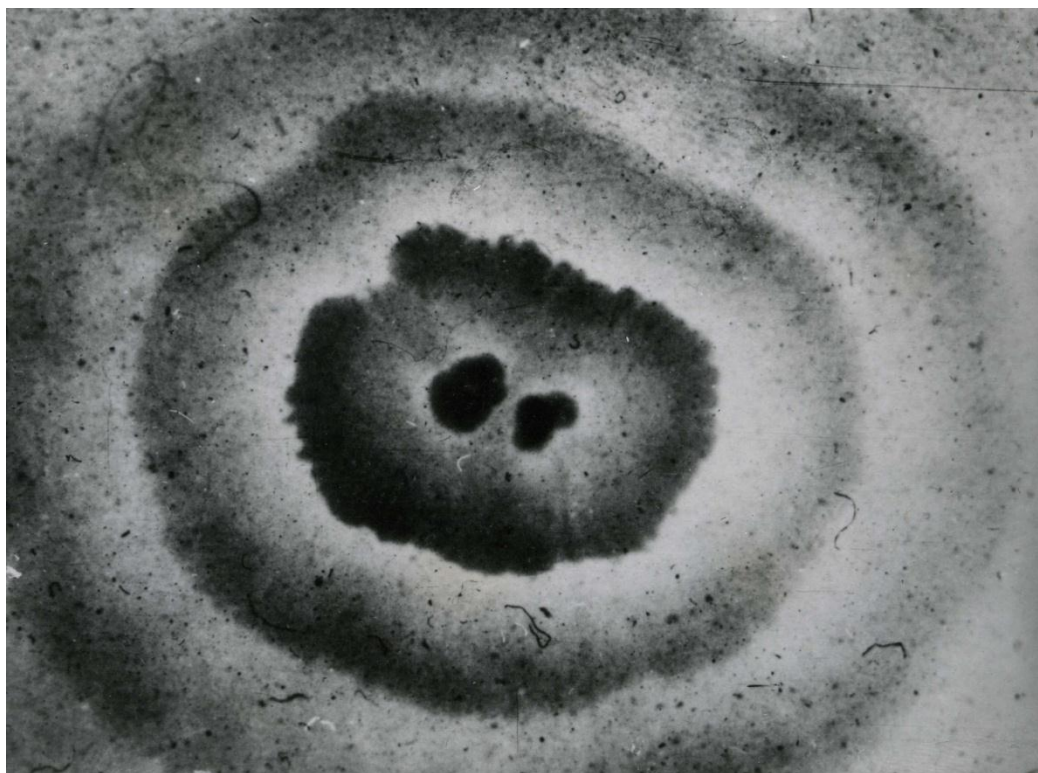


Рис. 7. Рост колонии роящейся формы протей на поверхности 2% мясопептонного агара (15 час. инкубации). Фотография.

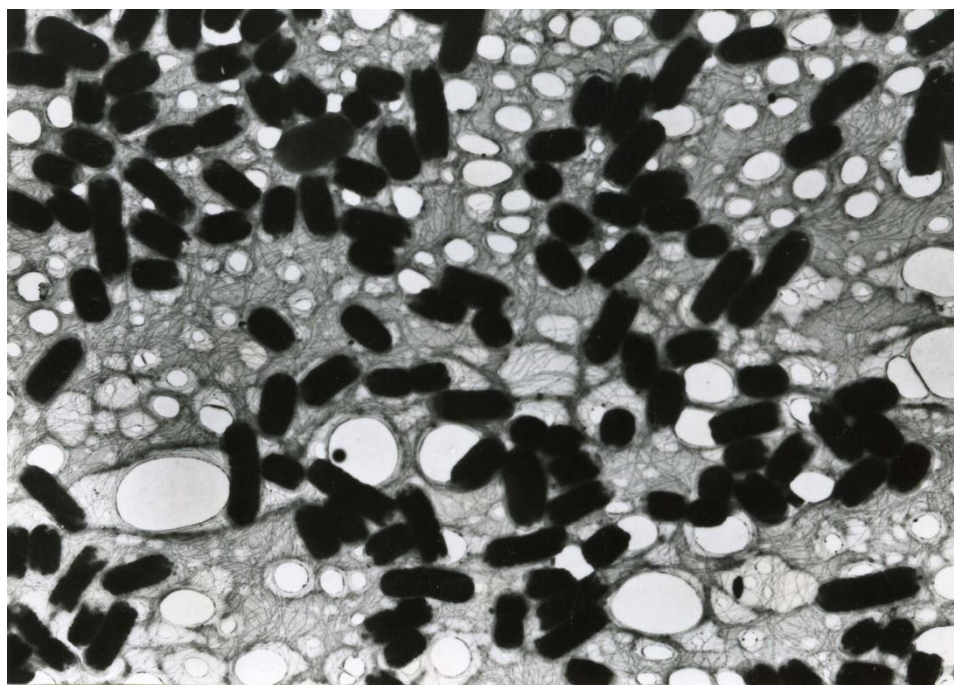


Рис. 8. Клетки роящейся формы протей под электронным микроскопом (JEM-100Вув.2000х).

Выделенная из клинического материала и полученная в экспериментальных условиях нестабильно нероящаяся ревертирующаяся форма на поверхности твердой питательной среды росла в виде округлой, выпуклой, блестящей колонии с ровными краями. На мясопептонном бульоне давала диффузное помутнение с образованием к началу второй сутки культивирования слабого осадка. При бактериоскопии в раздавленной и висячем капле бактериальные клетки представляли собой подвижные клетки, а на окрашенных препаратах грамотрицательные палочки с полиморфизмом. При посеве уколом в полужидкий агар столбиком культуры при 21-23°C полностью диффундировали в среду в течение 12-14 часов. При электронной микроскопии клетки имели слаборазвитые жгутики (рис. 4).

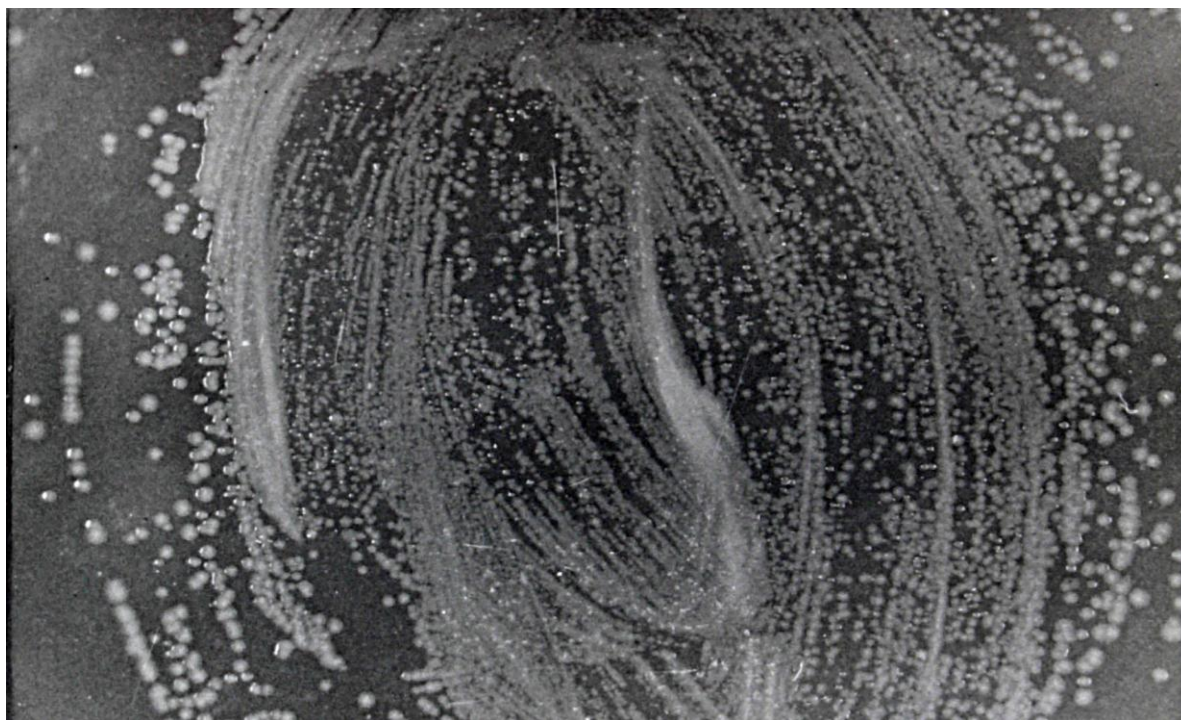


Рис. 9. Рост нероящейся ревертирующей формы на поверхности 4% мясопептонного агара.

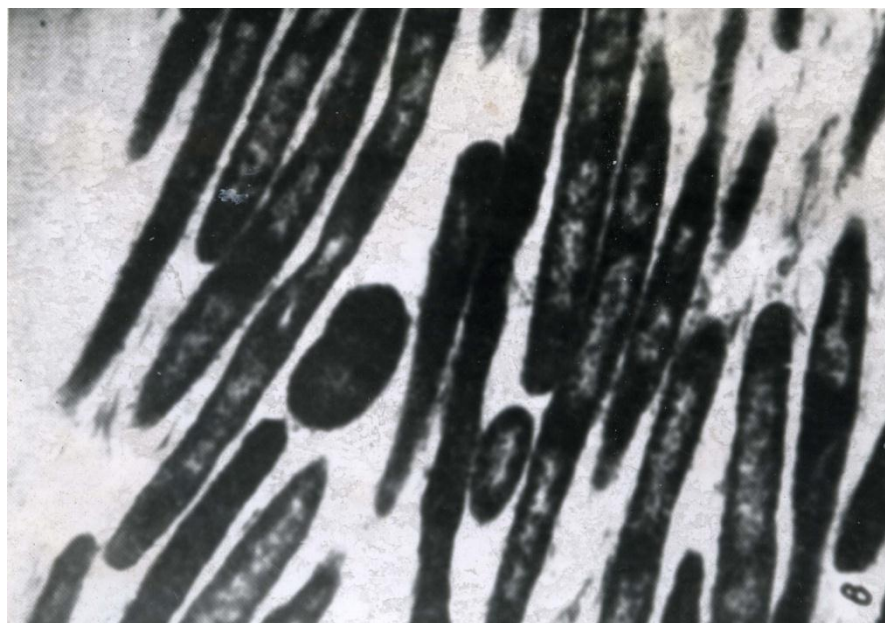


Рис. 10. Электронная микроскопия (JEM-CX /Япония/ ув. 30000).
У роящихся форм протей клетки имеют горизонтальную ориентацию.



Рис.11. Ультратонкие срезы колоний мутантов утративших свойство рояния. Клетки, прилегающие к поверхности агара, имеют вертикальную ориентацию.

Выделенные и экспериментально полученные стабильно нероящиеся формы протеев на поверхности твердой питательной среды росли в виде мелких округлых, выпуклых, лишенных блеска колонии диаметром не более 2-3 мм.

