

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Чеченский государственный университет
имени Ахмата Абдулхамидовича Кадырова»

Дохтукаева А.М.

**МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.
ГНОЙНО – ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И РАНЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ**

Учебно-методическое пособие

Грозный – 2026

**Печатается по решению Ученого совета
ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова»
протокол № 6 от 25.06.2026 г.
и по решению УМС
ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова»
протокол №8 от 16.06. 2026 г.**

УДК 579.61:616-002.3(075.8)

ББК 52.64я73

Д 55

Рецензенты: **Плиева А.М.**, д-р биол. наук, профессор кафедры биологии
Ингушского государственного университета

Ирисханова З.И., доцент кафедры ботаники, зоологии и
биоэкологии ФГБОУ ВО «Чеченский государственный
университет им. А.А. Кадырова»

Дохтукаева А.М. «Медицинская микробиология. Гнойно-воспалительные
и раневые инфекции». Учебно-методическое пособие: [Текст] / Дохтукаева А.М.
– Грозный: издательство ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет
им. А.А. Кадырова», 2026. – 80 с.

*Пособие составлено в соответствии с программой по медицинской
микробиологии для студентов биологических и медицинских факультетов
университетов и содержит теоретический материал, касающийся вопросов
характеристики возбудителей заболеваний человека бактериальной природы
(гнойно-воспалительных и раневых инфекций), их эпидемиологии, патогенеза и
лабораторной диагностики.*

© Дохтукаева А.М., 2026 г.

© ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет им. А.А. Кадырова», 2026 г.

Оглавление

Введение.....	5
Глава 1. Методы микробиологической диагностики.....	6
1.1 Выявление возбудителя.....	7
1.2 Выявление специфических антител в исследуемой сыворотке	10
1.3 Кожно-аллергические пробы	10
Глава 2. Общая характеристик гнойно-воспалительных инфекций.....	12
2.1 Понятие о гнойно-воспалительных и раневых инфекциях.....	12
2.2 Роль условно-патогенных микроорганизмов в этиологии гнойных процессов.....	13
2.3 Факторы патогенности гноеродных бактерий.....	13
Глава 3. Стафилококки – возбудители гнойных инфекций	14
3.1 Общая характеристика стафилококков	14
3.2 Факторы патогенности <i>S. aureus</i>	15
3.3 Заболевания, вызываемые коагулазоотрицательными стафилококками.....	18
3.4 Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций.....	20
3.5 Профилактика и терапия стафилококковых инфекций	22
Глава 4. Стрептококки- возбудители гнойных инфекций.....	24
4.1 Общая характеристика стрептококков	24
4.2 Антигены стрептококков и классификация по антигенным свойствам	25
4.3 Факторы патогенности <i>S. pyogenes</i>	27
4.4 Эпидемиология стрептококковых инфекций.....	31
4.5 Клинические проявления стрептококковых инфекций.....	32
4.6 Особенности иммунитета при стрептококковых инфекциях	34
4.7 Заболевания, вызываемые <i>S. agalactiae</i>	34
4.8 Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций	35
4.9 Лечение стрептококковых инфекций.....	41
Глава 5. <i>P. aeruginosa</i> –возбудитель гнойно-воспалительных инфекции	42
5.1. Общая характеристика синегнойной палочки	42
5.2 Антигены <i>P. aeruginosa</i>	43
5.3 Экология.....	44
5.4 Факторы патогенности <i>P. aeruginosa</i>	45
5.5 Пигменты <i>P. aeruginosa</i>	46
5.6 Патогенез синегнойной инфекции.....	47
5.7 Лабораторная диагностика	49
5.8 Лечение и специфическая профилактика.....	51
Глава 6. Облигатные анаэробы -возбудители гнойно-воспалительных и раневых инфекций.....	53
6.1 Общая характеристика	53
6.2 Экология и условия, способствующие развитию анаэробных инфекций.....	55
6.3 Патогенез гнойно-воспалительных неклостридиальных анаэробных инфекций	56

6.4 Лабораторная диагностика	58
6.5 Лечение гнойно-воспалительных инфекций, вызванных облигатными неспорообразующими бактериями.....	61
Глава 7. Облигатные анаэробы – возбудители газовой гангрены	62
7.1 Общая характеристика.....	62
7.2 Антигенный состав <i>C. perfringens</i>	63
7.3 Экология и эпидемиология возбудителей газовой гангрены	63
7.4 Факторы патогенности <i>C. perfringens</i>	63
7.5 Патогенез газовой гангрены.....	65
7.6 Лабораторная диагностика газовой гангрены.....	67
7.7 Профилактика и лечение газовой гангрены.....	69
Глава 8. Возбудитель столбняка.....	70
8.1 Общая характеристика возбудителя столбняка	70
8.2 Эпидемиология столбняка.....	71
8.3 Факторы патогенности <i>C. tetani</i>	72
8.4 Патогенез столбняка	73
8.5 Клинические проявления	74
8.6 Лабораторная диагностика столбняка	75
8.7 Профилактика столбняка	76
Использованная литература	78

Введение

Гнойно-воспалительные и раневые инфекции представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современной клинической медицины. Они занимают ведущее место в структуре хирургических заболеваний, осложнений послеоперационного периода, а также являются частой причиной сепсиса и летальных исходов. Этиологическая структура данных инфекций чрезвычайно разнообразна и включает представителей различных таксономических групп: стафилококки, стрептококки, грамотрицательные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, неферментирующие бактерии (псевдомонады, ацинетобактеры), а также анаэробные микроорганизмы.

Сложность диагностики и лечения гнойно-воспалительных процессов усугубляется ростом антибиотикорезистентности, формированием госпитальных штаммов и способностью возбудителей к образованию биопленок. В связи с этим, знание биологических свойств возбудителей, факторов патогенности, методов микробиологической диагностики и подходов к этиотропной терапии является обязательным компонентом профессиональной компетенции врача любой специальности.

Настоящее учебно-методическое пособие «Медицинская микробиология. Гнойно-воспалительные и раневые инфекции» подготовлено для студентов – биологов (профиль «Микробиология») и студентов медицинских специальностей, изучающих частную микробиологию.

Цель пособия: систематизировать и углубить знания обучающихся по разделу частной медицинской микробиологии, посвященному гноеродным бактериям.

В пособии представлены современные данные по таксономии, морфологии, культуральным и биохимическим свойствам основных возбудителей, подробно разобраны факторы патогенности, патогенез инфекций.

ГЛАВА 1. МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

Основная цель микробиологического исследования – определить возбудителя инфекционного заболевания или исключить наличие инфекции, то есть поставить окончательный диагноз. Для достижения цели используют различные подходы:

- ускоренную диагностику, включающую обнаружение возбудителя и его компонентов (антигенов, в том числе белковых токсинов, и специфических участков его генома).
- выделение из исследуемого материала возбудителя и его идентификация.
- обнаружение специфических антител в исследуемой сыворотке в диагностическом титре или выявление значительного нарастания титра антител в течение болезни;
- выявление состояния гиперчувствительности замедленного типа – ГЗТ (аллергия IV типа) с помощью кожно-аллергических проб.

Материалы для исследования. Выбор материала для исследования зависит от групп инфекционных болезней (кишечные, воздушно-капельные и др. инфекции), локализации патологического процесса, патогенеза и срока заболевания. Исследуют материал, полученный от больных, бактерионосителей и из объектов внешней среды. Клиническим материалом может служить: гной, кровь, мокрота, отделяемое ран, испражнения, рвотные массы, моча, спинномозговая жидкость и др. Кроме того, можно исследовать пищевые продукты, воду, смывы с различных поверхностей и т.п.

В первые дни болезни исследования направлены на обнаружение возбудителя или его компонентов. В более поздние сроки исследуют сыворотку крови (иногда другие биологические жидкости) с целью определения в них специфических антител.

Успешный результат микробиологического исследования во многом зависит от выполнения общих правил взятия и транспортировки клинического материала и учета индивидуальных особенностей подозреваемого возбудителя.

Материал берут с соблюдением асептики, помещают в стерильную посуду (иногда в транспортные среды или в раствор консерванта), тщательно укупоривают и возможно быстрее доставляют в бактериологическую лабораторию. Доставленные образцы исследуют различными методами - микроскопическим, бактериологическим, биологическим, серологическим, молекулярно-генетическим [2].

1.1 Выявление возбудителя

Для выявления возбудителя и его компонентов (антигенов, токсинов, фрагментов генома) применяют следующие методы, относящиеся к методам ранней или экспресс-диагностики.

Микроскопический (бактериоскопический) метод. Микроскопический метод простой и быстрый, но пригоден не при всех инфекциях.

Этот метод является ориентировочным и позволяет определить морфологические и тинкториальные свойства возбудителя при изучении фиксированных, окрашенных препаратов. Основным используемым методом окраски является метод Грама.

Исследование нативных препаратов (раздавленная и висячая капля) с помощью фазово-контрастной, темнопольной микроскопии дает возможность определить подвижность микроорганизмов.

При некоторых заболеваниях применение микроскопического метода позволяет поставить окончательный диагноз (например, при спирохетозах, острой гонорее др.).

Разновидностью микроскопического метода является люминесцентная микроскопия, позволяющая получить цветное, самосветящееся изображение с помощью люминесцентного микроскопа.

Метод иммунофлюоресценции (МИФ). Близок микроскопическому, сочетает наглядность микроскопического со специфичностью серологического метода, что повышает надежность выявления возбудителя или его антигенов в патологическом материале.

В гистологических препаратах МИФ позволяет обнаружить локализацию возбудителя в различных тканях.

Бактериологический метод. Целью бактериологического метода является выделение и идентификация чистой культуры возбудителя, определение чувствительности к антимикробным препаратам.

Исследуемый материал засевают на питательные элективные и дифференциально-диагностические среды в чашках Петри для получения изолированных колоний. Из выросших колоний выделяют чистую культуру возбудителя и идентифицируют ее путем изучения морфологических, тинкториальных, культуральных, антигенных свойств, биохимической активности и других характерных признаков, позволяющих выявить видовую принадлежность возбудителя. Одновременно определяют чувствительность выделенной культуры к антибиотикам.

Бактериологический метод позволяет поставить окончательный диагноз и является ведущим при многих бактериальных инфекциях. Недостатком метода является его трудоемкость и длительность: обычно ответ получают на 4-5-ый день, а при некоторых заболеваниях значительно позже (при туберкулезе - через месяц и более). Тем не менее, бактериологический метод считается «золотым стандартом» диагностики бактериальных инфекций и его постоянно совершенствуют.

Биологический метод. При этом методе используют восприимчивых лабораторных животных, чаще всего мышей. Целью данного метода является:

- обнаружение и идентификация бактериальных токсинов (столбнячного, ботулинического, токсинов возбудителей газовой гангрены) с помощью постановки реакции нейтрализации токсина антитоксином *in vivo* (биологическая проба);
- выделение возбудителя из исследуемого материала, первичное культивирование которого на питательных средах затруднено (возбудитель туляремии).

Серологический метод. Целью серологического метода является:

– обнаружение антигенов и токсинов, возбудителя в исследуемом материале с помощью серологических реакций ИФА, МИФ, РИА, РОНГА и РНАТ.

Проведение исследования облегчает наличие различных коммерческих тест-систем-наборов, в которых содержатся все необходимые ингредиенты для постановки реакции.

Молекулярно-генетические методы исследования. Предназначены для выявления в исследуемом материале специфических участков генома возбудителя (фрагментов ДНК, РНК), что является доказательством присутствия болезнетворного агента, дает основание для постановки окончательного диагноза (ПЦР, ДНК-гибридизация, РНК-гибридизация).