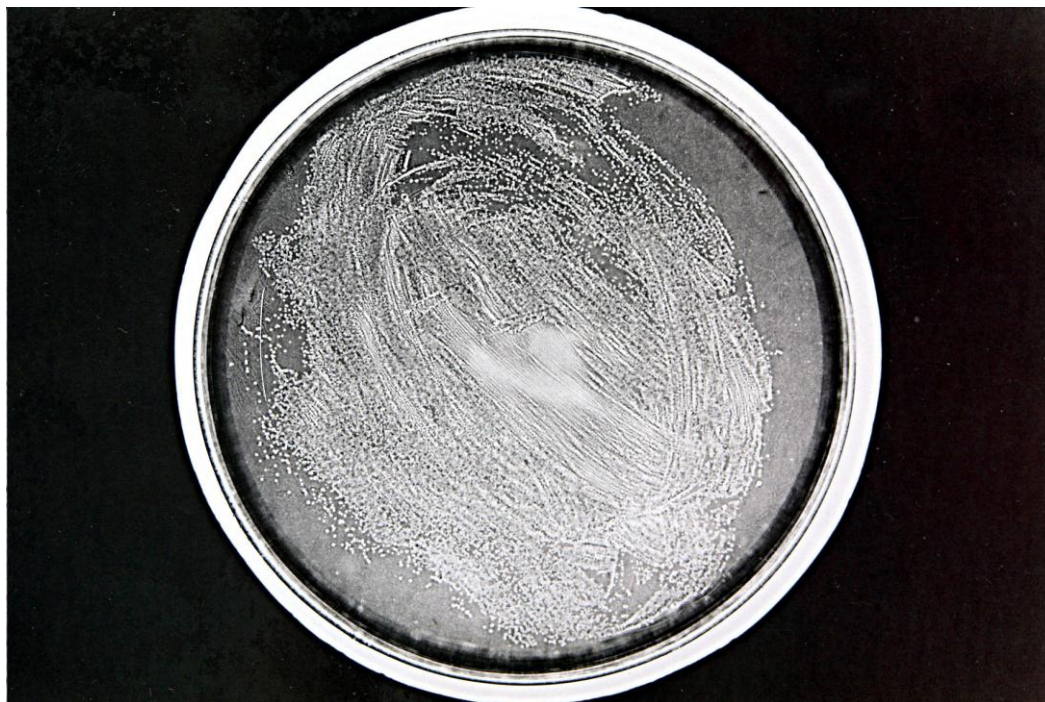


Рис.12. Рост колоний стабильно нероящихся форм протей на поверхности 2% мясопептонного агара.

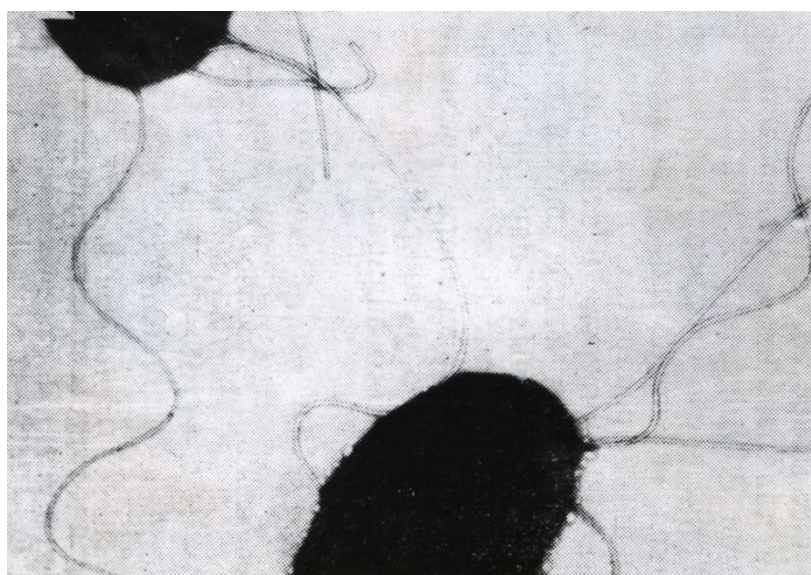


Рис 13. Жгутики стабильно нероящихся мутантов не превышают 4-х.

В мясопептонном бульоне давали слабое помутнение с образованием осадка на дне пробирки. В дальнейшем изучали ультраструктуру роящихся и нероящихся изогенных пар штаммов различных видов про-

теев, выделенных от урологических больных и мутантов, полученных в экспериментальных условиях с помощью просвечивающей и сканирующей электронной микроскопии. При исследовании негативно окрашенных препаратов установлено, что штаммы *P. vulgaris* и *P. mirabilis*, способные к роению и нестабильно нероящиеся мутанты в среднем имели одинаковое количество жгутиков, хотя прослеживалась определенная тенденция уменьшения их количества у нестабильно нероящихся форм протея.

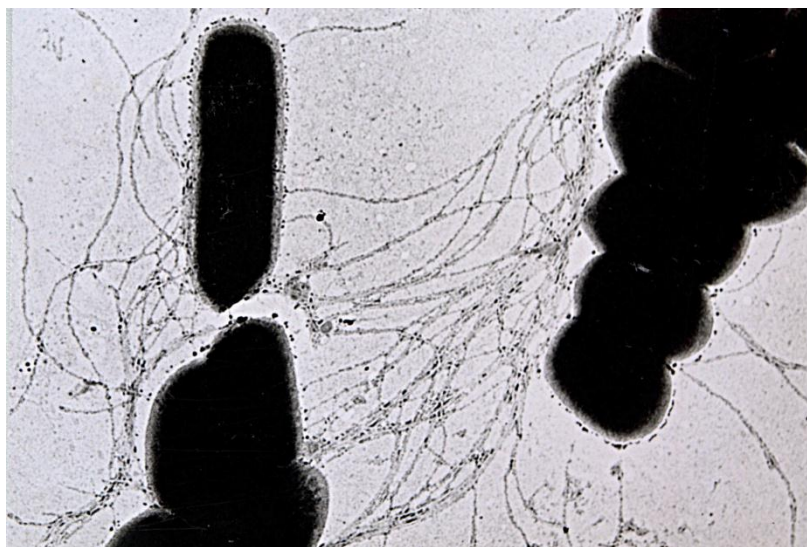


Рис 14. Микробные клетки роящейся формы протея под электронным микроскопом. Перитрихально расположенные жгутики (JEM-100 В ув. 20000х).

Среднее число жгутиков у роящихся форм колебалось в пределах от 8 до 60-70 и более, а у нестабильно нероящихся форм - от 5 до 30-50 свежевырастающие и развитые жгутики на контур бактериальной клетки

Как показали опыты, дикие стабильно нероящиеся штаммы, выделенные от больных с инфекциями, а также полученные мутанты в отличие от роящихся, не имели или имели не более 2-4 жгутиков, определяемых в негативно окрашенных препаратах (рис. 13).



Рис 15. Клетки нестабильно нероящейся ревертирующей формы под электронным микроскопом (JEM-100 В ув. 20000х).

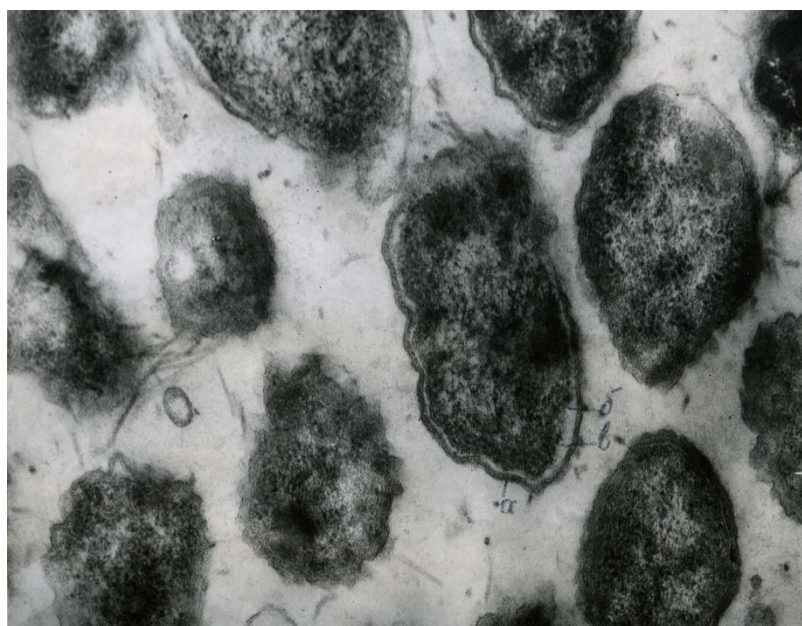


Рис 16. Ультратонкие срезы роящихся клеток под электронным микроскопом (JEM-100 В ув. 40000х): а) клеточная стенка относительно ровная; б) цитоплазматическая мембрана; в) пространство между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной.

При электронной микроскопии микротомированных препаратов клетки роящихся форм оказались по размеру относительно однородны-

ми, имели овоидно-вытянутую форму, в цитоплазме ультратонких срезов клеток просматривалась четкая зернистость, клетки имели относительно ровную клеточную стенку и между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной было четко выраженное пространство, в промежутках между клетками выявляли срезы густой сети жгутиков. Несколько иная структура была обнаружена у клеток стабильно нероящихся форм протей. Клетки оказались полиморфными, имели по сравнению с роящимися формами несколько вытянутую форму, цитоплазма была лишена четкой зернистости, имели неровную клеточную стенку с хорошо выраженными изгибами,



Рис 17. Клетки стабильно нероящейся формы под электронным микроскопом (JEM-100 В ув. 12000х).

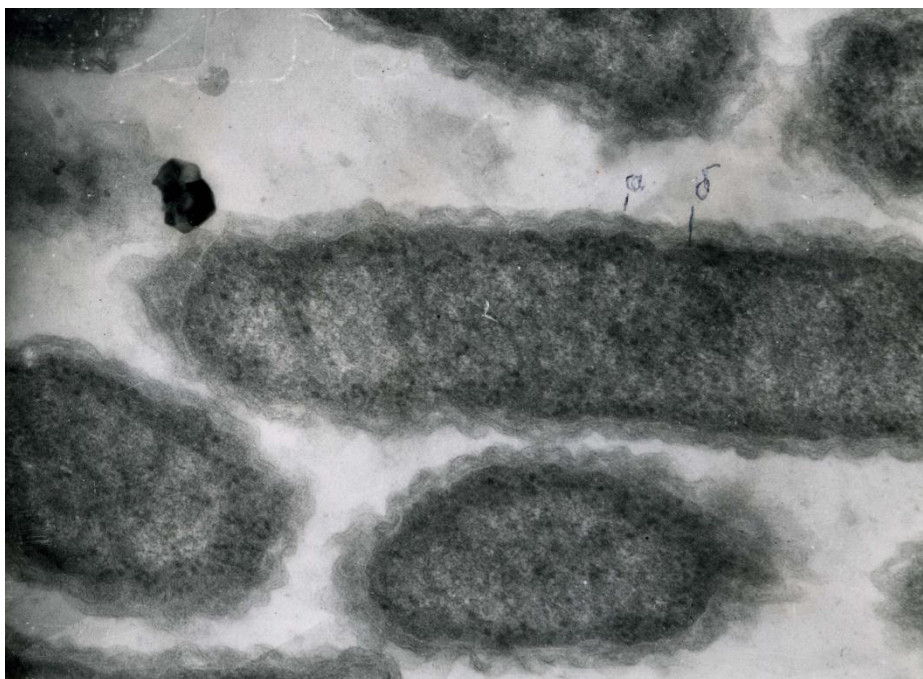


Рис 18. Ультратонкие срезы клеток стабильно нероящихся форм протей под электронным микроскопом (JEM-100 В ув. 60000х): а) клеточная стенка с выраженными изгибами, б) плотно прилегающая к цитоплазматической мембране.

P.vulgaris и *P.mirabilis* часто встречаются при гнойно-воспалительных, урологических и острых кишечных инфекциях, а их клинические штаммы обладают различной степенью вирулентности. Различная степень вирулентности отдельных штаммов протей, обусловлена целым рядом факторов:

- способностью к адгезии;
- колонизацией,
- выработкой цитотоксинов и гемолизинов,
- лецитиназной активностью.

Способность к адгезии у протей была исследована на клетках-мишенях: эритроцитах быка, барана, собаки, крысы, кролика и птиц. Наличие жгутиков у протей не оказывало влияния на адгезивную активность протей, которая существенно не различалась у роящихся Н-форм и

О-форм. Адгезия протеев, определялась фимбриями (ресничками), обнаруженными с помощью электронно-микроскопических методов.