Основным методом является полимеразная цепная реакция (ПЦР), обладающая высокой чувствительностью и специфичностью. ПЦР основана на многократном копировании (амплификации) в исследуемом материале немногочисленных исходных специфических фрагментов ДНК возбудителя, которых первоначально было несколько копий.

ПЦР проводят в специальном аппарате-амплификаторе в присутствии термостабильной ДНК-полимеразы, двух типов праймеров и нуклеотидов, при трехкратной смене температурного режима в каждом цикле амплификации. В течение 2-3 часов осуществляется 25-35 циклов, что ведет к накоплению значительного количества фрагментов ДНК исследуемого возбудителя.

Фрагменты ДНК после проведения амплификации определяют с помощью иммуноэлектрофореза в полиакриламидном геле или другими методами.

ПЦР находит все более широкое применение в диагностике многих бактериальных инфекций.

В последние годы появилась возможность количественного определения возбудителя с помощью разновидности реакции ПЦР в реальном времени [2].

1.2 Выявление специфических антител в исследуемой сыворотке

Обнаружение специфических антител в сыворотке больного является более поздним методом диагностики инфекционного заболевания, так как антитела появляются в крови в результате адаптивного гуморального иммунного ответа обычно на 2-й неделе болезни. Серологический метод применяется для подтверждения диагноза или для ретроспективной диагностики.

Постановка диагноза проводится путем:

- Определения титра антител в сыворотке больного и сравнения его с диагностическим титром для данного заболевания. Ставят серологические реакции агглютинации, РСК, РИГА и другие с последовательными разведениями сыворотки больного и известными антигенами-диагностикумами.
- Слежения за динамикой нарастанием титра антител в парных сыворотках больного. Исследуют парные сыворотки, взятые у больного с интервалом 2-3 недели. Нарастание титра антител в 4 раза и более по сравнению с началом заболевания является основанием для подтверждения диагноза.

Для выявления антител применяют также серологические реакции с мечеными специфическими и антиглобулиновыми антителами – ИФА, МИФ, РИА. Для их постановки применяют коммерческие тест-системы [2].

1.3 Кожно-аллергические пробы

При ряде инфекционных заболеваний развивается гиперчувствительность замедленного типа – ГЗТ (аллергия IV типа), обусловленная реакцией сенсibilизированных Т-лимфоцитов на антигены возбудителя.

Для выявления ГЗТ при ряде инфекционных заболеваний (туберкулез, бруцеллез и др.) применяют кожно-аллергические пробы. Они обладают специфичностью, имеют диагностическое значение, но нередко бывают положительными не только у больных, но и у переболевших или вакцинированных.

Для постановки кожно-аллергической пробы на внутреннюю поверхность

предплечья, вводят раствор антигена внутрикожно. При положительной ГЗТ через 24-48-72 часа на месте введения возникает воспалительная реакция с покраснением и образованием инфильтрата. Сроки развития реакции и ее выраженность (размер эритемы и инфильтрата) зависят от применяемого антигена.

Антигены для постановки кожно-аллергических проб (аллергены) – это стандартные коммерческие биопрепараты. Их готовят из очищенных лизатов культур возбудителей (или вакцинных штаммов), иногда из взвеси убитых бактерий или из белковых фракций, выделенных из них [2].

ГЛАВА 2. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

2.1 Понятие о гнойно-воспалительных и раневых инфекциях

Гнойно-воспалительные инфекции представляют собой патологический процесс, характеризующийся местным и общим воспалением, вызванным внедрением и размножением гноеродных микроорганизмов в тканях макроорганизма. Раневые инфекции являются частным случаем гнойно-воспалительных процессов, развивающихся в области нарушения целостности кожных покровов или слизистых оболочек [4].

В патогенезе гнойной хирургической инфекции участвуют три важнейших фактора: возбудитель (микроорганизм), собственная микрофлора организма больного и реактивность макроорганизма.

Раневые инфекции являются частным случаем гнойно-воспалительных процессов, развивающихся в области нарушения целостности кожных покровов или слизистых оболочек.

Развитию инфекционного процесса способствуют угнетение защитных реакций организма, массивность дозы заражения и вирулентность возбудителя.

Осложнения после хирургических ран, как правило, вызывают госпитальные штаммы, циркулирующие в данном стационаре. В раны, возникшие вследствие травм, возбудители попадают с почвой, кусочками одежды и другими загрязненными предметами. Часто таким путем в рану заносятся клостридии – возбудители столбняка и газовой гангрены.

Раневые инфекции, как правило, имеют гнойный характер и являются частным случаем гнойно-воспалительной инфекции, подчиняясь тем же закономерностям. Они осложняют течение раневого процесса, препятствуют заживлению ран первичным натяжением, могут сопровождаться тяжелой интоксикацией с травматическим истощением организма, генерализацией инфекции с развитием сепсиса, что может привести к смертельному исходу.

2.2 Роль условно-патогенных микроорганизмов в этиологии гнойных процессов

Возбудители гнойно-воспалительных инфекций относятся преимущественно к условно-патогенным микроорганизмам. Это означает, что они практически всегда обитают в естественных резервуарах организма: стафилококки населяют кожные покровы и слизистые пазух носа, кишечная палочка и другие энтеробактерии входят в состав кишечной микрофлоры человека, анаэробы составляют до 90% эндогенной микрофлоры.

При чрезмерном размножении условно-патогенного микроорганизма в одном из естественных резервуаров или при попадании в стерильные в норме ткани (при нарушении их целостности) развивается гнойно-воспалительная реакция.

Спектр приоритетных патогенов гнойно-воспалительных заболеваний включает: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter cloacae* [6].

2.3 Факторы патогенности гноеродных бактерий

К основным факторам патогенности возбудителей гнойно-воспалительных инфекций относятся:

1. Адгезины – обеспечивают прикрепление к клеткам макроорганизма
2. Капсула и слизь – защищают от фагоцитоза
3. Ферменты патогенности: гиалуронидаза, коагулаза, фибринолизин, лецитиназа, протеазы и токсины (эндо- (липополисахариды грамотрицательных бактерий) и экзотоксины (белковые токсины грамположительных бактерий) [5].

ГЛАВА 3. СТАФИЛОКОККИ – ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

3.1 Общая характеристика стафилококков

Стафилококковые инфекции – гнойно-воспалительные заболевания человека с различной локализацией, клинической картиной, степенью тяжести (от легких локализованных до тяжелых септических форм). В любой части организма, куда попадают стафилококки, может формироваться патологический процесс, причем стафилококковые заболевания, как правило, вторичны. Объединяет эти заболевания единая этиология – возбудителями являются стафилококки.

Стафилококки включены в род *Staphylococcus*, который содержит около 60 видов, из них 14 видов являются комменсалами человека, основные из них - *S.aureus*, *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*.

Стафилококки представляют собой шаровидные клетки диаметром 0,5-1,5 мкм, в мазке располагаются поодиночке, парами, гроздьями, неподвижные, спор не образуют, могут иметь капсулу (образуется в организме и на полужидких средах с плазмой или сывороткой), грамположительные. Полиауксотрофы, нуждаются в различных аминокислотах, растут на обычных питательных средах, элективными являются молочно-солевой и желточно-солевой агар (ЖСА), так как стафилококки устойчивы к высокому содержанию NaCl (10-15%), активно гидролизуют белки и липиды, синтезируют каротиноидные пигменты (от них зависит цвет колоний), температурный оптимум 35°-37°С, рН 6,2- 8,4.

Являются факультативными анаэробами, в анаэробных условиях у них репрессирован синтез ферментов цикла Кребса и электронно-транспортной сети.

У стафилококков выделяют более 50 антигенных субстанций, разделяемые на родовые, видовые и типовые. Родовые антигены могут перекрестно реагировать с изоантигенами организма человека (эритроциты, клетки почек, кожа, и др.) и приводить к аутоиммунной патологии. Видовые антигены связаны с тейхоевыми кислотами, а у *S.aureus* еще с белком А.

Антигенные свойства стафилококков не используются при идентификации выделенных культур.

Стафилококки среди неспорообразующих бактерий являются одними из самых резистентных во внешней среде, устойчивы к низким и высоким температурам. Устойчивы ко многим химическим препаратам, в частности к чистому этанолу, более чувствительны к дезинфицирующим веществам (раствор фенола убивает их через 10-30 минут) и очень чувствительны к анилиновым красителям, например, к кристаллвиолету (1:500000) и бриллиантовому зеленому (1:1000000), что используется при лечении стафилококковых заболеваниях кожи.

Экология и эпидемиология. Стафилококки широко распространены, выделяются как от человека, так и от животных. У человека они являются представителями нормальной микрофлоры различных экологических ниш. Примерно у 60% людей носительство *S.aureus* временное (от нескольких дней до нескольких недель), приблизительно у 20% людей носительство носит длительный характер (месяцы и даже годы). Хроническое носительство *S.aureus* наблюдается часто у медицинского персонала стационаров.

В связи с тем, что стафилококки являются частью аутофлоры кожи и слизистых оболочек, они могут вызывать эндогенную инфекцию. При экзогенной инфекции путями передачи могут быть контактно-бытовой, воздушно-капельный, воздушно-пылевой, алиментарный (при пищевых интоксикациях) и искусственный (результат медицинских манипуляций).

Источниками инфекции являются больные, особенно с открытыми очагами поражения (нагноившиеся раны, фурункулы, гнойный конъюнктивит, ринит, пневмония и пр.) в остром периоде заболевания, а также «здоровые» бактерионосители (часто персонал родильных домов, больниц, детских учреждений и пр.) [6].

3.2 Факторы патогенности *S.aureus*

Стафилококки по способности секретировать фермент плазмокоагулазу подразделяются на коагулазоположительные и коагулазоотрицательные. У

человека коагулазоположительный вид – *S.aureus*, коагулазоотрицательные виды – *S.epidermidis*, *S.saprophyticus*, *S.hominis*, *S.haemolyticus*, *S.capitis*, *S.xylois* и др. Подавляющее число стафилококковых инфекций вызываются *S.aureus*, являющимся наиболее патогенным.

У бактерий этого вида имеются факторы адгезии и колонизации, инвазии, они способны противостоять фагоцитозу и секретируют различные токсические субстанции.

Факторы адгезии: набор поверхностных белков-адгезинов (обеспечивают прикрепление стафилококков к различным биологическим субстратам – муцину слизистых оболочек, протеогликанам соединительной ткани и эндотелиоцитам и др.), полисахаридная капсула, капсулоподобный полисахарид, тейхоевые и липотейхоевые кислоты, нейроминидаза.

Факторы агрессии и инвазии: набор ферментов, среди них фибринолизин, гиалуронидаза, липазы (разрушают жировые «пробки» в волосяных фолликулах), лецитовителлаза, ДНК-аза, лейкоцидин.

Перечисленные факторы могут ингибировать хемотаксис, защищать клетки от захвата фагоцитами и обеспечивать выживание и размножение стафилококков внутри фагоцитов, к ним относятся:

- полисахаридная капсула – механически защищает бактерии от фагоцитов, способствует агрегации клеток стафилококков и этим повышает их адгезию, защищает от бактериофагов, что дает им селективное преимущество перед бескапсульными клетками; некоторые штаммы образуют капсулоподобный полисахарид, обладающий теми же биологическими функциями;
- белок А – располагается поверх пептидогликана, ковалентно с ним связан, представляет собой длинные линейные молекулы, отходящие перпендикулярно от его поверхности; реагирует с Fc-фрагментом Ig, окружая клетку стафилококка «чехлом» из Ig, чем подавляет опсоническую активность антител (это свойство белка А используется в реакции коаггутинации), способствует адгезии. Биологическими свойствами белка А является также индукция интерферона, активация комплемента, усиление активности нормальных киллеров;

- тейхоевые и липотейхоевые кислоты – помимо адгезивной функции ингибируют поглотительную активность фагоцитов, вызывают активацию комплемента по альтернативному пути, оказывают некротическое действие на клетки организма (некроз коркового слоя почек);
- пептидогликан клеточной стенки – сильный хемоаттрактант для лейкоцитов, активатор комплемента по классическому и альтернативному пути, связывает опсонизирующие факторы сыворотки, чем снижает активность фагоцитоза, оказывает пирогенный эффект (при поглощении стафилококков фагоциты выделяют эндогенный пироген), усиливает синтез ИЛ-1;
- плазмокоагулаза – вызывает свертывание плазмы и нити фибрина формируют псевдокапсулы вокруг клетки стафилококка, препятствуя его контакту с фагоцитом;
- каротиноидные пигменты – инактивируют бактерицидные формы кислорода внутри фагоцита;
- каталаза – подавляет миелопероксидазную активность внутри фагоцита;
- стафилококковые токсины (лейкоцидин и альфа-, бета-, гамма- гемолизины) – разрушают фагоциты;
- альфа-гемолизин – состоит из А- и В-субъединиц и играет очень важную патогенетическую роль. Он взаимодействует с рецепторами ганглиозидов, при этом внеклеточные протеазы отщепляют токсический компонент А, который вызывает повышение проницаемости мембран, что приводит к глубоким метаболическим нарушениям и в конечном итоге к гибели клетки;
- дельта-токсин - являясь гидрофобным, легко присоединяется к мембранам клеток и приводит к их разрушению, он повреждает гораздо больше типов тканей, чем альфа-токсин. Этот токсин выделяют почти все штаммы *S.aureus*, полученные от больных. Продукция дельта-токсина прямо пропорциональна вирулентности штаммов;
- лейкоцидин – действует избирательно на мембраны лейкоцитов, преимущественно на нейтрофилы, вызывает нарушение водно-электролитного баланса и гибель клеток.

- эксфолиативные токсины А и В – различаются по антигенным свойствам, чувствительности к температуре (А-термостабильный, В- термолабильный), локализации генов, ответственных за их синтез (токсин А-хромосомные гены, токсин В-плазмидные);
- токсин синдрома токсического шока (СТШ) – оказывает вазотропное, нейротропное действие, является суперантигеном;
- энтеротоксины (А, В, С, Д Е) – являются суперантигенами, вызывают стафилококковые пищевые интоксикации.

К факторам, способствующим распространению стафилококковых инфекций, можно отнести уникальную экологическую пластичность стафилококков, связанную с подвижностью R-генов, входящих в состав транспозонов, что способствует развитию резистентности к антибиотикам и другим антибактериальным средствам. Резистентность к антибиотикам проявляется в продукции ферментов, разрушающих антибиотики – плазмидозависимым бета-лактамазам. Особую опасность представляют, особенно в стационарах, так называемые «метициллин-резистентные стафилококки», у которых резистентность является хромосомной. Эти штаммы *S.aureus* резистентны ко всем бета-лактаминам антибактериальным препаратам, и, приобретая R-плазмиды, они могут быть устойчивыми также к эритромицину, тетрациклину, левомицетину, клиндамицину и аминогликозидным антибиотикам.

Входными воротами могут быть повреждения кожи и слизистых оболочек носоглотки, зева, полости рта, дыхательных путей, конъюнктивы глаз, половых органов, пупочная ранка и др. Клинические проявления стафилококковых инфекций разнообразны, могут поражаться практически любые ткани человека [2, 7].

3.3 Заболевания, вызываемые коагулазоотрицательными стафилококками

Коагулазоотрицательные стафилококки – это представители индигенной микрофлоры кожи, слизистых оболочек носа, ротовой полости, мочевыводящих

путей, нижних отделов кишечника. Эти стафилококки слабо вирулентны, не обладая естественной инвазивностью, они проникают в организм благодаря травматическим инструментальным процедурам, применению искусственных протезов и пр. и вызывают заболевания у больных с резко сниженной реактивностью.

S.epidermidis – факторы патогенности представлены полисахаридным поверхностным слизистым слоем и компонентами клеточной стенки (пептидогликан, тейхоевые и липотейхоевые кислоты). Эпидермальный стафилококк обладает гидрофобностью поверхностных структур, что обеспечивает прочную адгезию к субстрату и к полимерным деталям, используемым в медицинской аппаратуре (протезы, катетеры, дренажи и пр.). Эпидермальный стафилококк вызывает эндокардиты, артриты, поражает мочевыводящую систему. Возникновение заболеваний связано, как правило, с использованием инфицированных пластических материалов при хирургических вмешательствах (установление искусственных сердечных клапанов, применение сосудистых катетеров, протезов и пр.), проведением лечебных и диагностических манипуляций на мочевыводящей системе.

S.saprophyticus – слабо вирулентный, заселяет кожные покровы половых органов и слизистую оболочку мочеиспускательного канала. Вызывают циститы, пиелонефриты, эндокардиты. Заболевания возникают у людей с резко сниженной резистентностью, обычно в результате медицинских манипуляций.

Иммунитет после перенесенных стафилококковых инфекций носит гуморальный и клеточный характер, вырабатывается как против антигенов микробной клетки, так и секретируемых ферментов и токсинов. Основная роль в защите организма от стафилококковой инфекции принадлежит опсонофагоцитарным реакциям, их ослабление повышает чувствительность к стафилококкам. Однако, учитывая способность *S.aureus* скрываться от антител-опсонинов в «псевдокапсуле» из сгустков фибрина (результат действия плазмокоагулазы) или внутри фагоцитов (незавершенный фагоцитоз) можно видеть, что антистафилококковый иммунитет не полный, не напряженный и

допускает повторные стафилококковые инфекции.

3.4 Лабораторная диагностика стафилококковых инфекций

Для диагностики стафилококковых инфекций применяют бактериологический – основной и серологические методы. Микроскопический метод обычно не проводят из-за его малой информативности.

Исследуемые материалы в зависимости от локализации поражения и клинических проявлений могут быть гной, кровь, слизь из зева, носа, отделяемое ран, мокрота, испражнения и др.

Бактериологический метод: на 1-м этапе исследуемый материал засевают на молочно-солевой, желточно-солевой агар (ЖСА), кровяной агар. Засеянные чашки Петри выдерживают в термостате при 37°C в течение 2 суток или одни сутки в термостате и одни сутки на свету при комнатной температуре.

2-й этап: колонии стафилококка на средах круглые, блестящие, пигментированные, на средах с желтком *S.aureus* может образовывать радужный венчик (секреция лецитовиттелазы), на кровяном агаре колонии *S.aureus* окружены зоной полного гемолиза. Эти колонии пересевают для получения чистой культуры и инкубируют 24 часа при 37°C.

3-й этап: проводят видовую идентификацию на основании изучения комплекса биологических свойств (табл.1). В настоящее время для идентификации культур стафилококков могут применяться биохимические тест-системы, например, API-20 Staph и др.

У выделенных культур изучают чувствительность к антибиотикам и другим антимикробным препаратам методом бумажных дисков или серийных разведений.

У *S.aureus* можно проводить внутривидовую дифференциацию – фаготипирование с целью установления источника инфекции и путей распространения возбудителя.

Штаммы стафилококков лизируются, как правило, несколькими фагами, что, видимо, зависит от пестроты рецепторных структур. Термин «фаготип»

применительно к стафилококку обозначает штамм, относительно стабильно реагирующий с одним или несколькими типовыми фагами.

В последние годы получает распространение электрофоретический метод внутривидового титрования стафилококков по спектрам образуемых ими внеклеточных белков. Для выявления экзотоксинов применяют ИФА.

Для экспресс-идентификации применяют тест латекс-агглютинации с латекс-шариками, нагруженными антителами к белку А и другим антигенам *S.aureus*.

Таблица 1. Дифференциальные признаки основных видов стафилококков

Признак	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Плазмокоагулаза	+	—	—
ДНК-аза	—	—	—
Гемолиз	+	+ замедленно	—
Фосфатаза	+	+	
Золотистый пигмент	+	—	—
Сбраживание маннита	+	—	—
Окисление маннита	+	—	+
Трегалоза окисление	+	—	+
Манноза окисление	+	+	—
Нитратредуктаза	+	+ замедленно	—

Серологический метод не имеет большого значения в диагностике стафилококковых инфекций. Его используют при хронических стафилококковых инфекциях, при которых не удалось выделить возбудителя.

Применяют РИГА, ИФА для выявления антител к тейхоевым кислотам и к видоспецифическим антигенам. Повышение титра антител к тейхоевым кислотам у больных с бактериемией рассматривается как неблагоприятный признак, так как у них может развиваться стафилококковый эндокардит. Иногда определяют повышение титра антитоксинов в реакции нейтрализации.

Серологическая диагностика по определению антигенов находит применение в диагностике стафилококковых пищевых интоксикаций для выявления стафилококковых энтеротоксинов.

Наиболее чувствительными реакциями являются РИГА, ИФА, реакция преципитации в геле с использованием высокоспецифичных по типу токсина сывороток.

3.5 Профилактика и терапия стафилококковых инфекций

Профилактика стафилококковых инфекций должна быть направлена на все звенья эпидемиологической цепи: источник инфекции, пути распространения и восприимчивость к инфекции. Специфическая профилактика не разработана.

Лечению подлежат все больные с тяжелой и средней тяжести формами инфекции. Терапия стафилококковых инфекций проводится комплексно: ликвидация возбудителя, дезинтоксикация и восстановление обменных нарушений и повышение защитных сил организма. Основным является воздействие на возбудителя этиотропными средствами – антибиотиками (с учетом определения чувствительности к ним выделенной культуры). В первую очередь назначают (3-лактамные антибиотики, действующие на стафилококки - оксациллин, аминопенициллины (ампициллин, амоксициллин), цефалоспорины 1, 2-го поколений (цефамезин, цефалексин, цефамандол), карбапенемы (имипенем). При резистентности к этим антибиотикам назначают линкосамиды (линкомицин, клиндамицин) и макролиды (рокситромицин, азитромицин). При выделении метициллинрезистентных *S.aureus* (MRSA), у которых имеется перекрестная резистентность ко всем антибиотикам бета-лактамового ряда, назначают антибиотики резерва группы гликопептидов – ванкомицин,

линезолид, Ко-тримаксозол, линезолид.

Комплексная терапия включает специфические препараты – гипериммунный антистафилококковый иммуноглобулин, анатоксин стафилококковый, стафилококковую вакцину (инактивированную корпускулярную или химическую), стафилококковый бактериофаг [2, 3].

ГЛАВА 4. СТРЕПТОКОККИ – ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ

4.1 Общая характеристика стрептококков

Стрептококковые заболевания характеризуются поражением различных органов и систем организма человека, нередко наблюдаются генерализованные процессы, часто они являются осложнениями заболеваний нестрептококковой этиологии. К стрептококковым заболеваниям относятся такие разноплановые заболевания как ангины, ревматизм, рожистое воспаление, гломерулонефрит, менингиты, различные по тяжести и локализации гнойно-воспалительные процессы, сепсис и др.

Стрептококки входят в род *Streptococcus*, который включает около 40 видов, различаемых по особенностям метаболизма, культуральным, биохимическим свойствам и антигенной структуре. Однако к настоящему времени на основании ДНК/ДНК гибридизации и секвенса 16 рРНК составлено филогенетическое древо 34 видов стрептококков.

Стрептококки представляют собой грамположительные неподвижные сферические клетки диаметром от 0,5 до 1,5 мкм, некоторые виды имеют капсулу, спор не образуют. Деление клеток происходит только в одной плоскости, вследствие чего они располагаются парами или образуют цепочки разной длины. В неблагоприятных условиях стрептококки могут образовывать L-формы.