Диссоциативные формы протей: роящиеся и нероящиеся отличаются по морфологическим, культуральным признакам и ультраструктуре (табл. 8).

Таблица 8

**Отличия диссоциативных форм протей
по культурально – морфологическим и биологическим признакам**

Диссоциативные Формы Признак	Роящиеся	Нестабильно нероящиеся	Стабильно нероящиеся
	Н-формы	О-формы	О-форма
Скорость размножения	Обычная	Чаще проявляется	Понижена
Расщепление углеводов	Средняя ферментативная активность	Чаще проявляется	Слабая ферментативная активность
Гемолитическая активность	Выражена	Чаще проявляется	Снижена
Лецитиназная активность	Выражена	Чаще проявляется	Снижена
ДНК-азная активность	Выражена	Чаще проявляется	Снижена
Продукция энтеротоксин	+	Чаще проявляется	—
Вирулентность	+	Чаще проявляется	—
Чувствительность к антибиотикам	—	+ —	Повышена

Роевание протей зависит не только от наличия жгутиков, но и от других структурных элементов и свойств. Таким образом, диссоциация протей является лишь внешним проявлением свойств бактериальной клетки, что, возможно, является причиной многообразия клинических форм протейной инфекции.

Дифференциация видов *Proteus* проводится по биохимическим тестам (см. таблицу 9).

Таблица 9

Дифференциация видов рода *Proteus*

Тест	Виды				
	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. morganii</i>	<i>P. rettgeri</i>	<i>P. inconstans</i>
Индол	+	-	+	+	+
Сероводород	+	+	-	-	-
Мочевина	+	+	+	+	-
Желатин (220С)	+	+	-	-	-
Орнитиндекар- боксилаза	-	+	+	-	-
Мальтоза	+	-	-	-	-
Фенилаланин	+	+	+	+	+

Были проведены комплексные исследования, направленные на выявление факторов патогенности и этиологической значимости выделенных штаммов протеев. Полученные данные показали, что клинические штаммы протеев обладали антилизотимной активностью, независимо от источника выделения, а также лецитиназной и гемолитической активностью, что свидетельствует об их вирулентности.

Протеи, обладая широким спектром приспособительных механизмов, часто встречаются при ассоциированных гнойно-септических процессах в ассоциации со стафилококками, синегнойной палочкой, возбудителями анаэробных инфекций. Диагностические подходы при изучении различных штаммов протеев основаны на определении эпидемиологических маркеров:

- антигенной структуры;
- биохимических признаков;
- чувствительности к бактериоцинам;
- антибиотикорезистентности.

Результаты исследований сотрудников кафедры микробиологии БГМУ свидетельствуют о принципиальной возможности использования при протейной инфекции в качестве экспресс-методов:

- метода молекулярного зондирования;
- метода иммуноферментного анализа.

Род *Yersinia*.

Занимает значительное место среди условно-патогенных энтеробактерий. Установлено, что бактерии рода *Yersinia* являются факультативными внутриклеточными паразитами, способны к продукции токсинов и ферментов агрессии. Вызываемые ими заболевания носят генерализованный характер и протекают преимущественно с поражением лимфоидной ткани. Патогенный потенциал *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* достаточно полно охарактеризованы. Биохимические свойства, дифференцирующие представителей *Yersinia*, представлены ниже:

Таблица 10

Тест	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>
Декстрин	+	-	-
Мелибиоза	-	+	-
Мочевина	-	+	+
Подвижность (18-200С)	-	+	+
Плазмокагуляция	+	-	-
Фибринолизин	+	-	-

Y. enterocolitica, является менее изученным микробом. *Y. enterocolitica* нередко находится в составе нормальной транзиторной микрофлоры, в тоже время имеется ряд штаммов *Y. enterocolitica*, выделенных от больных людей и обладающих факторами патогенности:

- определяющими взаимодействие микробов с эпителием слизистых оболочек;
- сообщающими устойчивость к гуморальным и клеточным факто-

рам защиты макроорганизма;

- способными к продукции токсинов

Таким образом, патогенность иерсиний – многофакторный признак, контролируемый хромосомными генами.

Для изучения этиологической роли иерсиний, в развитии инфекционного процесса у человека, предлагается изучение следующих свойств:

- токсической активности;
- цитолитической активности;
- гемагглютинирующей активности.

Род *Edwardsiella*.

Включает микроорганизмы, обнаруженные и описанные в 60-е. годы. Характеристика рода *Edwardsiella* частично совпадает с другими родами: *Escherichia*, *Citrobacter*, *Proteus vulgaris*, однако дополнительные биохимические признаки обосновали выделение этих микроорганизмов в самостоятельный род. Типовым представителем является *Edwardsiella tarda*. Эдвардсиеллы обитают в открытых водоемах, в организме рептилий и реже людей.

Предполагают, что более частое выявление эдвардсиелл у людей, проживающих в тропических экваториальных странах, связано с большим распространением там змей. Выявление эдвардсиелл у здоровых составляет 0,4-0,6%, а у больных в инфицированных ранах и при септицемиях 5,2%.

Помимо биохимических признаков, идентификация бактерий рода *Edwardsiella* разработана недостаточно.

Род *Morganella*.

Выделен в самостоятельную нозологическую единицу. Бактерии данного рода встречаются в фекалиях человека, собак, рептилий. Единственным типовым представителем является *Morganella morganii*, обнаруживаемая, при кишечных инфекциях у детей первого года жизни, септических осложнениях, внутрибольничных инфекциях. Четких критериев для дифференциации морганелл на патогенные и непатогенные виды

нет, поэтому проводится по комплексной оценке факторов патогенности клинических штаммов морганелл. С помощью метода электронной микроскопии была изучена ультраструктура колоний морганелл и контакты между клетками в бактериальных колониях.

Патогенные штаммы морганелл:

- обладали адгезивной активностью,
- продуцировали энтерогемолизин,
- обладали множественной антибиотикоустойчивостью.

Штаммы морганелл, выделенные от больных кишечными и урологическими инфекциями по сравнению с изолированными от здоровых людей, чаще обладали адгезивной и энтерогемолитической активностью. Штаммы морганелл, циркулирующие на территории Республики Башкортостан в 62% случаев обладали множественной антибиотикорезистентностью.

Полученные результаты свидетельствуют о роли *M. morganii* в этиологии заболеваний человека.

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ СТАФИЛОКОККА В МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЯХ

Патогенность золотистого стафилококка связана с тремя группами факторов: *колонизацией* и *адгезией*, при которых важную роль играет тейхоевая кислота клеточной стенки; *персистенцией*, происходящей за счет факторов, препятствующих фагоцитозу; а также выработкой *токсинов* различного механизма действия (гемолизинов, лейкоцитов, энтеротоксинов, эксфолиатинов) и *ферментов вирулентности* (плазмокоагулазы, гиалуронидазы, фибринолизина, ДНК-азы, РНК-азы, лецитовителлазы, β -лактамазы и др.)

При изучении 82 клинических штаммов бактерий *Staphylococcus aureus*, выделенных от больных с гнойно-воспалительными, кишечными

и урологическими инфекциями, все штаммы обладали патогенным потенциалом, характерным для представителей своего рода: α -гемолитической активностью, лецитиназной активностью, ДНК-азной, РНК-азной, активностью.

Антилизотический фактор *Staphylococcus aureus* вызывал инактивацию лизотима и обеспечивал выживание возбудителя в макрофагах. Из 82 штаммов инактивировали лизотим 42 штамма, не инактивировали – 40 штаммов. Антикомплемментарной активностью, обладали 58,5% штаммов.

Для изучения этиологической значимости *Staphylococcus aureus* была использована экспериментальная модель инфекционного процесса – метод интраназального заражения белых мышей. При этом, подавляющее большинство штаммов было слабо вирулентным (44,5%) и авирулентным.

РОЛЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ В МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЯХ

В последние годы повсеместно отмечается тенденция к увеличению ассоциированных инфекций, вызванных представителями бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. Ассоциированные или микст-инфекции обладают рядом особенностей межмикробных взаимодействий, которые могут существенно влиять на формы и течение инфекционного процесса. Механизмы отягощенного течения ассоциированных инфекций следующие:

- микробы-ассоцианты усиливают действие детерминант вирулентности основного возбудителя;

- условно-патогенные энтеробактерии в микробных ассоциациях обладают резко выраженной протеолитической активностью, особенно протей и сине-гнойная палочка;

- микробы-ассоцианты нередко обладают множественной лекарственной устойчивостью, которая связана с выработкой адаптивных ферментов, разрушающих данный антибиотик.

Изменчивость биологических свойств микробов-ассоциантов может явиться критерием для оценки результатов клинико-лабораторного исследования. На кафедре микробиологии Башкирского медицинского университета проводилось изучение роли условно-патогенных энтеробактерий в следующих микробных ассоциациях:

- Enterobacter + Citrobacter;
- Enterobacter + Serratia;
- Citrobacter + Serratia.

При изучении биологических свойств данных энтеробактерий в микробных ассоциациях они проявляли более высокую токсическую активность, чем их монокультуры (табл. 11).

Таблица 11

**Сравнительная оценка вирулентности монокультур
и микробных ассоциаций Enterobacter, Citrobacter, Serratia**

Вирулентность монокультур (%)		Вирулентность микробных ассоциаций(%)	
Enterobacter	26,3	Enterobacter + Citrobacter	57,1
Citrobacter	27,8	Enterobacter + Serratia	42,4
Serratia	25,4	Citrobacter + Serratia	52,0

Особенно интересным было изучение клонов каждой из вариаций на генетическом уровне, при этом оказалось, что в микробных ассоциациях происходит передача энтеротоксигенности путем генетических рекомбинаций, а именно через конъюгативные плазмиды. Полученные данные расширяют существующие представления о роли ассоциаций этих бактерий в патогенезе инфекционных процессов различной локализации (рис. 19).

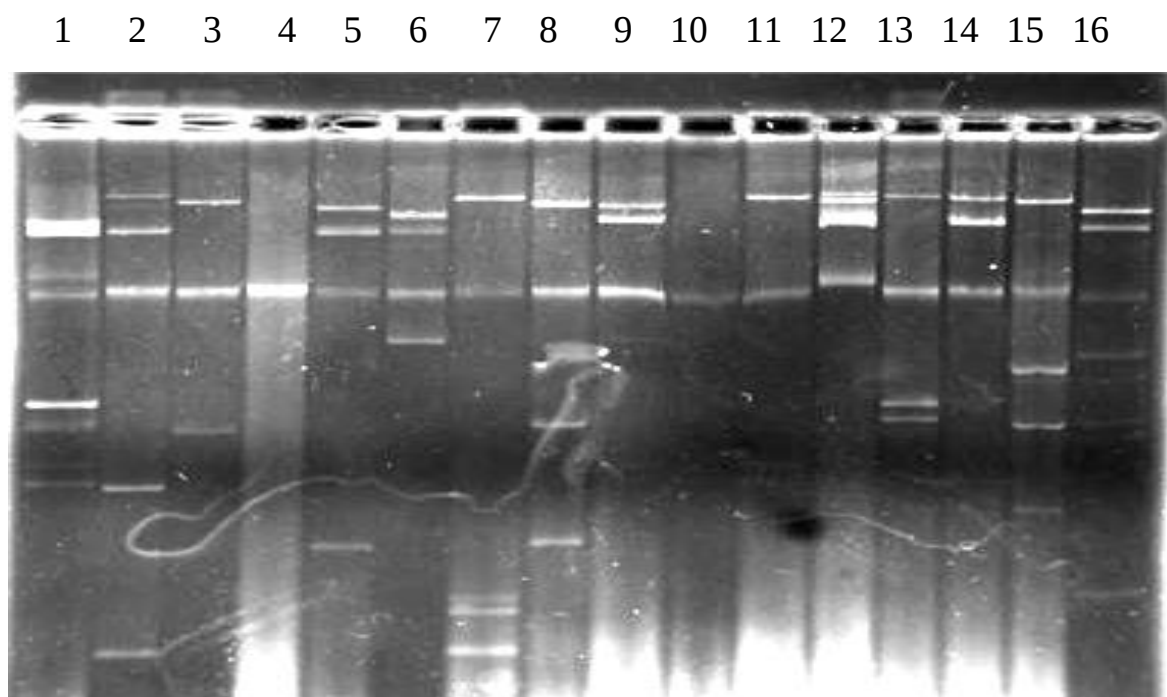


Рис 19. Электрофореграмма плазмидной ДНК изогенных пар клонов по способности продуцировать LT-энтеротоксин:

1 – клон штамма (*P.vulgaris*), несущий плазмиды массой 60, продуцирует высокоактивный LT-энтеротоксин и α -гемолизин.