Растут стрептококки в интервале температур 25-45°C, температурный оптимум-37°C, хемоорганотрофы, метаболизм ферментативный с образованием, главным образом, молочной кислоты, газ не образуют. Растут на средах, богатых органическими соединениями. Стимулирует рост повышенное парциальное давление CO₂ (5-10%). Характерной особенностью является отсутствие каталазной активности.

Одной из существующих классификаций стрептококков является особенность их роста на кровяном агаре, приготовленном на крови барана. По способности лизировать эритроциты стрептококки подразделяются на альфа-

стрептококки, образующие зону зеленыящего гемолиза в результате трансформации гемоглобина в метгемоглобин, бета-гемолитические стрептококки, производящие полный гемолиз эритроцитов (вокруг колоний образуется прозрачная зона очищения среды) и гамма-гемолитические стрептококки, не гемолизирующие эритроциты (вокруг колоний не наблюдается изменений среды) [7].

4.2 Антигены стрептококков и классификация по антигенным свойствам

Одним из основных антигенов клеточной стенки стрептококков является рамнозосодержащий полисахарид, называемый еще С-субстанцией, выявляемый в реакции преципитации по Ленсфильду. В чистом виде С-антиген является гаптенем и становится иммуногенным в составе клеточной стенки стрептококка. По его антигенным особенностям стрептококки разделены на 20 серогрупп, обозначаемых латинскими буквами (А-Н, К-У). Отдельные серогруппы имеют статус вида, например, в серогруппу А входит один вид – *S.pyogenes*, в состав других серогрупп могут входить несколько видов. У некоторых видов стрептококков отсутствует С-субстанция, и они классифицируются вне общей серологической групповой классификации, к ним относятся пневмококки и некоторые другие «зеленящие стрептококки».

У стрептококков серогруппы А имеются некоторые особенности структуры клеточной стенки, отличающейся от стрептококков других серогрупп, в частности поверх пептидогликана у *S.pyogenes* располагаются М- и Т-белки. М-белок имеет мукоидную, т.е. слизистую консистенцию, представляет собой суперспирализованные молекулы полипептида и напоминает по своей структуре фимбрии грамотрицательных бактерий, он является основным типоспецифическим антигеном стрептококков серогруппы А (известны более 80 серотипов М-белка). Т-белок также обладает типоспецифическими свойствами. Стрептококки разных М-вариантов могут иметь один и тот же Т-тип или комплекс Т-типовых антигенов.

Антигенными свойствами обладают секретируемые вещества стрептококков, в частности О-стрептолизин, ДНК-аза В, НАД-аза, липопротеиназа. Выявление антител к этим антигенам используется в серологической диагностике.

Роль разных видов стрептококков в инфекционной патологии человека различна и в соответствии с этим их подразделяют на патогенные и условно патогенные виды. Патогенными для человека являются 4 вида стрептококков: *S.pyogenes*, *S.agalactiae*, *S.equi sub sp. equisimitis*, *S.pneumoniae*; условно патогенными - около 21 вида, среди них – *S.anginosus*, *S.constellatus*, *S.intermedius*, *S.parasanguis*, *S.sanguis*, *S.salivarius*, *S.bovis*, *S.galloliticus* и другие. В таблице 2 даны основные эпитопы обитания патогенных и некоторых условно патогенных стрептококков и клинические формы вызываемых ими заболеваний [8].

Таблица 2. Основные эпитопы обитания и вызываемые заболевания некоторых видов стрептококков [2]

Виды	Клинические проявления	Эпитопы
<i>S.pyogenes</i>	Фарингит, скарлатина, рожа, целлюлиты, пиодермия-импетиго, синдром токсического шока.	Кожа, слизистые
<i>S.agalactiae</i>	Осложнения: острая ревматическая лихорадка, септический эндокардит, острый гломерулонефрит.	Влагалище, верхние дыхательные пути
<i>S.equi subsp. equisimilis</i>	Новорожденные, дети: сепсис, пневмония, менингит, конъюнктивит, отит среднего уха. Взрослые: менингит, пневмония, пиелонефрит.	Верхние дыхательные пути
<i>S.pneumoniae</i>	Женщины: инфекция мочевых путей.	Верхние дыхательные пути
<i>S.anginosus</i>	Инфекции верхних дыхательных путей, раневые инфекции, эндокардит, менингит, инфекции мочевых путей.	Верхние дыхательные пути, влагалище

S.constellatus	Пневмония, менингит, отит среднего уха, абсцессы, конъюнктивит, артрит.	Ротовая полость, верхние дыхательные пути
S.intermedius	Гнойные инфекции, первичная атипичная пневмония	Ротовая полость, верхние дыхательные пути, кишечник
S.salivatus	Гнойные инфекции, включая аппендицит	Ротовая полость, кишечник
S.sangius	Гнойные инфекции, преимущественно печени, абсцессы мозга.	Ротовая полость, кишечник

Ведущее место среди возбудителей гнойно-воспалительных и септических инфекций принадлежит стрептококкам серогруппы А (*S.pyogenes*) и серогруппы В (*S.agalactiae*) поэтому в данном пособии разбираются именно эти виды стрептококков. Заболевания у человека могут вызывать также стрептококки серогрупп С, F, G. *S.pneumoniae*, его свойства и роль в инфекционной патологии человека изучается в разделе воздушно-капельных инфекций.

4.3 Факторы патогенности *S.pyogenes*

У *S.pyogenes* имеются факторы адгезии и колонизации, инвазии, антифагоцитарные факторы, они продуцируют токсины и ферменты патогенности.

Факторы адгезии и колонизации.

Капсула, во внешней среде повышает выживаемость стрептококков и защищает клетки от действия бактериофагов. Капсула состоит из гиалуроновой кислоты, которая содержится также в соединительной ткани, следовательно, проявляет низкую иммуногенность и в организме не распознается как чужеродный антиген фагоцитами. Следовательно, капсула способствует адгезии и колонизации бактерий в месте внедрения. Имея сходство со многими

аутоантигенами, капсула, возможно, участвует в запуске аутоиммунных реакций, характерных для стрептококковых инфекций.

Поверхностные белки (М, F, Т располагаются под капсулой. Наиболее важным из них является М-белок. Он способствует фиксации (адгезии) стрептококков в месте внедрения, как «бахрома» покрывает всю поверхность клеточной стенки (выполняет роль своеобразной «капсулы»), маскируя этим рецепторы для комплемента и опсонинов и, следовательно, ингибирует активацию комплемента и фагоцитоз, оказывает прямую агрессивность против нейтрофилов, обладает иммуногенностью, но так как серотипов М-белка более 80, поэтому вырабатываемые типоспецифические антитела не оказывают должного защитного действия. Роль других поверхностных белков (Т, F) до конца не выяснена [5].

Липотейхоевые и тейхоевые кислоты клеточной стенки являются полимерами D-ala и полиглицерофосфата, входят в состав фимбрий и выполняют адгезивную функцию, вызывают активацию комплемента по альтернативному пути, ингибируют поглотительную активность фагоцитов, могут оказывать прямое токсическое действие на мембраны клеток различных органов.

Факторы инвазии.

Стрептокиназа (А и В) – стрептококковый фибринолизин – активирует плазминоген, переводя его в плазмин. Плазмин – это протеолитический фермент, расщепляющий фибрин и другие белки, способствуя проникновению стрептококков из места внедрения в ткани. Этот фермент расщепляет также и С3-фактор комплемента, являющийся одним из опсонинов при фагоцитозе, следовательно, является важным антифагоцитарным фактором.

Стрептодорназа (А, В, QD) -ДНК-аза – вызывают гидролиз нуклеиновых кислот клеток, способствуя инвазии стрептококков.

Гиалуронидаза – разрушает гиалуроновую кислоту соединительной ткани.

Фактор помутнения вызывает гидролиз липопротеидов, в частности липопротеидов сыворотки крови.

Антифагоцитарные факторы.

У *S.pyogenes* как отдельные структуры клетки, так и секретируемые вещества активно защищают его от фагоцитов. К ним относятся М-белок и другие поверхностные белки, липотейхоевые кислоты и пептидогликан клеточной стенки, Fc-реактивный белок, C5a пептидаза, фактор, угнетающий хемотаксис, стрептолизины О и S.

Пептидогликан клеточной стенки обладает комплексом биологических свойств, в частности, оказывает пирогенный эффект, так как при фагоцитозе индуцирует выработку фагоцитами эндогенного пирогена, активирует комплемент по классическому и альтернативному пути, что ведет к снижению количества комплемента, вызывает лизис тромбоцитов, усиливает синтез ИЛ-1, является сильным хемоаттрактантом для нейтрофилов, связывает опсонизирующие факторы сыворотки и др.

Группоспецифический полисахарид, входящий в состав клеточной стенки, имеет рецепторы для связывания Fc фрагмента IgG, что ведет к неспецифическому уменьшению количества иммуноглобулинов сыворотки крови, и, следовательно, к ингибированию фагоцитоза. Наличие в составе полисахарида антигенов, сходных с аутоантигенами клапанов сердца, может приводить к аутоиммунной патологии.

C5a пептидаза – подавляет активность фагоцитов, так как инактивирует C5a- компонент комплемента, который является мощным хемоаттрактантом.

Fc-реактивный фактор – белок, связывающийся с Fc фрагментами IgG и IgA, что ведет к снятию опсонизирующей активности антител.

Способность стрептококков на своей поверхности фиксировать альфа-2-макроглобулин, фибриноген, фибронектин, создавая подобие псевдокапсулы, можно также считать одним из антифагоцитарных факторов.

Фактор, угнетающий хемотаксис (C5a пептидаза), подавляет подвижность нейтрофилов.

Токсины стрептококков.

Стрептолизин S (гемолизин-S) присутствие сыворотки индуцирует синтез токсина, резистентен к кислороду, не обладает иммуногенностью и не вызывает

синтез антител. Один из самых активных гемолитических агентов (среди биологических и химических). Является мембранотоксином, связываясь с фосфолипидами мембран клеток, вызывает нарушение их проницаемости с последующей гибелью клеток. Обладает не только гемолитическим, но и цитотоксическим действием, в том числе разрушает лейкоциты крови.

Стрептолизин О (гемолизин-О) проявляет свое действие только в анаэробных условиях, так как в присутствии кислорода инактивируется, является антигеном и антитела к нему (антистрептолизин О) служат индикатором активности стрептококковой инфекции. Он обладает цитотоксичностью, действуя как на мембраны клеток, так и на субклеточные органеллы (лизосомы, митохондрии) в том числе на эритроциты, сегментоядерные лейкоциты, тромбоциты и особенно на кардиомиоциты. Освобождающиеся из лизосом ферменты вызывают деструкцию тканей, особенно выражена кардиотропность.

Эритрогенный токсин – скарлатинозный токсин. Различают 3 серотипа (А, В, С). Обладает пирогенным, аллергенным, иммуносупрессивным и митогенным действием, разрушает тромбоциты. Вырабатывается *S.pyogenes* в лизогенном состоянии. Является одним из важнейших патогенных факторов при скарлатине.

Кардиогепатический токсин выделяется некоторыми сероварами *S.pyogenes*, в частности серовар 12 вызывает поражение миокарда, печени, в печени образуются гигантоклеточные гранулемы.

Стрептококки имеют целый ряд факторов, обладающих сенсibiliзирующим действием на организм, в частности некоторые белки цитоплазмы селективно подавляют функцию В-лимфоцитов и усиливают функцию Т-лимфоцитов, способствуя развитию ГЗТ. М-белок и эритрогенный токсин проявляют свойства суперантигена, вызывают пролиферацию Т-лимфоцитов, что ведет к повышенному выбросу медиаторов с цитотоксическими свойствами, интерлейкинов и других биологически активных веществ [8].

4.4 Эпидемиология стрептококковых инфекций

Стрептококковые инфекции распространены повсеместно. Риску развития гнойных осложнений стрептококковой этиологии подвергаются раненные, обожженные, больные в послеоперационном периоде, роженицы и новорожденные. Инфекция может развиваться и эндогенным путем.

Источникам экзогенной инфекции служат бактерионосители и больные с острыми стрептококковыми заболеваниями, особенно с локализованными очагами верхних дыхательных путей (ангина, скарлатина). Лица с локализацией вне дыхательных путей – пиодермия, отиты, мастоидиты, остеомиелиты и т.д. – имеют меньшее эпидемиологическое значение. После перенесенного заболевания может наблюдаться длительное (до года и более) носительство.

Пути передачи инфекции – основным является воздушно-капельный (обычно заражение происходит при длительном контакте с больным или носителем), реже контактный (через загрязненные руки и предметы обихода) и редко – алиментарный (молоко и другие пищевые продукты).

Входными воротами инфекции могут служить слизистые оболочки верхних дыхательных путей и поврежденные участки кожных покровов.

Патогенез стрептококковых инфекций, вызываемых *S.pyogenes*

Естественная восприимчивость людей к стрептококкам высокая. Клинические проявления стрептококковых инфекций зависят от входных ворот, наличия различных факторов патогенности, состояния иммунной системы. Начало патологического процесса обуславливают адгезины (ЛТК, капсула, М-белок), которые обеспечивают бактериям взаимодействие с мембраной эпителиоцитов слизистых оболочек. Вслед за адгезией развивается колонизация поражаемой ткани и инвазия возбудителя в окружающие ткани. Стрептококки, как правило, не проникают внутрь клеток организма, а действуют на них снаружи. Важным выражением стрептококковой инвазии является флегмона (в зарубежной литературе используется термин «целлюлит» – воспаление клетчатки вместо термина «флегмона») – острое, иногда острейшее, воспаление рыхлой соединительной ткани с тенденцией к распространению в окружающие

ткани, межтканевые пространства, лимфатические сосуды (лимфангиты), регионарные лимфатические узлы (лимфадениты). Стрептококковое воспаление отличается от воспалительного процесса, вызванного *S.aureus*, активным вовлечением окружающих тканей, в то время как для стафилококков характерны ограниченные очаги воспаления (абсцессы), что связано с активностью стрептококковых инвазивных факторов (стрептокиназа, стрептодорназа, гиалуронидаза) и локальным действием цитокинов. Экссудат при стрептококковых флегмонах беден фагоцитами, так как лейкоциты, попав в очаг воспаления, гибнут под действием стрептолизина. Из первичного очага стрептококки могут распространиться далее лимфогенным и гематогенными путями, вызывая сепсис с последующим поражением других органов и систем (менингит, эндокардит и т.п.).

Стрептококковые заболевания сопровождаются общей интоксикацией, высокой температурой, головной болью, жаждой, возбуждением, тахикардией, аритмией, рвотой.

Часто при стрептококковых пиогенных инвазиях могут наступить отсроченные осложнения – ревматизм и гломерулонефрит, протекающие иначе, чем в первичном очаге. Они возникают как результат аутоиммунной патологии, вызванной *S.pyogenes* [3].

4.5 Клинические проявления стрептококковых инфекций

Ангина – острое воспаление зева (фарингит), которое равномерно захватывает все его части. *S.pyogenes* вызывает, как правило, септические (гнойные) ангины, характеризующиеся яркой гиперемией слизистой, отеком, увеличением миндалин и общей интоксикацией, шейным лимфаденитом. Возможны осложнения в виде отита, синуситов, поражения более глубоких отделов респираторного тракта и генерализация процесса с развитием в септицемию. Ангины чаще всего вызываются серотипами *S.pyogenes* M1-M51.

Поражения кожи. Входными воротами могут быть микротравмы кожи, так как неповрежденная кожа непроницаема для *S.pyogenes*, проникнув через

которые, стрептококки вызывают поражение поверхностных слоев кожи, называемое стрептококковой пиодермией или контактиозным импетиго. Нередко импетиго развивается как смешанная инфекция (*S.pyogenes*, *S.aureus*), но, как правило, процесс начинают стрептококки, к которым присоединяются стафилококки. На инфицированных участках вначале появляются везикулы, которые быстро превращаются в пустулы, содержащие гной. Чаще всего поражаются дети, заболевание передается контактным путем. Само заболевание неопасно, но часто может осложняться гломерулонефритом. Возбудителями являются сероварианты *S.pyogenes* M49, M52-M61.

Рожа – флегмоноподобное воспаление кожи. Возбудитель внедряется через микротравмы кожи, но возможен и гематогенный занос из имеющегося в организме очага. Инфекция распространяется в субэпителиальной ткани. Для рожи характерны воспаление и отечность пораженных участков кожи. Возбудитель отсутствует в зоне воспаления, но его легко обнаружить в лимфатических сосудах вокруг зоны воспаления. Экссудат имеет серозно-фибринозный характер с небольшим количеством нейтрофилов. Главным осложнением при роже может быть переход в типичную флегмону, когда поражается подкожная клетчатка и мышечная ткань и возможна генерализация процесса.

Раневые инфекции. Открытые травматические раны или хирургические вмешательства создают условия для внедрения большого количества как стрептококков, так и других бактерий, нередко бывают смешанные инфекции. Могут наблюдаться различные по тяжести воспалительные процессы, наиболее тяжелая форма - госпитальная гангрена или некротизирующий фасциит, при котором поражаются все слои кожи, подкожная клетчатка и мышечная ткань, которая может осложниться септициемией. Примером раневой стрептококковой инфекции является родовой (пуэрперальный) сепсис, связанный с внедрением *S.pyogenes* в травмированные ткани родовых путей и матки [7].

4.6 Особенности иммунитета при стрептококковых инфекциях

Противострептококковый иммунитет гуморальный и клеточный, носит антитоксический и антимикробный характер, наряду с этим имеет место сенсibilизация организма по типу ГЗТ, с которой связан патогенез многих стрептококковых осложнений.

Антимикробный иммунитет прочный, типоспецифический, связан с антителами к М-белку, а так как сероваров по М-антигену около 80, возможны повторные заболевания при инфицировании другими сероварами возбудителя.

Антитоксический иммунитет вырабатывается к эритрогенному токсину у больных, перенесших скарлатину, он прочный и длительный.

4.7 Заболевания, вызываемые *S. agalactiae*

У человека стрептококки серогруппы В заселяют носоглотку, ЖКТ и влагалище. Большинство штаммов этой серогруппы, выделенных из организма человека, относятся к виду *S. agalactiae*. Этот вид известен также в ветеринарии, являясь одним из возбудителей мастита у коров.

У *S. agalactiae* факторами патогенности является полисахаридная капсула, которая обладает иммуногенностью, вызывает выработку специфических антител и оказывает антифагоцитарное действие, а также фермент нейраминидаза, модифицирующая мембраны клеток организма, способствуя адгезии стрептококков на их поверхности и инвазии в окружающие ткани.

Заболевания, вызываемые серогруппой В, встречаются среди всех возрастных групп, чаще всего поражаются новорожденные. При инфицировании организма новорожденного во время родов заболевание может возникнуть в первые 24 часа жизни и протекает очень тяжело, клинически выявляют бактериемию без конкретного очага первичного инфицирования, пневмонию, менингит, летальность достигает более 30%. У новорожденных с более поздними проявлениями (на 5-7 день жизни) наблюдается бактериемия и менингиты, смертность составляет 10-20%, у большей половины выживших регистрируются остаточные явления. У родильниц *S. agalactiae* вызывает

послеродовые эндометриты, поражения мочевыводящих путей и нагноение хирургических ран после кесарева сечения. У взрослых могут наблюдаться поражения кожных покровов, мягких тканей, пневмония, эндокардиты и менингиты. Особенно тяжело, с явлениями бактериемии, протекают заболевания у пожилых людей, страдающих сахарным диабетом, заболеваниями периферических сосудов и онкологическими болезнями. Стрептококки этой серогруппы могут вызвать пневмонию на фоне ОРВИ.

4.8 Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций

Лабораторная диагностика включает бактериологический (основной), серологический, молекулярно-генетические и экспресс-методы диагностики.

Исследуемый материал в зависимости от локализации патологического процесса – кровь, слизь из зева, налет с миндалин, отделяемое ран, гной, ликвор. При взятии материала необходимо соблюдать стерильность (стерильные тампоны, одноразовые шприцы и т.п.). Кровь для посева следует брать из периферической вены (обычно локтевая вена) в период лихорадки (при подъёме температуры), не во время её снижения.

Для посева крови рекомендуется вносить кровь в специальные флаконы/бутылочки для гемокультуры (аэробные и анаэробные) в объёме, рекомендованном производителем. В условиях, где используются жидкие питательные бульоны вручную, применяют соотношение крови и среды 1:10, чтобы снизить бактерицидность крови; однако современные лаборатории преимущественно используют коммерческие автоматические системы для гемокультур.

Оптимальное время доставки клинического материала в бактериологическую лабораторию – как можно быстрее, желательно не более 2 часов. Если посев не может быть выполнен в течение суток или материал транспортируется в удалённую лабораторию, ВОЗ и другие руководства рекомендуют метод нанесения материала на полоски стерильной фильтровальной бумаги: аккуратно перенести материал с тампона на

фильтровальную бумагу, высушить при комнатной температуре 10-15 минут, упаковать в фольгу или пакет. При комнатной температуре такие сухие образцы годны для транспортировки до ~7 дней; при хранении при -20°C срок хранения увеличивается до нескольких месяцев. Следует учитывать снижение чувствительности выделения живых микроорганизмов при этом способе по сравнению с немедленным посевом.

Бактериологический метод.

Посев и инкубация.

Жидкие гемокультуры инкубируют в автоматических системах или в термостате при $35-37^{\circ}\text{C}$ с ежедневным контролем; стандартный срок наблюдения для гемокультур – 5-7 дней, при клиническом показании инкубацию можно продлить до 10-14 дней. При признаках роста проводят подсеивание на плотные среды.

Посевы из зева, носа, ран и т.д. выполняют на кровяной агар (с 5% дефибринированной крови теплокровных животных или донорской крови), на шоколадный агар и при необходимости на селективные среды. Посевы наносят штриховым способом; для более выраженной визуализации зон гемолиза применяют уколы в глубину среды. Чашки инкубируют при $35-37^{\circ}\text{C}$ в атмосфере с 5% CO_2 (или в аэробных условиях) 18-24 часа; при отсутствии видимого роста инкубацию продлевают до 48 часов.

Оценка гемолиза и морфологии колоний.

По характеру гемолиза стрептококки делят на β -гемолитические (полное разрушение эритроцитов, прозрачная зона), α -гемолитические (частичный гемолиз, зелёное окрашивание) и γ -негемолитические (гемолиз отсутствует).

Морфологические формы β -гемолитических колоний:

Мукоидные: крупные (до 1,5-2,5 мм), влажные, слизистые, часто ассоциированы с вирулентными штаммами *Streptococcus pyogenes* (группа А), содержат М-белок.

Шероховатые: непрозрачные, уплощённые, с шероховатой поверхностью, также встречаются у вирулентных штаммов *S. pyogenes*.

Гладкие: мелкие ($\approx 1-1,5$ мм), блестящие; М-белок выражен слабо или отсутствует; типичны для слабовирулентных штаммов *S. pyogenes* и многих штаммов *Streptococcus agalactiae* (группа В).

Подозрительные колонии исследуют микроскопически после окраски по Граму: стрептококки – грамположительные кокки, располагающиеся цепочками или парами; возможен полиморфизм. Подозрительные колонии пересеивают для получения чистой культуры.