5,6 – клоны штамма, продуцирующий высокоактивный LT-энтеротоксин и α -гемолизин, несущий плазмиды массой 60 и 120 мДа

7,8 – клоны штамма, непродуцирующий LT-энтеротоксин, продуцирующий α -гемолизин и несущий плазмиды 60 и 120 мДа

9 – реперный штамм *S.typhimurium* 415, несущий плазмиду массой 60 и 120 мДа

10 – изогенная пара штамма 423 не продуцирующий LT-энтеротоксин (бесплазмидный)

13 – реперный штамм *P.vulgaris* Rts-1, несущий плазмиду массой 120 мДа, α – гемолитически активный.

Условно-патогенные энтеробактерии в ассоциации со стафилококком взаимноизменяют факторы патогенности и тем самым приводят к отягощению инфекционного процесса, При инфекционных процессах у больных с гнойно-воспалительными, урологическими и желудочно-кишечными заболеваниями, вызванными ассоциацией *Serratia* spp. и *Staphylococcus aureus*, происходит изменение природы генетических детерминант, которые контролируют выработку отдельных токсинов и ферментов агрессии.

**Сравнительная характеристика
биологических свойств стафилококков и серраций
в монокультурах и в микробных ассоциациях**

Биологические свойства	<i>Staphylococcus aureus</i>	Род <i>Serratia</i>	Ассоциация <i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Serratia</i>
Наличие контактов между 1. клетками при электронной микроскопии	Реже +/-	Реже +/-	Чаще ++
2. адгезивная активность	30,5+/-5,0%	29,5+/-5,1%	43,8+/-7,7%
3. α-гемолитическая активность штаммов	56,1+/-5,5%	23,0+/-4,7%	75,0+/-7,6%
4. синтез тиолзависимых гемолизин	24,4+/-4,7%	26,9+/-5,0%	43,6+/-7,7%
5. лецитиназная активность	74,4+/-3,0%	33,3+/-5,3%	96,8+/-7,8%
6. ДНК-азная активность	32,9+/-3,5%	34,6+/-3,8%	68,7+/-7,1%
7. Антилизозимная активность	51,2+/-5,5%	51,3+/-5,6%	87,5+/-5,8%
8. антикоплементарная активность	58,5+5,0%	51,3+/-5,6%	87,5+/-5,8%
9. Антиинтерфероновая активность	51,2+/-4,1%	42,9+/-5,6%	84,4+/-4,2%
10. вирулентность для белых мышей	32,9+/-5,1%	28,2+/-5,0%	53,1+/-7,6%
11. продукция LT-энтеротоксина (на модели – белые мыши)	12,2+/-3,6%	14,1+/-3,9%	40,6+/-7,6%
12. степень вирулентности штаммов в протистоцидном тесте	32,9+/-5,1%	28,2+/-5,0%	68,8+/-7,1%
13. антибиотикоустойчивость	++	+	+++

**Сравнительная чувствительность
ассоциированной микрофлоры к антибиотикам**

Антибиотики	Стафилококк + протей (чувствительность в процентах)
Ампициллин	0
Оксациллин	9,8
Карбенициллин	0
Эритромицин	7,6
Олеандомицин	4,2
Рифампицин	9,8
Левомецетин	12,0
Тетрациклин	7,6
Канамицин	16,8
Гентамицин	36,8
Полимиксин	9,8
Цефазолин	18,6
Цефотаксим	52,2
Клафоран	38,8

Таким образом, условно-патогенные бактерии в ассоциации по всем биологическим признакам обладают высоким патогенным потенциалом по сравнению с монокультурами.

На базе Башкирского государственного медицинского университета и Городской клинической больницы №21 города Уфы было проведено комплексное обследование 1046 больных с гнойно-воспалительными инфекциями хирургического профиля.

При анализе больных с гнойно-воспалительными заболеваниями основной и контрольной групп по локализации воспалительного процесса выявлено следующее: в основной группе – 7(5,6%) случаев представляют абсцессы и флегмоны плеча и предплечья; 14 (11,2%) случаев – флегмона кисти; флегмона и абсцесс паховой области, а встречались в 7 (5,6%) случаях; 19 (15,2%) случаев с флегмоной и трофической язвой голени и стопы; нагноения послеоперационной раны составили 23 (18,4%) случая. Кроме того, в основную группу вошли 18(14,4%) па-

циентов с местным перитонитом, 22 (17,6%) – с острым парапроктитом и 15 (12%) – с острым холестерином.

В группе сопоставления – 20 (15,9%) больных с гнойно-воспалительными заболеваниями верхней конечности; флегмона и абсцесс паховой области, ягодиц и бедра – у 9 (7,1%); флегмоной и трофической язвой голени и стопы – у 20 (15,9%) и нагноения послеоперационной раны – у 21 (16,7%) пациента. 19 (15%) больных было с местным перитонитом, с острым холестерином -17 (13,5%) и с острым парапроктитом – 20 (15,9%) человек.

У 38 больных были изучены возможности профилактики гнойных осложнений при выполнении лапароскопических операций на толстой кишке с использованием фитокомпозиции.

Большинство больных в основной и контрольной группах с гнойно-воспалительными заболеваниями поступили на стационарное лечение в сроки от 2 до 7 суток. В основной группе – 84 больных (67,2%), в контрольной группе – 76 пациентов (60,3%).

В качестве исследуемого материала использовали отделяемое из гнойно-воспалительных очагов. Всего было выделено 2202 штаммов, среди которых 1329 (68,12%) составили *St.aureus*, *Pr. vulgaris* (*Pr. mirabilis*) 279 (14,3%), *Enterobacter aggl.* 192 (9,84%) и *Morganella morganii* 151 (7,74%) в монокультуре.

11,4% (251) составили ассоциации *St.aureus* с *Morganella morganii*, *Enterobacter aggl.* , *Pr. vulgaris* (*Pr. Mirabilis*). Причем ассоциация *St.aureus* с *Morganella morganii* 62 (2,82%) штаммов, *St.aureus* с *Pr. vulgaris* (*Pr. Mirabilis*) 97 (4,4%), *St.aureus* с *Enterobacter aggl.* 92 (4,18%).

Для качественной оценки способности штаммов бактерий *St. aureus* с *Pr. vulgaris*, *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl* в ассоциации и монокультурах вызвать инфекционный процесс использовался ряд показателей, характеризующих степень их агрессивности.

Для определения вирулентности в опытах интраназального зара-

жения мышей в монокультуре и в ассоциации мы предварительно провели ряд экспериментов: изучение лецитиназной, ДНК-азной, антилизимной и α -гемолитической активности и LT-энтеротоксигенности.

Для определения ДНК-азной активности использовался DNA-агар Difco, который позволил выявить ДНК-азную активность на 18-часовой агаровой культуре. Высокий ДНК-азной активностью штаммы стафилококка в ассоциации (от 27,78% до 31,43%). У штаммов грамотрицательных бактерий выражена средняя степень ДНК-азной активности: протей- 17 (54,84%), морганелла – 17 (53,12%), Энтеробактер – 16 (50%). Количество штаммов не проявляющих ДНК-азную активность, выделенных при ассоциированных инфекциях меньше, чем при моноинфекциях как у грамположительных, так и у грамотрицательных микроорганизмов: стафилококк в ассоциации и монокультуре – 14 (28%) и 26 (52%), протей – 19 (38%) и 29 (58%), морганелла – 18 (36%) и 26 (52%), энтеробактер – 18 (36%) и 26 (52%).

По результатам исследований видно, что штаммы стафилококка, протей, морганелла и энтеробактер, выделенных при ассоциированных инфекциях чаще проявляли более высокую ДНК-азную активность по сравнению со штаммами выделенными в монокультуре. Полученные данные показывают, что ДНК-азная активность может служить в качестве одного из маркеров вирулентности.

Была изучена лецитиназная активность клинических штаммов *St. aureus* с *Pr. vulgaris*, *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl.* (по 100 клинических штаммов) изолированных и при ассоциированных гнойно-воспалительных процессах.

Высокую лецитиназную активность проявляли штаммы, выделенные при ассоциированных инфекциях: стафилококк – 23 (52,27%), протей – 18 (43,90%), морганелла – 17 (41,46%), энтеробактер- 16 (40%). Тогда как при моноинфекциях проявляли высокую активность штаммы стафилококка в 9 (28,12%), протей в 7 (22,58%), не проявляли лецити-

назную активность 6 (12%) штаммов стафилококка, 9 (18%)-протей, 9 (18%)-морганеллы и 10 (20%) – энтеробактер, выделенных при ассоциированной инфекции. морганелла в 4 (13,34%), энтеробактер в 6 (21,43%) случаях.

В целом видно, что Лецитиназная активность клинических штаммов *St. aureus*, *Pr. vulgaris*, *Pr. Mirabilis*, *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl.* в ассоциации выше, чем в монокультуре. Обращает внимание тот факт, что лецитиназная активность грамположительных микроорганизмов (*St. aureus*) несколько выше, чем у грамотрицательных микроорганизмов (*Pr. vulgaris*, *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl.*).

Антилизотимная активность способствует длительной выживаемости бактерий и используется в качестве критерия оценки этиологической роли выделенных культур.

Была изучена антилизотимная активность 400 штаммов *St. aureus*, *Pr. vulgaris*, *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl.*, выделенных от больных с гнойно-воспалительными заболеваниями в ассоциации и в монокультуре. Антилизотимная активность наиболее частый признак грамотрицательных бактерий, тогда как у грамположительных он встречается значительно реже.

При этом было выявлено, что в ассоциации 39 штаммов протеев, 38 штаммов морганеллы и 38 штаммов энтеробактерий проявляли высокую вирулентность на модели интраназального заражения мышей. Тогда как только 3 штамма стафилококка в ассоциации проявляли высокую антилизотимную активность.

Грамотрицательная микрофлора в ассоциации со стафилококком чаще проявляет высокую степень вирулентности. Среднюю степень вирулентности в ассоциации проявляли 11 штаммов протей, 11 штаммов морганеллы и 10 штаммов энтеробактер. Всего 1 штамм морганеллы и 2 штамма энтеробактер обладали слабой вирулентностью.

Количественная характеристика показала, что грамотрицательные

бактерии характеризовались более выраженным свойством инактивировать лизоцим в концентрации от 6 до 25 мкг/мл. Активность штаммов грамположительных бактерий инактивировать лизоцим выражалась в концентрации 5 мкг/мл. Протеи, морганеллы, энтеробактер – в 100% случаев и стафилококк - в 32% случаев.

С целью выявления способности культур стафилококка, протей, морганеллы, энтеробактер продуцировать – энтеротоксины использовали изолированную петлю тонкого кишечника кролика и тест отека лап мышей. В качестве контроля использовали бульон Хоттингера.

Было исследовано 240 культур. Из них 120 (по 30 штаммов стафилококка, протей, морганеллы, энтеробактер) выделены в монокультуре.