Идентификация выделенной культуры (биохимические и специальные тесты).

1. Каталазная проба: стрептококки – каталазоотрицательные (при добавлении перекиси водорода пузырьки отсутствуют), стафилококки – каталазоположительные (пузырьки).
2. Чувствительность к бацитрацину (диск А): *S. pyogenes* обычно чувствителен (зона ≥ 10 мм), что помогает отличить группу А от прочих β -гемолитических стрептококков.
3. Тест САМР: используется для идентификации *S. agalactiae* (группа В). При посеве рядом с тест-штаммом *Staphylococcus aureus* образуется характерное усиление β -гемолиза в виде «стрелы» при положительном результате.
4. Гидролиз гиппурата (гиппурат-расщепление): *S. agalactiae* обычно гидролизует гиппурит; реакцию фиксируют с помощью нингидрина или других реагентов – появляется пурпурное/фиолетовое окрашивание при положительной реакции.
5. Желчно-эскулиновый тест: рост на агаре с 4% желчи, 0,1% эскулина и железистым цитратом с потемнением среды указывает на гидролиз эскулина в присутствии желчи; положительны, как правило, *Enterococcus spp.* и некоторые стрептококки группы D.
6. Рост в бульоне с 6,5% NaCl: *Enterococcus spp.* растут в таких условиях, большинство стрептококков группы А и В – нет; результат оценивают через 24-48 часов.
7. PYR-тест: определяет активность L-пирролидонил-ариламидазы (PYR).

Положительная реакция характерна для *S. pyogenes* и *Enterococcus spp.*

Тест проводят с коммерческими полосками или реагентами; при добавлении индикатора появляется ярко-красная окраска.

Другие тесты и современные методы: бета- и альфа-гемолизующие стрептококки дополнительно идентифицируют методами серологической группировки по Лансфилду (использование специфических реагентов для определения групп А, В, С, D и др.), а также с помощью молекулярно-генетических методов (ПЦР, секвенирование 16S rRNA или специфических генов), что обеспечивает более быструю и точную идентификацию.

Клинико-биологическая значимость выделения.

Обнаружение большого количества β -гемолитического стрептококка из стерильных зон (кровь, ликвор) или при значимой клинической картине подтверждает диагноз инвазивной стрептококковой инфекции.

Выделение стрептококков из верхних дыхательных путей нужно интерпретировать с учётом клинической картины и количества выделений – наличие в культурной микрофлоре носителя не всегда означает инфекцию, особенно у бессимптомных пациентов.

Антибиотикорезистентность и определение чувствительности.

После получения чистой культуры проводят определение чувствительности к антибиотикам (метод диско-диффузии или автоматические системы) в соответствии с актуальными руководствами (CLSI, EUCAST). Особое внимание уделяют чувствительности к пенициллину/амоксциллину, макролидам, клиндамицину, цефалоспорином и др.

Для *S. pyogenes* устойчивость к пенициллину крайне редка; резистентность к макролидам и клиндамицину встречается чаще и требует подтверждения фенотипическими и генетическими методами.

Для *S. agalactiae* важен мониторинг чувствительности к бета-лактамам, макролидам и тетрациклинам; при беременности и неонатальных инфекциях результаты чувствительности критически важны для выбора терапии и профилактики.

Серологические методы.

Серологические тесты (например, определение антител к стрептококковым антигенам: ASO – антистрептолизин О, ADB – анти-DNase В) используются при диагностике постстрептококковых осложнений (ревматическая лихорадка, постстрептококковый гломерулонефрит) и при отсутствии возможности выделения возбудителя. Интерпретация требует динамического наблюдения титров (парные образцы).

Молекулярно-генетические и экспресс-методы.

ПЦР и другие молекулярные методы позволяют быстро идентифицировать стрептококковые виды и определять генетические маркёры вирулентности и резистентности. Коммерческие экспресс-тесты (иммунохроматографические) для обнаружения антигена группы А из мазков зева обеспечивают быстрый результат, но имеют меньшую чувствительность по сравнению с посевом; отрицательный экспресс-тест при выраженной клинике требует посева или ПЦР.

Хранение и срок годности культур.

Посевы и выделенные культуры обычно хранят при 4 °С краткосрочно (несколько дней) на кровяном агаре; для длительного хранения используют замораживание при –70 °С в криопротекторе (глицерин) или лиофилизацию, что обеспечивает сохранность штаммов месяцы и годы.

Контроль качества и безопасность.

Все лабораторные процедуры выполняют с соблюдением правил биобезопасности (BSL-2 для большинства стрептококков), документируют результаты, проводят контроль качества сред и реагентов, участвуют в программах внешней оценки качества.

Таблица 3. Биологические свойства стрептококков [2]

Свойства	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.agalactiae</i>	Стрептококки серогруппы С и G
Вид гемолиза на кровяном агаре	бета	бета, альфа	бета
Гидролиз гиппурата натрия	-	+	-

САМР-тест	-		-
Наличие PYR	+	-	-
Желчно-эскулиновый тест	-		
Рост на бульоне с 6,5% NaCl	-	+	-
Чувствительность к бацитрацину		-	-
Чувствительность к сульфаметоксазолу и триметоприму	-	-	-

Серологическая идентификация основана на обнаружении полисахаридного антигена клеточной стенки стрептококков (группоспецифический антиген) после его экстракции кислотами (соляной или азотной) или различными ферментами при помощи реакций преципитации, латекс-агглютинации, коагглютинации. Для постановки последних используют группоспецифические иммунные сыворотки, связанные с латексными частицами (латекс-агглютинация) или со штаммом *S.aureus*, имеющим А-белок (коагглютинация). При смешивании экстракта, содержащего групповой антиген с этими покрытыми иммуноглобулинами частицами происходит агглютинация, видимая невооруженным глазом.

У выделенной культуры обязательно определяют чувствительность к антибиотикам.

Полученные лабораторные данные о групповой принадлежности и антибиотикограмма выделенной культуры стрептококка, как правило, достаточны для постановки этиологического диагноза и назначения эффективной антибиотикотерапии. Однако в интересах эпидемиологии проводятся более точные методы идентификации, как, например, определение серотипа стрептококков серогруппы А по М-белку, Т-белку, ОФ-фактору, фаготипирование, ПЦР и др.

Серологическая диагностика инфекций, вызываемых стрептококками

серогруппы А проводится, главным образом, для выявления антител к экстрацеллюлярным антигенам – стрептолизину О, ДНК-азе В, гиалуронидазе, НАД-азе с целью оценки инфицированности организма стрептококками серогруппы А, так как выделяются стрептококки не только у больных, но и у здоровых бактерионосителей. Для проведения исследования часто используют парные сыворотки больных, взятых с интервалом в 7-10 дней.

Обнаружение антигенов стрептококков в составе циркулирующих иммунных комплексов наряду с антистрептококковыми антителами указывает на развитие иммунопатологических процессов.

Экспресс-диагностика инфекций, вызываемых стрептококками серогруппы А. Для профилактики осложнений стрептококковых инфекций необходимо своевременно (до выделения возбудителя) начать этиотропное лечение. Имеются тест-системы для выявления как группоспецифического полисахарида, так и экзофермента пирролидониларамидазы с использованием реакции коагуляции, ИФА, МИФ.

4.9 Лечение стрептококковых инфекций

Основными препаратами для профилактики и этиотропного лечения являются антибиотики. Обычно применяют препараты пенициллина, к которым у стрептококков сохраняется высокая чувствительность, кроме пенициллинов могут применяться азитромицин, макролиды (klarитромицин, олеандомицин, эритромицин и др.) и клиндамицин. Антибиотиком резерва при тяжелых формах стрептококковой инфекции является ванкомицин. Для лечения инвазивных форм стрептококковых инфекций показано применение иммуноглобулина человека, содержащего широкий спектр нейтрализующих антител к суперантигенам стрептококков. При гнойно-воспалительных инфекциях могут быть применены стрептококковые бактериофаги [3].

ГЛАВА 5. PSEUDOMONAS AERUGINOSA - ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНО – ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

5.1 Общая характеристика *Pseudomonas aeruginosa*

Синегнойная инфекция – гнойно-воспалительная инфекция с отделяемым сине-зеленого цвета, поражающая поврежденные кожу и слизистые оболочки, другие ткани и внутренние органы, сопровождается общей интоксикацией, может принимать септическое течение.

Основной возбудитель – *P. aeruginosa* – типовой вид рода *Pseudomonas*. Значительно реже подобную инфекцию могут вызывать другие представители этого рода (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. cepacia* и др.).

P. aeruginosa – грамотрицательная подвижная палочка с размерами 0,5 - 1,0 x 1,5 - 3,0 мкм. Обычно имеет один, иногда два и более полярных жгутика, спор не образует. Синегнойная палочка не имеет структурированной капсулы, но многие штаммы (особенно выделяемые из респираторного тракта) образуют слизистое вещество, которое окутывает бактериальную клетку и диффундирует в окружающую среду (экзополисахарид). В мазке бактерии располагаются поодиночке, парами, короткими цепочками.

P. aeruginosa является строгим аэробом с окислительным типом энергетического обмена, ее относят к неферментирующим бактериям. Хотя псевдомонады относятся к облигатным аэробам, они могут расти в анаэробных условиях, используя нитраты или аргинин как альтернативный акцептор электронов.

Синегнойная палочка нетребовательна к питательным средам и может жить и размножаться даже в воде. На жидких питательных средах (МПБ, пептонной воде) образует серебристо-серую пленку, на плотных средах - колонии различных типов.

Наиболее характерны плоские колонии вязкой консистенции диаметром 3-5 мм, нередко с перламутровым блеском (так называемый «радужный лизис» из-за присутствия бактериофага). Обычно колонии и питательная среда вокруг приобретают сине-зеленый цвет благодаря водорастворимому пигменту

пиоцианину, который образуют большинство штаммов *P.aeruginosa*. Имеются и другие пигменты: пиовердин (флюоресцеин) – желто-зеленого цвета, люминесцирующий в УФ-лучах, реже встречается красный пигмент - пиорубин и меланин, имеющий черный или темно-коричневый цвет.

Культуры синегнойной палочки благодаря синтезу триметиламина имеют своеобразный запах, который сравнивают с запахом жасмина, туалетного мыла, цветущей липы.

Синегнойная палочка обладает незначительной сахаролитической активностью, обычно расщепляет только глюкозу путем ее окисления (но не ферментации!) с образованием глюконовой кислоты. Более выражена протеолитическая активность, проявляющаяся в разжижении желатины и свертывании сыворотки, гидролизе казеина. *P.aeruginosa* обладает цитохромоксидазой, каталазой, нитратредуктазой.

Многие штаммы синегнойной палочки образуют бактерицидные вещества - бактериоцины, называемые пиоцинами. Разные штаммы вариабельны по чувствительности и способности синтезировать бактериоцины. На этом основании разработано пиоцинотипирование, применяемое в эпидемиологических исследованиях. Для этой же цели используют фаготипирование, так как различные штаммы *P.aeruginosa* отличаются по своей чувствительности к диагностическим псевдомонадным бактериофагам [2].

5.2 Антигены *P.aeruginosa*

Синегнойная палочка имеет множество антигенов, связанных с клеточными структурами (клеточная стенка и наружная мембрана, пили, жгутики) и продуцируемыми веществами (полисахаридная слизь, токсины, протеазы и др.). Наибольшее диагностическое значение имеют О-антиген (ЛПС, эндотоксин) и Н-антиген (флагеллин жгутиков).

Белковый компонент О-антигенного комплекса является родоспецифичным, т.е. является общим для представителей рода *Pseudomonas*. По строению полисахаридной части О-антигена синегнойной палочки выявлено

около 30 О-антигенов (группоспецифичных), по строению флагеллина 10 Н-антигенов (типоспецифических).