Результаты этих опытов показали, что в той или иной степени продуцировать ЛТ-энтеротоксин обладали 6 (20%) штаммов стафилококка, 7 (23,3%) штаммов протей, 7 (23,3%) штаммов морганеллы, 8 (26,7%) штаммов энтеробактер в монокультуре, а в ассоциации соответственно 14 (46,7%) штаммов стафилококка., 15 (50%) штаммов протей, 14 (46,7%) штаммов морганеллы, 14 (46,7%) энтеробактер обладали способностью продуцировать ЛТ-энтеротоксин ($p < 0,05$).

Результаты исследований показали, что штаммы стафилококка, протей, морганеллы, энтеробактер выделенные при ассоциированных инфекциях по сравнению с выделенными в монокультуре чаще обладают способностью продуцировать высокоактивный ЛТ-энтеротоксин.

А-гемолитическая активность была изучена у 50 штаммов стафилококка, 50 штаммов протей, 50 штаммов морганеллы, 50 штаммов энтеробактер в монокультуре и ассоциации.

При изучении видно, что 46 (92%) клинических штаммов стафилококка, 43 (86%) штаммов протей, 43 (86%) штаммов морганелла, 42 (84%) штаммов энтеробактер выделенных при ассоциированных гнойных инфекциях, обладают α -гемолитической активностью. Тогда как при моноинфекции α -гемолитической активностью обладают 33 (66%)

клинических штаммов стафилококка, 32 (64%) штаммов протей, 27 (54%) штаммов морганеллы, 29 (58%) штаммов энтеробактер.

На «легочной модели» изучалась вирулентность 240 клинических штаммов. Из них 120 (по 30 штаммов протей, морганеллы, энтеробактер и стафилококка) штаммов, выделенных при ассоциированной инфекции и 120 (по 30 штаммов протей, морганеллы, энтеробактер и стафилококка) штаммов при моноинфекциях. Для каждого штамма брали по 3 мышей-самцов весом 16-17г. и интраназально под легким эфирным наркозом вводили соответственно (0,025+0,025 мл) и 0,05 мл 18 часовой бульонной культуры ($6-8 \times 10^5$) и наблюдали за поведением животных.

При ассоциированной инфекции штаммы стафилококка 7 (23,3%) проявили высокую, 6 (20%)-среднюю, 9(30%)- слабую вирулентность, а 8 (26,7%) штаммов оказались авирулентными. Штаммы протей в 6 (20%) случаях проявляли высокую, в 6 (20%) случаях проявляли среднюю, в 7 (23,3%)- слабую вирулентность и в 11 (36,7%) случаях оказались авирулентными. Штаммы морганеллы и энтеробактер в 5 (16,7%) и 6 (20%) случаях соответственно проявляли высокую степень вирулентности. В 12 (40%) случаях штаммы морганеллы и 11 (36,7%) штаммов энтеробактер были авирулентными.

При моноинфекции эти цифры оказались ниже, чем при ассоциированной инфекции. Так, по 3 (10%) штамма протей, энтеробактер и стафилококка проявляли высокую степень активности. При этом были авирулентны 15 (50%) штаммов стафилококка, 16 (53,3%)- протей, 19 (63,3%)- морганеллы и 17 (56,6%)- энтеробактер.

Штаммы стафилококка при ассоциированной инфекции оказывают более высокую степень вирулентности ($p < 0,05$).

Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что штаммы протей, морганеллы, энтеробактер и стафилококка при ассоциированных инфекциях чаще обладают вирулентностью.

Интраназальное заражение под легким эфирным наркозом боль-

шого количества мышей позволяет определить динамику размножения бактерий через различные интервалы времени с момента введения возбудителя, а по времени гибели и количеству погибших животных довольно быстро установить степень вирулентности бактерий.

Результаты исследований позволяют заметить, что штаммы протей, морганеллы, энтеробактер и стафилококка при ассоциированных инфекциях чаще обладают вирулентностью.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ И ЛЕЧЕБНЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Известно, что микробное взаимодействие имеет важное клиническое значение. Так, аутохтонная кишечная микрофлора является антагонистической по отношению к патогенной и условно-патогенной флоре. При нарушении баланса «микроб-хозяин» или экологического баланса внутри микробных ассоциаций возникают заболевания, вызванные условно-патогенными микроорганизмами: от кишечной палочки до протей, синегнойной палочки и даже бактериоидов. Иммунологическая реактивность тканей зависит от многих причин, в том числе и от характера питания. Поэтому важное значение имеет использование овощей, фруктов и растений, антибактериальная активность которых связана:

- со стимуляцией иммунобиологических реакций организма;
- с инаktivацией бактериальных экзотоксинов;
- с инаktivацией гиалуронидазы.

Бактерицидным действием на энтеробактерии родов *Proteus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Klebsiella* обладают абрикосы, клюква, черная смородина, укроп, яблоки. Поскольку изменение микрофлоры кишечника под действием условно-патогенных энтеробактерий является многофакторной патологией, рекомендуются пробиотики –

препараты живых микроорганизмов, обладающие способностью регулировать кишечную микроэкологию. Пробиотики не считаются лекарственными препаратами и используются в качестве пищевых добавок. К ним относятся бифидумбактерин, колибактерин, лактобактерин, бификол, ацилакт, примадофиллюс, широко используемые в педиатрической практике. Получен новый пробиотик «витаспор», подавляющий широкий спектр условно-патогенных и патогенных бактерий и грибов. Клинические штаммы условно-патогенных энтеробактерий, которые были получены от больных, могут служить материалом для отбора приоритетных культур федеральной коллекции живых культур ГНИИСК им. Л.А.Тарасевича. Эти эталонные штаммы условно-патогенных энтеробактерий родов *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia* и др. используются для производства биологических препаратов, например, бактериофагов, т.е. вирусов определенных видов бактерий, которые обладают высокой специфичностью и вызывают лизис соответствующих условно-патогенных микроорганизмов. В отличие от химиотерапевтических средств бактериофаги:

- действуют избирательно;
- не причиняют вреда нормальной микрофлоре.

В терапевтических дозах бактериофаги не проявляют иммуногенных и аллергизирующих свойств, и их препараты практически реантогенны. В виду выраженной способности к диссеминации в организме препараты, как правило, применяются перорально, однако возможно и их местное использование. Лечебно-профилактические бактериофаги могут использоваться в виде монофагов или поливалентных препаратов.

В настоящее время выпускаются следующие виды бактериофагов, действующие узконаправленно или комплексно на условно-патогенные энтеробактерии:

- *колипротейный бактериофаг* содержит смесь бактериофагов, лизирующих энтеропатогенные и энтероинвазивные эшерихии, *Proteus*

mirabilis и Proteus vulgaris;

- *клебсиеллезный поливалентный бактеофаг* представляет собой фаголизит, действующий на клебсиеллы;

- *пиоцианеус* бактериофаг содержит фаголизат, действующий на синегнойную палочку;

- *пиобактериофаг* содержит компоненты, активные в отношении стафилококков, стрептококков, эшерихий, протей, синегнойной палочки;

- *интестибактериофаг* содержит фаголизаты, действующие на возбудителей кишечных инфекций (шигелл, сальмонелл) и условно-патогенные энтеробактерии (протей, синегнойная палочка и др.)

Поливалентный пиобактериофаг, полученный в НПО ГУП «Иммунопрепарат» и применяемый для местного лечения в комплексе с ферментом лизоцимом, эффективен в отношении клинических штаммов St. aureus, Pr. vulgaris, Morganella morganii и Enterobacter aggl. в 84-98% случаев.

Применение фермента лизоцим с поливалентным пиобактерофагом при комплексном лечении гнойно-воспалительных процессов, вызванных ассоциациями St. aureus , Pr. vulgaris , Morganella morganii и Enterobacter aggl. привело к снижению среднего пребывания больных в стационаре на $3 \pm 1,3$ дня.

Среди культур в ассоциации St.aureus с Morganella morganii, Enterobacter aggl., Pr. vulgaris (Pr. Mirabilis)., чаще встречаются штаммы, обладающие множественной резистентностью к наиболее часто применяемым в хирургической практике антибиотикам, что по нашему мнению, является результатом нерационального применения антибиотиков. Разработанный и полученный НПО ГУП «Иммунопрепарат» поливалентный пиобактериофаг, применяемый для местного лечения в комплексе с ферментом лизоцим, проявляли активность в отношении клинических штаммов St.aureus с Morganella morganii, Enterobacter aggl. , Pr. vulgaris (Pr. Mirabilis)., в 97% случаев.

Для лечения больных с кишечными, урологическими и гнойно-воспалительными заболеваниями, вызванными условно-патогенными энтеробактериями предлагаются препараты выбора после проверки на антибиотикоустойчивость:

- ампициллин;
- цефалоспорины третьего поколения;
- фторхинолоны.

По данным кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии БГМУ, антибиотикограмма в микробных ассоциациях показала, что спектр антибиотикоустойчивости микробов-ассоциантов значительно шире, чем при моноинфекциях.

1) На кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии БГМУ впервые исследована противомикробная активность бензимидазолов и ксантинов, которые обладают:

- новой структурой;
- низкой токсичностью;
- отсутствием резистентности к бактериям родов *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*.

2) У микробных ассоциаций *St. aureus* и бактерий рода *Serratia* не обнаружена существенная разница по сравнению с монокультурами по чувствительности к вновь синтезированным производным азотсодержащих гетероциклов, в частности бензимидазолу и ксантину.

Ведутся поиски новых высокоэффективных средств данного класса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящее пособие поможет студентам пополнить знания по очень актуальной проблеме изучения свойств условно-патогенных грамотрицательных и грамположительных бактерий, которые все чаще вызывают инфекционную патологию, а также ознакомиться с диагностическими подходами, основанными на самых современных методах лабораторного исследования.

Для закрепления материала по данной теме предложены словарь медицинских терминов (приложение 1), ситуационные задачи (приложение 2), тестовый контроль (приложение 3), таблица 14 (приложение 4).

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

СЛОВАРЬ МЕДИЦИНСКИХ ТЕРМИНОВ

Агрессины – поверхностные вещества микроорганизмов, являются факторами вирулентности, обладают антикомплементарным действием.

Бактериофаги – вирусы, паразитирующие на бактериях, актиномицетах и сине-зеленых водорослях и вызывающие лизис бактерий или продуктивную инфекцию.

Бактериоцины – белковые вещества бактериального происхождения, подавляющие размножение особей близких видов.

Высеваемость определяется по формуле:

$$B = \frac{\text{число исследований с положительным результатом}}{\text{общее число исследований}} * 100$$

Гемолизины – особые белки определенной молекулярной массы, вызывающие лизис эритроцитов.

Гиалуронидаза - фермент из класса лиаз, который деполимеризует гиалуроновую кислоту.

Гисса среды – среды с углеводами и индикатором Андреде, используемые для определения сахаролитических свойств микробов в процессе идентификации.

Дисбактериоз – состояние микробиоценоза человека, характеризующееся качественным и количественным изменением состава микрофлоры.

Идентификация микробов – определение родовых и видовых признаков, которое необходимо для постановки микробиологического диагноза.

Иммуноферментный анализ (ИФА) – экспресс-метод диагностики для выявления иммунного комплекса прямым и непрямым способом.

Инвазивность – способность патогенных микроорганизмов проникать во внутреннюю среду хозяина и распространяться по его тканям.

Интерферон – низкомолекулярный α -спиральный белок, оказывающий противовирусное и иммуномодулирующее действие.

Инфицирование – внедрение инфекционного агента в организм хозяина.

Липополисахарид (ЛПС) – макромолекулярное соединение наружной мембраны Грам- бактерий, обладает токсичностью и антигенностью за счет липида А.

Клон – совокупность особей, происходящих от одной родительской клетки.

Коагулаза стафилококков относится к бактериальным протеиназам, свертывающим плазму крови человека и кролика. Определение плазма-коагулазы проводят в пробирочной реакции: в 1 мл цитратной плазмы кролика добавляют одну петлю суточной агаровой культуры стафилококка. После инкубации в термостате при 37°C контролируют появление сгустка через 2-4-18 часов.

Колицины – группа бактериоцинов, синтезируемых энтеробактериями и активных к кишечной палочке.

Комплемент – сывороточный белок человека и животных, участвующий в лизисе клеток, фагоцитозе и регуляции иммунного ответа.

Культура бактериальная – совокупность бактерий одного вида, находящаяся в фазе роста или покоя.

Лизоцим – низкомолекулярный белок-фермент, вызывающий лизис Грам+ бактерий и содержащийся в секретах кожи, крови, молоке и т.д.

Локализация микробного очага – первичное или вторичное место нахождения возбудителя заболевания в организме хозяина.

Мазок-отпечаток – микроскопический препарат, который готовят из тканей (вырезают кусочек ткани и срезом прикрепляются к предметному стеклу).

Материал для исследования – это субстраты больного или здорового человека (кровь, моча, испражнения и т.д.) или объекты внешней среды, из которых выделяют микробы или их токсины.

Микробиология клиническая – раздел медицинской микробиологии, изучающий условно-патогенные микробы, их диагностику и профилактику.

Микробиоценоз (ассоциация) – совокупность популяций разных видов микроорганизмов, обитающих в определенном биотопе. Ассоциация микробов при изучении условий обитания в случае развития патологического процесса характеризуется резким обострением конкурентных взаимоотношений между микробами-ассоциантами и организмом хозяина.

Микробоносительство – одна из форм инфекции, при которой возбудитель попадает в организм хозяина, не вызывая патологических изменений.

Нейраминидаза – фермент, который разрывает связь между нейраминовой кислотой и моносахаридами, входящими в состав гликопротеидов.

Оппортунистические инфекции – вызываются условно-патогенными микроорганизмами, например энтеробактериями и стафилококками.

Патогенность – видовой признак возбудителя, обозначающий его потенциальную способность вызывать инфекционный процесс у хозяина.

Персистенция – способность патогенных микроорганизмов к длительному существованию в организме хозяина в активной или покоящейся форме.

Пили (фимбрии, реснички) – трубчатые образования цитоплазмы на поверхности некоторых бактерий. Синтез фимбрий, т.е. пилей Грам– бактерий, контролируется бактериальной хромосомой. Половые пили участвуют в процессе конъюгации.

Плазмиды – внехромосомные генетические структуры бактериальной клетки в виде замкнутой молекулы двунитчатой ДНК.

Полимеразоцепная реакция – экспресс-метод диагностики, основанный на обнаружении молекулы ДНК в пробе исследуемого материала за счет синтеза данной молекулы из праймера при участии полимеразы.

Продигиозин – нерастворимый в воде пигмент красного цвета, продуцируемый культурой *Serratia marcescens*.

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) – метод выявления специфических антител или антигенов с помощью антигенов или сывороток, конъюгированных с флюорохромом.

Резистентность к антибиотикам – состояние устойчивости к антибиотикам, которое может быть первичным и приобретенным.

Роение колоний (ползучий рост) – жгутиковые формы (Н) протей при посеве бляшкой образуют концентрически расходящиеся зоны роста голубовато-серого цвета.

Тест-культура – стандартная культура, с помощью которой изучают антибиотикочувствительность или другое свойство.

Условно-патогенные микробы – большая группа разнородных микробов, большинство из которых обитают в организме человека и объектах внешней среды. Патогенное действие оказывают при снижении общего и местного иммунитета, вызывая оппортунистические инфекции.

Фагоцитоз – специфический иммунный ответ, состоящий в переработке антигена и представлении его лимфоцитам. Протекает поэтапно, может быть завершённым и незавершённым.

Ферменты бактерий – биологические катализаторы, которые делятся на экзо- и эндоферменты и используются при идентификации микроорганизмов.

Химиотерапевтические средства – химические вещества природного или синтетического происхождения, которые оказывают на микроорганизмы в организме хозяина бактериостатическое или бактерицидное действие.

Чистая культура – совокупность микробов одного вида, полученная из одного образца материала.

Энтеробактерии – семейство палочковидных бактерий из порядка Eubacteriales, которые широко распространены в природе. Включают многие виды и различаются по биохимическим, антигенным признакам и чувствительности к фагам. Родоначальник семейства – E. coli.

Этиология – учение о причинах и условиях возникновения болезней.

Этиологический фактор – это возбудитель инфекционного заболевания, т.е. патогенные или условно-патогенные бактерии, грибы, вирусы, простейшие.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

Задача № 1. К врачу обратился больной с жалобами на расстройство стула, повышение температуры и боли в подвздошной области справа. Предполагаемый диагноз и форма заболевания?

Выберите один верный ответ.

1. Какой метод исследования наиболее информативен в данном случае?
 - а) микроскопия;
 - б) бактериологический;
 - в) серологический;
 - г) биологический.
2. Какой материал для исследования?
 - а) кровь;
 - б) спинномозговая жидкость;
 - в) моча;
 - г) испражнения;
 - д) пунктат.
3. Исследуемый материал в этом случае подвергают:
 - а) серологическому исследованию;
 - б) обогащению;
 - в) пассированию через лабораторных животных;
 - г) высеву на дифференциально-диагностические среды;
 - д) внутрикожному введению для выявления гиперчувствительности.
4. В случае выделения чистой культуры для постановки окончательного диагноза необходимо:
 - а) определить фаговар;
 - б) провести биохимическую идентификацию;
 - в) определить антибиотикочувствительность;
 - г) определить патогенность.

Задача № 2. К травматологу обратился больной с жалобами на боли в области крупных суставов. При обследовании установлено, что имеется припухлость в области коленных и локтевых суставов, кожа гиперемирована, движения ограничены и болезненны. В ходе опроса уда-

лось установить, что незадолго до этого больной отмечал повышение температуры и расстройство стула. Предполагаемый диагноз?

Выберите один верный ответ.

1. Какой метод исследования наиболее информативен в данном случае?
 - а) микроскопия;
 - б) бактериологический;
 - в) серологический.
2. Исходя из ответа на предыдущий вопрос, выберите материал для исследования.
 - а) моча;
 - б) испражнения;
 - в) содержимое сустава;
 - г) сыворотка крови.
3. Определите один или несколько методов исследования для каждого материала, исходя из задания п.2.

1) Моча	а) не исследуется
2. Испражнения	б) обогащение, выделение чистой культуры
3. Содержимое сустава	идентификация
4. Сыворотка крови	в) РА, РНГА с диагностикумом или аутоштаммом.

Задача № 3. У новорожденного месячного ребенка, находящегося на грудном вскармливании, держится упорная диарея.

1. Какова возможная причина этого расстройства?
2. Какой материал подлежит микробиологическому исследованию?
3. Какие микроорганизмы могут быть выделены?
4. Тактика педиатра.

Задача № 4. У ребенка с хроническим остеомиелитом голени повязка пропиталась гноем зеленого цвета.

1. О каком возбудителе данного гнойно-воспалительного процесса можно думать?
2. Имеет ли смысл проверить микрофлору гноя?
3. Какие микроорганизмы в этом случае могут встретиться, а какие нет?

Задача № 5. В родильном доме у новорожденных появились случаи пиодермии.

1. Каковы возможные причины заболеваний?
2. Какие материалы подлежат микробиологическому исследованию?
3. На основании каких данных могут быть проведены профилактические мероприятия и в чем они заключаются?

Задача № 6. Больной обратился к врачу с жалобами на внезапный подъем температуры, озноб, головную боль. До этого у него был панариций, который он лечил домашними средствами.

1. Какие микробиологические исследования следует провести для постановки диагноза?
2. Какие лечебные препараты необходимо назначить больному?

Задача № 7. Больной с хронической стафилококковой инфекцией, которая осложнилась стафилококковым сепсисом, долго и безуспешно лечился различными антибиотиками и сульфаниламидами.

1. Почему данное лечение оказалось неэффективным?
2. Какими исследованиями можно проверить причину неэффективного лечения?
3. Какие препараты можно рекомендовать для лечения больного в подобной ситуации?

Задача № 8. При микроскопии мазка из гноя, окрашенного по Граму, обнаружены грамотрицательные палочки разной величины.

1. Можно ли считать это заболевание моноинфекцией?
2. Если нет, то какие микроорганизмы здесь могут встретиться?

Задача № 9. При микроскопии гноя из грудной полости (абсцесс) обнаружены грамотрицательные полиморфные палочки. Однако, при посеве гноя на питательные среды Эндо, МПА роста не было.

1. О каких микробах можно думать?
2. Что надо предпринять, чтобы их выделить?

Задача № 10. У больного ребенка с нагноением ожоговой поверхности взят материал для бактериологического исследования. При опре-

делении суммарной чувствительности микрофлоры гноя к пенициллину был получен положительный результат. Однако пенициллинотерапия оказалась безуспешной.

1. Какая была допущена ошибка при определении чувствительности микрофлоры к антибиотикам?

2. Как объяснить отсутствие терапевтического эффекта при суммарной чувствительности микрофлоры гноя к пенициллину?

Задача № 11. У больного спустя 2-3, дня после аппендектомии появились гнойные выделения в области послеоперационного шва.

1. Какие бактерии могли вызвать это осложнение?

2. На основании каких признаков можно их идентифицировать?

3. Какие препараты надо назначить для лечения больного?

Задача № 12. В осадке, приготовленном из осадка мочи больного циститом, обнаружена грамотрицательная палочка средней величины.

1. Какие микроорганизмы чаще всего можно выделить в этом случае?

2. На основании каких признаков их можно дифференцировать?

3. Как проверить эндогенный или экзогенный характер инфекции?

Задача 13. Больной обратился к врачу с жалобами на боли в горле, которые беспокоят его периодически на протяжении лет. Врач обнаружил в зеве больного признаки хронического воспалительного процесса.

1. Как можно выделить возбудителя заболевания?

2. Какие бактерии могли выявить такой процесс?

3. Какие химиотерапевтические препараты можно назначить больному?

Задача № 14. В одной из групп детского сада зарегистрирована вспышка скарлатины.

1. Как проверить наличие иммунитета к скарлатине у контактных детей?

2. Как установить источник инфекции?

3. Какие препараты следует назначить для лечения и профилактики скарлатины?

Задача № 15. Вследствие небольшой травмы(ссадины) у больного на ноге возникло рожистое воспаление. Из анамнеза выяснилось, что он страдает хроническим тонзиллитом.

1. На основании каких микробиологических данных можно установить связь между рожистым воспалением и носительством стрептококка в зеве?

2. Какие исследования должны быть проведены для решения этого вопроса?

3. Какие химиотерапевтические препараты применяют для лечения данного заболевания?

Задача № 16. В микробиологическую лабораторию направлен гной зеленого цвета. При бактериологическом исследовании в нем обнаружены небольшие грамотрицательные палочки.

1. Какие это могут быть бактерии?

2. Какое исследование необходимо провести для идентификации обнаруженных бактерий?

3. Какие препараты следует назначить для лечения?

Ответы к ситуационным задачам

Задача 1. Иерсиниоз, кишечная форма

1. - б

2. - в

3. - Е

4. – Б

Задача 2. Иерсиниозный артрит

1. – в

2. – г

3.1 – а

2. – б

3. – а

4. – в

Задача 3. 1. Возможная причина - инфицированное молоко за счет болезни матери (мастит и др.)

2. Необходимо провести бактериологическое исследование грудного молока.

3. Стафилококки, кишечная палочка, клебсиеллы, псевдомонады и др.