На основании сочетания О- и Н-антигенов проводят серотипирование – определение принадлежности к тому или иному серовару (их около 50), что бывает необходимо для эпидемиологического анализа.

5.3 Экология

Род *Pseudomonas* содержит около 200 видов, подавляющее большинство из них – свободноживущие сапрофиты и фитопатогенные бактерии, играющие большую роль в круговороте веществ в природе и, в то же время, приносящие большой ущерб, вызывая порчу пищевых продуктов и многих других органических веществ. Имеются и условно-патогенные виды. Два патогенных паразитических вида, которые входили в род *Pseudomonas* – *P.mallei* и *P. pseudomallei*, вызывающие, соответственно, зоонозные инфекции – сап и мелиоидоз, выделены в отдельный ряд *Burkholderia*.

P. aeruginosa и некоторые другие условно-патогенные виды псевдомонад также могут вести сапрофитическое существование, но попав в организм человека или животного с ослабленным иммунитетом, способны вызвать гнойно-воспалительную инфекцию.

Синегнойные палочки имеют повсеместное распространение. Встречаются в почве, воде, на растениях, в кишечнике человека и животных, на коже и слизистых (у 3-5% здоровых людей), на объектах внешней среды, в местах, где имеется достаточная влажность.

Такое широкое распространение *P.aeruginosa* обусловлено сохранением жизнеспособности и способности к размножению при почти полном отсутствии питательных веществ, широком температурном диапазоне (размножается при температуре от 4-6°C до 42°C) и значении pH от 4,5 до 9,0.

P.aeruginosa способна выживать в растворах антисептиков и дезинфектантов, используемых в клиниках (риванола, фурацилина, в жидкости для контактных линз и т.п.). Она довольно устойчива к солнечному свету, обладает

антиоксидантными свойствами. Синегнойная палочка погибает при нагревании до 60°C за 15 минут, при кипячении за 1 мин. Чувствительна к действию фенола, хлорсодержащих дезинфектантов, перекиси водорода.

5.4 Факторы патогенности *P. aeruginosa*

P.aeruginosa обладает адгезивными, антифагоцитарными, инвазивными и токсическими свойствами, синтезирует пигменты и другие биологически активные вещества.

1. Адгезивность обусловлена наличием специальных адгезинов – пилей, и вспомогательными компонентами – жгутиками и слизистым полисахаридом на поверхности бактериальной клетки. Адгезия происходит на гликопротеидах соединительной ткани поврежденной кожи или на муцине, глико- и фосфолипидных рецепторах эпителия слизистых оболочек.

2. Антифагоцитарные свойства – направлены, главным образом, против нейтрофилов, но возможно, и макрофагов. Их обеспечивают капсулоподобный экзополисахарид, вызывающий нейтропению, ЛПС и фосфолипазы.

3. Инвазивные свойства – способствуют распространению инфекции на здоровые ткани. Они связаны с продукцией протеаз (две эластазы, щелочная протеаза), которые способны разрушать эластин, коллаген, ламинин, фибрин, гемоглобин. Протеазы инактивируют гуморальные защитные факторы организма – иммуноглобулины, некоторые компоненты комплемента, лизоцим, гамма-интерферон. Нейраминидаза является регулирующим ферментом, а также гидролизует сиаловые кислоты и, тем самым, создает условия для распространения инфекции из имеющегося очага.

4. Токсические свойства представлены целым рядом токсинов:

– Экзотоксин А – наиболее важный белковый токсин синегнойной палочки, относится к токсинам, ингибирующим синтез белков (цитотоксинам), механизм его действия сходен с дифтерийным токсином. В состав экзотоксина А входят две субъединицы – А и В. Субъединица В (акцептор) связывается с макроглобулиновыми рецепторами клетки, после чего через образовавшиеся

поры субъединица А (активатор) проникает в клетку. Обладая НАД-гликогидролазной и АДФ-рибозилтрансферазной активностью, субъединица А инактивирует (АДФ-риболизует) внутриклеточную мишень – фактор элонгации II (FE-II), участвующий в биосинтезе белка на рибосомах, что в конечном итоге приводит клетку к гибели. Экзотоксин вызывает некротические изменения тканей и общий токсический эффект. Может развиваться артериальная гипотензия с коллапсом, метаболический ацидоз, дыхательная недостаточность.

– Экзоэнзим S (экзотоксин S) – термостабильный белок, обладающий АДФ-трансферазной активностью, воздействует на фактор элонгации I и вызывает ингибирование синтеза белка. Обладает иммуносупрессивным действием. Штаммы, синтезирующие этот токсин (их около 43%), вызывают более тяжелые поражения, особенно респираторного тракта, и чаще наблюдается генерализация инфекции.

– Эндотоксин (ЛПС) обладает свойствами, характерными для эндотоксинов грамотрицательных бактерий, в частности, обладает пирогенностью, участвует в развитии сепсиса.

– Цитотоксин (лейкоцидин) – кислый белок, вызывает выраженные структурные изменения в клетках, приводящие к их разрушению, токсичен по отношению к лейкоцитам.

– Гемолизины I и II (термолабильный – фосфолипаза C и термостабильный) – вызывают гемолиз эритроцитов, некротические изменения в тканях и органах. Способствуют высвобождению неорганического фосфора, необходимого для поддержания жизнедеятельности возбудителя.

Имеются и другие токсины: энтеротоксин, фактор проницаемости.

5.5 Пигменты *P. aeruginosa*

Пигменты, вырабатываемые синегнойной палочкой (пиоцианин, пиовердин, пиорубин, пиомеланин) имеют феназиновую природу и в большей или меньшей степени угнетают рост многих микроорганизмов. Особенно активен пигмент пиоцианин, который, кроме антибактериального действия,

уменьшает пролиферацию лимфоцитов, нарушает двигательную функцию ресничек эпителия, выстилающего дыхательный тракт. Пиоцианин участвует в продукции токсических соединений кислорода (перекись, супероксидные и гидроксильные радикалы), стимулирующих развитие воспалительного процесса и повреждение тканей. Пиоцианин и пиовердин обладают способностью извлекать из клеток макроорганизма железо (сидерофорные свойства), необходимое для обеспечения процесса дыхания. Пигмент пиомеланин повышает устойчивость бактерий к действию УФ- света.

Пиоцины – бактериоцины, обладающие антибактериальной активностью.

Слизистый экзополисахарид – выполняет функцию капсулы, благодаря своей вязкости способствует созданию повышенной концентрации продуцируемых возбудителем токсических веществ в очаге инфекции.

5.6 Патогенез синегнойной инфекции

Несмотря на большое количество и разнообразие факторов патогенности, синегнойная палочка является микробом-оппортунистом и, как правило, не вызывает заболевания у здоровых людей с нормально функционирующей иммунной системой. Неповрежденная кожа и слизистые оболочки обычно являются непреодолимым барьером для *P.aeruginosa*. Но даже при проникновении небольшого количества бактерий во внутреннюю среду организма, возбудители не находят условий для адгезии и колонизации и быстро уничтожаются нейтрофилами и с помощью других защитных механизмов.

Синегнойная палочка представляет опасность для новорожденных детей (особенно недоношенных, с пороками развития и т.п.), стариков и людей с сопутствующими заболеваниями и ослабленным иммунитетом, вызывая вторичную инфекцию. Способствуют развитию инфекции повреждения кожных покровов (ожоги, раны различного происхождения, трофические язвы и пролежни и др.) или слизистых оболочек (различные воспалительные процессы урогенитального и желудочно-кишечного тракта, дыхательной системы, слизистых оболочек глаза и т.п.). При этом часто нарушается кровоснабжение и

трофика тканей и *P. aeruginosa* попадает в благоприятные условия, в которых могут реализоваться присущие ей вирулентные свойства.

Развитие инфекционного процесса начинается с адгезии возбудителей на гликопротеидных рецепторах соединительной ткани, обнажившихся при повреждении кожного покрова или на рецепторах эпителиальных клеток, выстилающих пораженные слизистые оболочки. Далее происходит колонизация в области входных ворот инфекции. Размножившиеся возбудители вырабатывают ферменты, токсины и другие биологически активные вещества, из распавшихся бактерий освобождается эндотоксин. Это способствует формированию воспалительного очага с гнойным отделяемым сине-зеленого цвета, инвазии возбудителей в окружающие ткани. Нарушается кровоснабжение тканей, развиваются некротические процессы и общая интоксикация организма, сопровождающаяся лихорадкой. При этом, благодаря действию антифагоцитарных факторов и комплекса протеаз, подавляется активность клеточных и гуморальных факторов иммунитета (и без того значительно сниженная). Синегнойная инфекция может остаться локализованной, и при эффективном лечении антибиотиками и наличии иммунного ответа заканчивается выздоровлением. Но нередко защитные силы организма настолько ослаблены, что не справляются с инфекцией, антибиотикотерапия не дает должного эффекта, в результате чего происходит генерализация инфекции. Попавшие в кровь бактерии и освободившийся из распавшихся клеток эндотоксин участвуют в развитии септического процесса, который протекает по типу септикопиемии.

Недостаточная эффективность лечения антибиотиками и другими антибактериальными препаратами связана с природной лекарственной устойчивостью *P. aeruginosa*, которая значительно более выражена, чем у других грамотрицательных бактерий, а также с приобретенной устойчивостью за счет R-плазмид. Кроме того, синегнойная палочка защищена от воздействия антибиотиков слоем слизистого полисахарида.

Клинически синегнойная инфекция проявляется в виде очаговых

поражений различных тканей и органов. Часто возникает гнойно-воспалительная инфекция ожоговых поверхностей и различных ран (с гнойным отделяемым сине-зеленого цвета). Нередко поражается респираторный тракт с развитием тяжелой пневмонии и плеврита, а также мочеполовая система, что проявляется в виде циститов, пиелонефритов, воспалительных заболеваний генитальной сферы.

Может развиваться отит, кератит и паноптальмит, менингит, эндокардит, остеомиелит и др. Как указывалось выше, нередко происходит генерализация инфекции с развитием септикопиемии, для которой характерно очень тяжелое течение, формирование новых очагов инфекции в различных тканях и органах. Характерно образование метастатических язв на коже. Примерно в 50% случаев септическая форма синегнойной инфекции заканчивается гибелью больного (главным образом от инфекционно-токсического шока).

Иммунитет при синегнойной инфекции, в первую очередь, обусловлен факторами естественной резистентности организма. В процессе инфекции образуются антитела (антимикробные и антитоксические), имеющие защитное значение, активируется фагоцитоз.

Установлено, что при высоком титре антител, чаще наступает выздоровление. И, наоборот, при малом накоплении антител или падении их титра - прогноз неблагоприятен.

5.7 Лабораторная диагностика

Основной метод исследования – бактериологический, серологические методы имеют ограниченное применение.

Исследуемые материалы: гнойное отделяемое и экссудаты из различных поверхностных очагов поражения, мокрота, бронхиальный аспират, пунктаты абсцессов, кровь, ликвор, моча, испражнения, отделяемое гениталий, секционный материал.

Бактериологическое исследование. Путем предварительной микроскопии окрашенных по Граму мазков из клинического материала устанавливают

присутствие грамтрицательных мелких палочек (это могут быть псевдомонады, энтеробактерии и др.) и грамположительной микрофлоры. Определяют их количественное соотношение, степень обсемененности бактериями испытуемых проб.

Для выделения чистой культуры исследуемый материал можно засеять на чашки с МПА и кровяным агаром, но предпочтительнее использовать селективные среды. Одновременно делают посевы на среду Эндо, желточно-солевой агар для выделения энтеробактерий и пиогенных кокков.