4. Тактика педиатра - до исчезновения в молоке микроорганизмов перевести на донорское вскармливание.

Задача 4. 1. О синегнойной палочке.

2. Да, имеет, т. к. может быть ассоциированная гнойная инфекция, вызванная 2, 3 и более микроорганизмами.

3. Могут встретиться Гр- флора (кишечная палочка, протей и др.). На Гр+ флору (стафилококки, стрептококки и др.) пиоцианин синегнойной палочки действует губительно.

Задача 5. 1. Возможная причина - внутригоспитальная вспышка, вызванная стафилококком или другими условно-патогенными микроорганизмами (клебсиеллами).

2. Гной от больных, слизь из зева и носа медперсонала, смывы с рук, предметов окружающей среды, воздух, белье, пеленки.

3. На основании совпадения возбудителя, выделенного из исследуемого материала, его антибиотикограммы, фаготипа, выявления источника инфекции, дезинфекция помещения, воздуха, белья (автоклавирование и др.)

Задача 6. 1. Посев крови.

2. Антибиотики, после определения чувствительности микробов. Антистафилококковая плазма, стафилококковый иммуноглобулин, антифагин.

Задача 7. 1. Стафилококки оказались устойчивыми к применяемым препаратам.

2. Это можно проверить с помощью дисков с антибиотиками на чашках с культурой стафилококка.

3. Анатоксин, антифагин, вакцина, аутовакцина, стафилококковый иммуноглобулин.

Задача 8. 1. И «да» и «нет».

2. Синегнойная палочка, кишечная палочка, чудесная палочка, протей, клебсиелла.

Задача 9. 1. О бактериоидах.

2. Создать анаэробные условия и приготовить специальные питательные среды, т.к. бактериоиды очень прихотливы.

Задача 10. 1. Нагноение ожоговой поверхности вызвано в данном случае несколькими микробами. Необходимо каждого из них выделить в чистой культуре и определить чувствительность каждого в отдельности к антибиотикам. Суммарно определять чувствительность микрофлоры гноя к антибиотикам допускается лишь для дачи сигнального ответа.

2. Различной скоростью роста микроба - ассоциантов.

Задача 11. 1. Кишечная палочка, стафилококки, синегнойная палочка, протей, клебсиелла и др.

2. По культуральным свойствам, пигментообразованию, ферментативным свойствам.

3. Антибиотики, после определения чувствительности, фаги, сульфаниламиды.

Задача 12. 1. Кишечную палочку, протей.

2. По культуральным свойствам (у протей ползучий рост), по биохимическим свойствам и антигенной структуре.

3. По титру антител в сыворотке больного при постановке реакции с аутоштаммами.

Задача 13. 1. Посевом на кровяной агар, желточно-солевой агар.

2. Стрептококки, стафилококки.

3. Пенициллин в случае стрептококка; при выделении патогенного стафилококка антибиотики только после проверки на чувствительность.

Задача 14. 1. Наличие иммунитета можно проверить в реакции РПГА с эритроцитарным диагностикумом. Ранее употреблявшаяся р. Пика в настоящее время не ставится.

2. Выявить носителя среди персонала и детей (мазки из зева)
3. Пенициллин для лечения, гамма-глобулин - для профилактики.

Задача 15. 1. Из очага рожистого воспаления выделяется аналогичный стрептококк.

2. Выделение культуры стрептококка - аллергическая проба на стрептококковый аллерген.
3. Пенициллин, антибиотики резерва.

Задача 16. 1. Синегнойная палочка.

2. Бактериологическое исследование, определение пиоцинов.
 3. Пиобактериофаг: диоксилизин. Аминогликозиды – гентамицин.
- Бета-лактамы антибиотики (карбенициллин) после проверки на чувствительность.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА СЕПСИС ИССЛЕДУЮТ:

- 1) испражнения
- 2) мочу
- 3) слизь из зева
- 4) кровь
- 5) мокроту

Ответ: 4

2. ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ КРОВИ БОЛЬНОГО С ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫМ ДИАГНОЗОМ «СЕПСИС» ПРОИЗВОДИТСЯ ПОСЕВ НА СРЕДЫ:

- 1) клиглера
- 2) желчный бульон
- 3) МПБ
- 4) сахарный бульон
- 5) сывороточный бульон

Ответ: 4

3. ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТАФИЛОКОККА ПРОВОДИТСЯ ПО:

- 1) ферменту плазмокоагулазе
- 2) капсулообразованию
- 3) цвету колоний на среде Плоскирева
- 4) аллергической пробе
- 5) росту на бессывороточном агаре

Ответ: 1

4. ПРИ ПОДОЗРЕНИИ НА ПИЩЕВОЕ ОТРАВЛЕНИЕ СТАФИЛОКОККОВОЙ ЭТИОЛОГИИ ПРОВОДЯТ:

- 1) серологическое исследование
- 2) аллергическую пробу
- 3) биопробу на белых мышах
- 4) биопробу на котятах-сосунках
- 5) биопробу на кроликах

Ответ: 4

5. В АССОЦИИРОВАННОЙ ГНОЙНОЙ РАНЕ ОБНАРУЖЕНЫ:

- 1) бруцеллы
- 2) франциселлы
- 3) клебсиеллы
- 4) иерсинии

Ответ: 3

6. ОХАРАКТЕРИЗОВАТЬ РОСТ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ:

- | | |
|------------------------|--|
| 1) стафилококк | А. Ползучий рост |
| 2) протей | Б. Колонии с красным пигментом |
| 3) чудесная палочка | В. Колонии и питательная среда окрашены в синий цвет |
| 4) клебсиелла | Г. Колонии с золотистым пигментом |
| 5) синегнойная палочка | Д. Колонии бесцветные |
| 6) кишечная палочка | |

Ответы: 1-Г, 2-А, 3-Б, 4-Д, 5-В, 6-Д

7. ПЕРЕЧИСЛИТЬ ВИДЫ БАКТЕРИЙ, ОТНОСЯЩИХСЯ К ПРЕДСТАВИТЕЛЯМ НОРМАЛЬНОЙ МИКРОФЛОРЫ ИЛИ ВЫЗЫВАЮЩИХ ДАННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

- | | |
|-------------------------------|---|
| 1) гемолитический стрептококк | А. Представитель нормальной микрофлоры организма человека |
| 2) кишечная палочка | Б. Возбудитель скарлатины |
| 3) стафилококк | В. Возбудитель желудочно-кишечных заболеваний |
| 4) протей | Г. Возбудитель гнойной раны |
| 5) синегнойная палочка | Д. Возбудитель дифтерии |

Ответы: 1-Б, 2-А, 3-А,В,Г, 4-В,Г, 5-В,Г.

8. НАЗВАТЬ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДАННЫХ БАКТЕРИЙ:

- | | |
|------------------------------|--------------------------|
| 1) стафилококк | А. Ацетамидная среда |
| 2) сальмонелла брюшного типа | Б. Сахарный бульон |
| 3) кишечная палочка | В. Желчный бульон |
| 4) стрептококк | Г. Желточно-солевой агар |
| 5) синегнойная палочка | Д. Среда Эндо |

Ответы: 1-Б, Г, 2-В, Д, 3-Д, 4-Б, 5-А,Д.

9. НАЗВАТЬ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИЕ ПРИЗНАКИ ДАННЫХ БАКТЕРИЙ:

- | | |
|---------------------|---------------------------------|
| 1) стафилококк | А. Пигментообразование |
| 2) клебсиелла | Б. Рост на среде Эндо |
| 3) кишечная палочка | В. Рост на кровяном агаре |
| 4) чудесная палочка | Г. Плазмокоагулазная активность |
| 5) стрептококк | Д. Капсулообразование |

Ответ: 1-А, В, Г, 2-Д, 3-Б, 4-А, Б, 5-В, Д, Г

10. ПЕРЕЧИСЛИТЬ СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДАННЫХ ИНФЕКЦИЙ:

- | | |
|---------------------------------|-----------------------|
| 1) сепсис | А. Пенициллин |
| 2) скарлатина | Б. Иммунная плазма |
| 3) ассоциированная гнойная рана | В. Антибиотик резерва |
| 4) ангина | Г. Аутовакцина |
| 5) фурункулез | Д. Иммуноглобулин |

Ответ: 1-Б, В, Д, 2-А, В, 3-В, Д, 4-А, В, 5-Б, В, Г.

11. ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ СТАФИЛОКОККОВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ИСПОЛЬЗУЮТ:

- 1) иммунную плазму
- 2) аутовакцину
- 3) антитоксическую сыворотку
- 4) интерферон
- 5) лектобактерин

Ответ: 1, 2, 3

12. СТАФИЛОКОККИ ВЫЗЫВАЮТ:

- 1) сепсис
- 2) гастроэнтерит
- 3) фурункулез
- 4) пиодермию
- 5) паронихий

Ответ: 1, 2, 3, 4, 5

13. ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ ИСПОЛЬЗУЮТ:

- 1) ферментативные свойства
- 2) антибиотикограмму
- 3) пигментообразование
- 4) пилцисвары
- 5) фаговары

Ответ: 1, 2, 3, 4, 5

14. К факторам вирулентности стафилококка относятся:

- 1) гемолизины
- 2) плазмокоагулаза
- 3) лецитоветилаза
- 4) коллагеназа
- 5) нейраминидаза

Ответ: 1, 2, 3

15. К МЕТОДАМ ДИАГНОСТИКИ СТАФИЛОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ ОТНОСЯТСЯ:

- 1) РСК с парными сыворотками
- 2) бактериологический
- 3) аллергический
- 4) иммуно-ферментивный анализ
- 5) реакция преципитации

Ответ: 2, 4

16. НАЗОВИТЕ ВОЗБУДИТЕЛЯ КОЛИЭНТЕРИТА:

- 1) *Leptospira interrogans*
- 2) *Proteus vulgaris*
- 3) *Shigella Sonnae*
- 4) ЭПКП 1 категории
- 5) ЭПКП 2 категории

Ответ: 4

17. НАЗОВИТЕ ЦВЕТ КОЛОНИИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ НА СРЕДЕ ЭНДО:

- 1) красный
- 2) синий
- 3) серый
- 4) белый
- 5) желтый

Ответ: 1

18. ЭТКП ВЫДЕЛЯЮТ:

- 1) плазмокоагулазу
- 2) фибринолизин
- 3) лецитовителлазу
- 4) экзотоксин

Ответ: 4

19. СПЕЦИФИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА КОЛИЭНТЕРИТА ПРОВОДИТСЯ:

- 1) аттенуированной вакциной
- 2) анатоксином
- 3) БЦЖ
- 4) полифагом
- 5) не проводится

Ответ: 5

20. ПОДБЕРИТЕ СООТВЕТСТВУЮЩИЙ МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ.

- | | |
|---------------|---|
| 1) к-антиген | А. Энтеротропное действие |
| 2) экзотоксин | Б. Тормозит агглютинацию живых
кишечных палочек в гомологичной О-сыворотке |
| 3) эндотоксин | В. Обладает пирогенным действием |
| 4) гемолизин | Г. Разрушает эритроциты
Д. Оказывает нейротоксическое действие |

Ответы: 1-Б, 2-А, Д, 3-А, 4-Г.

21. НАЗОВИТЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ЭШЕРИХИЯМИ.

- | | |
|-----------------------|--------------------------------|
| 1) условно-патогенные | А. Колиэнтерит у грудных детей |
| | кишечные палочки |
| 2) ЭПКП 1 категории | Б. Холероподобные заболевания |
| 3) ЭПКП 2 категории | В. Колисепсис, холецистит |

Ответы: 1-В, 2-А, 3-Б, 4-А, Б.

22. НАЗОВИТЕ ИНДИКАТОРЫ БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ ПРИ РОСТЕ НА СРЕДЕ КЛИГЛЕРА.

- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| 1) изменение цвета | А. Сбраживание лактозы |
| | столбика среды |
| 2) изменение цвета | Б. Разложение белков до индола |
| 3) почернение по ходу | В. Сбраживание углеводов |
| | с образованием газа |
| 4) появление пузырьков | Г. Сбраживание глюкозы посева |
| 5) изменение цвета полоски | Д. Разложение белков до газа |
| бумаги с ацетатом свинца | сероводорода |
| 6) разрыв среды | |

Ответы: 1-Г, 2-А, 3-Д, 4-В, 5-Б, 6-В.

23. ПОДБЕРИТЕ ТЕРМИНЫ, ЭКВИВАЛЕНТНЫЕ К ДАННЫМ ПОНЯТИЯМ.

- | | |
|----------------------|--------------------------------------|
| 1) колиэнтерит | А. Воспаление желчного пузыря |
| 2) цистит | Б. Воспаление мочевого пузыря |
| 3) холецистит | В. Воспаление тонкого кишечника |
| 4) колисепсис | Г. Форма взаимоотношений между |
| | возбудителем и организмом человека |
| | без проявлений явной болезни |
| 5) бессимптомное | Д. Кишечные палочки циркулируют |
| бактерионосительство | и размножаются в кровеносных сосудах |
| 6) энтерит | |

Ответы: 1-В, 2-Б, 3-А, 4-Д, 5-Г, 6-В.

24. НАЗОВИТЕ ПРОВОДИМЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ КОЛИЭНТЕРИТА.

- | | |
|-------------|---|
| 1) 1-й день | А. Изучение культуры на скошенном агаре |
| 2) 2-й день | Б. Постановка РА |
| 3) 3-й день | В. Изучение роста на среде Эндо |
| 4) 4-й день | Г. Посев фекалий на среду Эндо |

Ответы: 1-Г, 2-Б, В, 3-А, Б, 4-Б.

25. ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КОЛИЭНТЕРИТА НАЗНАЧАЮТ:

- 1) левомецетин
- 2) неомицин
- 3) тетрациклин
- 4) интерферон
- 5) нистатин

Ответы: 1, 2, 3

26. ДЛЯ РЕТРОСПЕКТИВНОГО ДИАГНОЗА КОЛИЭНТЕРИТА ПРИМЕНЯЮТСЯ.

- 1) РА
- 2) РСК Борде-Жангу
- 3) РПГА
- 4) реакция Асколи
- 5) реакция Райта

Ответы: 1, 3

27. НАЗОВИТЕ МЕХАНИЗМЫ ПЕРЕДАЧИ КИШЕЧНОЙ ПАЛОЧКИ.

- 1) через кровососущих членистоногих.
- 2) фекально-оральный
- 3) вертикальный
- 4) с зараженными предметами
- 5) прямой контактный

Ответы: 2, 4

28. НАЗОВИТЕ МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ КОЛИЭНТЕРИТА.

- 1) иммунофлюоресцентный
- 2) бактериологический
- 3) серологический

Ответы: 2, 3

29. У ЗДОРОВЫХ НОСИТЕЛЕЙ ЭПКП ЛОКАЛИЗУЕТСЯ.

- 1) в желчном пузыре
- 2) в крови
- 3) в моче
- 4) в кишечнике

Ответы: 4

30. НАЗОВИТЕ МЕХАНИЗМЫ ОТЯГОЩЕННОГО ТЕЧЕНИЯ АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ.

- 1) выраженная протеолитическая активность
- 2) множественная лекарственная устойчивость
- 3) усиление действия детерминант вирулентности основного возбудителя

Ответы: 1, 2, 3

**Примеры этиологической значимости некоторых
условно-патогенных микроорганизмов**

Микроорганизмы	Обычное место обитания	Виды инфекционных процессов
Staphylococcus epidermidis и другие коагулазо-отрицательные стафи-лококки и Micrococcus spp.	Кожа и слизистые оболочки человека и животных	Связанные с инородными телами (швы, шунты, катетеры и др.) инфекции ран и суставов, перитониты, эндокардиты, вагиниты, сепсис, связанный с внутрисосудистыми канюлями, инфекции мочевых путей
Streptococcus viridans	Ротоглотка, ЖКТ	Эндокардиты, отит, синусит, абсцесс головного мозга, абдоминальный абсцесс, септицемия
Corynebacterium spp. Propionibacterium spp.	Кожа Слизистые человека и животных, почва, вода	Инфекции, связанные с протезными устройствами, плевропневмонии, эндокардиты, абсцессы, раневые инфекции
Bacillus spp.	Повсеместно	Раневые инфекции, септицемия
Branhamella catarrhalis	Ротоглотка	Синуситы, отиты, бронхиты, пневмонии при иммунодефицитах
Pseudomonas spp., Неферментирующие, грамотрицательные бактерии	Повсеместно в окружающей среде. Некоторые виды входят в состав нормальной микрофлоры тела человека. Их численность увеличивается при заболеваниях, антибиотикотерапии, госпитализации	Инфекции, поражающие многие органы и системы, особенно у ослабленных больных
Vibrio spp.	Морские и соленые воды	Раневые инфекции

Список рекомендуемой литературы

Основная литература:

1. Воробьев А. А., Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов медицинских вузов./ Под ред. А. А. Воробьева. 2-е изд., испр. и доп. – М., 2006 г.
2. Хаитов Р. М., Иммунология: учебник для вузов с компакт диском. – М., 2006 г.

Дополнительная литература:

1. Поляк М. С., Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии. / М. С. Поляк, В. И. Сухаревич, М. Э. Сухаревич. - СПб., 2008 г.
2. Поздеев О.К., Медицинская микробиология: учебник для вузов 3-е изд. / Под. ред. В. И. Покровского. – М., 2006г.
3. Воробьев А. А., Медицинская и санитарная микробиология. / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Широбоков. – М., 2003г.
4. Воробьев А. А., «Иммунология и аллергология», Атлас. / А. А. Воробьев, А. С. Быков. – М., 2006г.
5. Хаитов Р. М., «Иммунология» учебник второе издание. – М., 2011г.

Список использованной литературы

1. Алсынбаев М.М., Медведев Ю.А., Туйгунов М.М. Биопрепараты и ведущие направления их лечебно-профилактического применения. – Уфа, 2008г. – 99с.
2. Бухарин О. В. Антилизотимная активность бактерий и ее регуляция антибиотиками // Антибиотики и мед. биотехнология – 1987. -№8. – С. 597 – 602.
3. Бухарин О.В., Усвятцов Б.Я., Карташова О.Л. Биология патогенных кокков – Москва, 2002. – 281 с.
4. Булгаков А.К. Факторы вирулентности и лекарственной устойчивости некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae, их чувствительность к новому ряду азотсодержащих гетероциклов: Автореферат дисс. докт. мед. наук – Челябинск., 2000.-47с.

5. Габидуллин З.Г. Биологическая характеристика штаммов бактерий рода *Proteus*, выделенных при инфекционных процессах различной локализации: Автореферат дисс. докт. мед. наук – Саратов, 1990.-44с.
6. Габидуллин Ю.З. Сравнительная Характеристика некоторых биологических свойств монокультур и сокультивируемых вариаций бактерий родов *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*: Автореферат дисс. канд. мед. наук – Уфа, -2006.-25с.
7. Дисбиocenоз кишечника у детей: микроэкологическая характеристика, рациональная коррекция и профилактика. / Методические рекомендации – Уфа: 2003.- 58с.
8. Мавзютов А.Р. Молекулярно-генетические основы токсигенности условно-патогенных представителей *Enterobacteriaceae*: Автореферат дисс. канд. мед. наук – Челябинск, 2001.-40 с
9. Медицинская микробиология / под ред. Покровского В.И. – М., 2001. с.274- 378.
10. Определитель бактерий Берджи, т.1- М., 1997. с.180-194.
11. Соколов В. Ю. Антиинтерфероновая активность микроорганизмов: персистенция микроорганизмов – Куйбышев 1990. – С 83-93.
12. Суфияров Р.С 2Комплексное лечение гнойно-воспалительных заболеваний вызванных ассоциациями грамположительных и грамотрицательных бактерий (на примере *St. aureus* , *Pr. vulgaris* , *Morganella morganii* и *Enterobacter aggl*) Автореферат доктора мед. наук 2012. с 37.
13. Туйгунов М.М. Характеристика некоторых биологических бактерий рода *Citrobacter*, выделенных при инфекционных процессах различной локализации: Автореферат дисс. канд. мед. наук – Уфа, - 1998. - 24с.
14. Энтеробактерии / Голубева И.В., Килессо В.А. и др. – 1985, - с.23-197.
15. Agin T.S., Cantey Y.R., Boedeker E.C., Characterization of the eae gene from rabbit enteropathogenic *Escherichia coli* strain RDC – C – 1 and comparison to other eae Agene from bacteria that cause attaching-effacing lesions. // FEMS. Microbiol. Lett. – 1996.-V. 144/-p.249-258.

16. Aldova E. Schindler I., Nemec A. Biochemical indicators of *Citrobacter sedlakii*. //Epidemiol. Mikrobiol. Immunol. – 1995.-V. 44 – p. 57-64.
17. Baron E.I., Iones R.N. National survey of the in vitro spectrum of piperacillin – tazobactam tested against more than 40,000 aerobic clinical isolates from 236 medical centers. // Diagn. Microbiol. Infect. Dis.- 1995/ - V.21 – p. 141-150.
18. Bertin V. Girardean I.P., Michaud A.D. Contrepolis M. Characterization of 20k fimbria? a new adhesine of septicemic and diarrhea – associated *Escherichia coli* strains, that belongs to a family of adherins with N-acetyl-d-glucosamine recognition. // Infect. Immun. – 1996. – V.64 – p. 332-341
19. Laggiadro R.I. Favorable outcome possible in *Citrobacter* brain abscess. // Pediatr. Infect. Dis. J. – 1996. – V.15 – p. 557-558.
20. Schawer D.B., Zabel B.A., Pedraza I.F. et al. Genetic and biochemical characterization of *Citrobacter rodentium* sp. nov. // J. Clin. Microbiol. – 1995. – V. 33. – p. 2064-2070.

Габидуллин Зайнулла Гайнулинович
Савченко Татьяна Алексеевна
Туйгунов Марсель Маратович
Булгаков Айдар Казбекович
Давлетшина Гульшат Кинзябулатовна
Габидуллин Юлай Зайнуллович
Суфияров Ринат Сабитович
Усманова Ирина Николаевна
Хуснаризанова Рауза Фазыловна

**Условно-патогенные грамотрицательные
и грамположительные бактерии**

Учебное пособие для студентов

Лицензия № 0177 от 10.06.96 г.
Подписано к печати 26.11.2012 г.
Отпечатано на ризографе с готового оригинал-макета,
представленного авторами.
Формат 60x84 ¹/₁₆. Усл.-печ. л. 4,77.
Тираж 900 экз. Заказ № 10

450000, г. Уфа, ул. Ленина, 3,
Тел.: (347) 272-86-31
ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России

Сведения о составителях

Габидуллин Зайнулла Гайнулинович - заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор заслуженный деятель науки России.

Савченко Татьяна Алексеевна - доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, кандидат медицинских наук.

Туйгунов Марсель Маратович - профессор, кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук.

Булгаков Айдар Казбекович - профессор, кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук.

Давлетшина Гульшат Кинзябулатовна - доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, кандидат медицинских наук.

Габидуллин Юлай Зайнуллович - ассистент, кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, кандидат медицинских наук.

Суфияров Ринат Сабитович - ассистент, кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук.

Усманова Ирина Николаевна - доцент кафедры терапевтической стоматологии с курсом ИПО ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, кандидат медицинских наук.

Хуснаризанова Рауза Фазыловна - доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, кандидат медицинских наук.