Селективные среды для синегнойных палочек создают условия для преимущественного роста и размножения этих бактерий и содержат вещества, ингибирующие рост других микробов-ассоциантов, находящихся в исследуемом материале. К таким средам относятся: ЦПХ-агар (агар с хлоридом цетилпиридиния), цетримидный агар (Среда №9), агар *Pseudomonas* CN (содержит налидиксовую кислоту и цетримид (CN-добавка)). Используют также среду с ацетами, которая является единственным источником углерода и азота, что обеспечивает рост синегнойной палочки, но не других бактерий в силу недостаточности питательных веществ.

Посевы на селективных средах, а также на кровяном агаре (для выявления гемолиза) инкубируют при температуре 37° и 42°С в течение суток, а затем учитывают результат. Наличие роста не только при 37°, но и при 42°, образование характерных колоний сине-зеленой окраски на фоне окрасившейся питательной среды (вследствие продукции пигмента пиоцианина), имеющих своеобразный запах жасмина, положительный оксидазный тест указывает на принадлежность бактерий к виду *P.aeruginosa*. По этим признакам удастся идентифицировать около 75% выделенных штаммов.

Для определения видовой принадлежности штаммов с менее характерными свойствами, не образующих пиоцианина, проводят комплексное исследование их биологических свойств. Их засевают на среды, стимулирующие пигментообразование: на среду Кинга А и Кинга В, индуцирующих, соответственно, образование пиоцианина и пиовердина. Исследуют и ряд других

свойств:

- наличие подвижности (в «раздавленной» или «висячей» капле)
- образование цитохромоксидазы и нитратредуктазы (с образованием газообразного азота)
- способность окислять глюкозу (на окислительно-ферментивной среде)
- положительный тест на желатиназу
- отсутствие лизиндекарбоксилазы, аргининдигидразы.

Биохимическое тестирование целесообразно проводить на AP1-20 E или других подобных тест-системах.

Для эпидемиологического анализа проводят внутривидовую дифференциацию (внутривидовое маркирование) выделенных штаммов синегнойной палочки. Используют серотипирование, пиоцинотипирование, фаготипирование.

Все выделенные от больных штаммы *P. aeruginosa* в обязательном порядке проверяют на чувствительность к антибиотикам.

Серологические исследования. Их проводят далеко не всегда. Применяют МИФ, реакцию агглютинации и латекс-агглютинации, РИГА, непрямой ИФА. С помощью серологических реакций возможно определить присутствие специфического антигена в исследуемом материале больного синегнойной инфекцией. Чаще серологические реакции используют для выявления нарастания титра антител в парных сыворотках больного. Определение титра антител целесообразно проводить также для оценки состояния гуморального иммунитета и эффективности лечения, что помогает прогнозировать течение и исход заболевания.

5.8 Лечение и специфическая профилактика

Синегнойная инфекция плохо поддается антибиотикотерапии, что обусловлено множественной лекарственной резистентностью *P.aeruginosa*, особенно выраженной у госпитальных штаммов. С некоторым успехом применяют антипсевдомонадные р-лактамы антибиотики (карбенициллин,

азлоциллин, имипенем, пиперацillin, цефтазидим, цефоперазон, меропенем) в комплексе с аминогликозидами (гентамицин, тобрамицин, амикацин) и фторхинолонами. Весьма эффективен химиопрепарат диоксидин, применяемый местно в виде раствора для орошений и промываний очаговых поражений. При энтероколите и дисбактериозах кишечника, вызванных синегнойной палочкой, применяют комплексный интести-бактериофаг, куда входит псевдомонадный бактериофаг.

Для пассивной иммунотерапии используют нормальный человеческий иммуноглобулин. При хронической вялотекущей синегнойной инфекции иногда применяют аутовакцину, приготовленную из убитой культуры *P. aeruginosa*, выделенной от данного больного. Одновременно со специфическим лечением осуществляют патогенетическую и симптоматическую терапию.

Плановая специфическая профилактика не проводится, хотя разработано несколько типов синегнойных вакцин. Очень важно соблюдать все необходимые меры общей профилактики и, прежде всего, проводить эффективную дезинфекцию и стерилизацию всех объектов, с которыми соприкасается больной [2].

ГЛАВА 6. НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ ОБЛИГАТНЫЕ АНАЭРОБЫ - ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ АНАЭРОБНЫХ ИНФЕКЦИЙ

6.1 Общая характеристика

Инфекции, вызываемые облигатными анаэробами, подразделяются на клостридиальные и неклостридиальные:

1. Возбудители клостридиальных раневых инфекций относятся к роду *Clostridium*. Они вызывают столбняк (*C.tetani*) и газовую гангрену – полимикробную инфекцию, вызываемую *C.perfringens* и другими клостридиями.
2. Возбудителями неклостридиальных гнойно-воспалительных анаэробных инфекций является большая, неоднородная группа неспорообразующих облигатных анаэробных бактерий.

Неклостридиальные анаэробные инфекции – гнойно-воспалительные заболевания, вызываемые неспорогенными облигатными анаэробами. Как правило, к ним относятся полимикробные, эндогенные инфекции, для которых характерно поражение различных тканей и органов с развитием абсцессов, флегмон, воспалительных некротических очагов в глубине ран, в полости суставов и гнойно-воспалительных процессов в различных тканях и органах.

Возбудителями этих заболеваний являются условно-патогенные, не образующие спор анаэробные бактерии представители резидентной, нормальной микрофлоры человека, которые заселяют различные биотопы организма человека. К этим возбудителям относятся:

1. Грамотрицательные папочки, относящиеся к родам *Bacteroides*, *Prevotella* и *Porphyromonas*, *Fusobacterium*.
2. Грамположительные палочки, относящиеся к родам *Propionibacterium*, *Eubacterium*.
3. Грамположительные кокки - принадлежат к родам *Peptococcus*,

Peptostreptococcus.

4. Грамотрицательные кокки относятся к роду *Veillonella*.

Среди этих групп возбудителей наибольшее значение в патологии человека имеют грамотрицательные палочки – бактериоды (таб. 4) и фузобактерии; но и представители остальных групп могут участвовать в развитии заболевания [2].

Таблица 4. Клинически наиболее значимые неспорообразующие анаэробы [2]

Роды	Виды
Род <i>Bacteroides</i> – содержит сахаролитические виды	<i>B.fragilis</i> , <i>B.ureolyticus</i> , <i>B.thetaiotaomicron</i> , <i>B. vulgaris</i> , <i>B.ovatiis</i> , <i>B.distasonis</i>
Род <i>Prevotella</i> – содержит умеренно сахаролитические виды	<i>P.melanmogenica</i> , <i>P.intermedia</i> , <i>P.bivia</i> , <i>P.disiens</i> , <i>P.buccalis</i>
Род <i>Porphyromonas</i> – содержит несахаролитические виды	<i>P.gingivalis</i> , <i>P.endodontales</i> , <i>P.asaccharolitica</i>

Бактериодами принято называть представителей всех трех родов - *Bacteroides*, *Prevotella* и *Porphyromonas*. Типовым видом является *B.fragilis*, который обладает наибольшей патогенностью и способен вызывать моноинфекцию (в отличие от других видов, способных вызывать заболевание в сочетании с другими возбудителями). Бактериоды – небольшие полиморфные грамотрицательные палочки, в мазке они располагаются поодиночке, иногда парами. Большинство из них не обладает подвижностью, некоторые образуют капсулу. Являясь облигатными анаэробами, бактериоды способны некоторое время выживать в присутствии кислорода; аэротолерантностью обладают виды, имеющие ферменты каталазу и супероксиддисмутазу (например, *B. fragilis*).

Бактериоды – хемоорганотрофы со сложными питательными потребностями, которых культивируют на специальных многокомпонентных средах с добавлением крови или гемина и витамина К (например, среда КАБ - кровяной агар для бактериодов).

Среды должны иметь низкий окислительно-восстановительный потенциал. Культивирование проводят в анаэробных условиях. Бактероиды обладают биохимической активностью - ферментируют углеводы (кроме представителей рода *Porphyromonas*), расщепляют пептон, промежуточные продукты метаболизма, образуя летучие жирные кислоты.

Антигены бактериоидов представлены О-, К-, Н-антигенами. Антигенные свойства бактериоидов характеризуются изменчивостью и неоднородностью и практически не используются в целях их идентификации.

6.2 Экология и условия, способствующие развитию анаэробных инфекций

Являясь представителями естественной микрофлоры, возбудители неклостридиальных анаэробных инфекций заселяют различные эпителии организма человека, преобладая в кишечнике, ротовой полости и влагалище. Причем разным видам возбудителей свойственна различная локализация. Представители рода *Bacteroides* преобладают в толстом кишечнике, реже встречаются в других областях. Содержание бактериоидов в 1 г фекалий составляет 10^9 микробных клеток. В ротовой полости преобладают бактериоиды из рода *Prevotella* (особенно *P.melaninogenica*), а также фузобактерии; встречаются и представители родов *Bacteroides* и *Porphyromonas*. Бактерии находятся в десневых карманах, полостях кариозных зубов, при гингивитах их количество в ротовой полости значительно нарастает.

Во влагалище присутствуют бактериоиды рода *Prevotella* (чаще всего - виды *P. bivia* и *P. disiens*), а также анаэробные кокки. *B. fragilis* появляется при патологии генитального тракта.

Совместно с другими представителями нормальной микрофлоры человека, неспоровые облигатные анаэробы, заселяя определенные экологические ниши, препятствуют их колонизации проникшими извне патогенными бактериями, участвуют в процессе пищеварения, выполняют другие функции нормальной микрофлоры, но при определенных условиях могут вызвать анаэробную гнойно-

воспалительную эндогенную инфекцию, чему способствуют:

1. наличие глубоких, обширных ран с нарушением кровоснабжения;
2. снижение в ране окислительно-восстановительного потенциала;
3. размножение в ране сопутствующей аэробной и факультативно-анаэробной микрофлоры, в процессе жизнедеятельности поглощающей кислород.

Предрасполагающими факторами для развития анаэробной инфекции являются также различные хирургические операции, наличие злокачественных новообразований, сахарный диабет, ишемия тканей, травматические и другие повреждения внутренних органов с их перфорацией. К неблагоприятным последствиям может привести длительная химиотерапия, гормонотерапия, применение цитостатических средств.

Все эти факторы способствуют проникновению анаэробов в прилежащие ткани и органы и/или снижению естественной резистентности организма, в результате чего в очаг первичного поражения попадает находящаяся в данном эпителии анаэробная полимикробная (смешанная) инфекция. Поскольку инфекция носит эндогенный характер, больной человек не представляет опасности для окружающих, не возникает госпитальная инфекция.

6.3 Патогенез гнойно-воспалительных неклостридиальных анаэробных инфекций

Как уже указывалось, гнойно-воспалительные неклостридиальные анаэробные инфекции возникают при сочетании ряда благоприятных условий: при наличии первичного внутреннего повреждения с нарушенным кровоснабжением и ишемией; снижении окислительно-восстановительного потенциала и на фоне ослабления защитных сил организма.

Распространение анаэробной инфекции, как правило, начинается с поврежденных слизистых оболочек, откуда вегетирующие на них бактероиды и другие неспорогенные анаэробы (а также аэробы и факультативные анаэробы) проникают вглубь ткани. В условиях некротизации ткани и гипоксии

(развившихся вследствие нарушения кровоснабжения), возбудители начинают размножаться.

Этому способствует присутствие аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, которые в процессе жизнедеятельности редуцируют кислород, тем самым, увеличивая анаэробноз. Некоторые бактериоиды обладают азотолерантностью, образуя ферменты, разрушающие кислород, что дает этим возбудителям преимущество в выживании и размножении в очаге инфекции. Фагоцитарная реакция подавляется присутствием жирных кислот, продуцируемых бактериоидами и наличием у некоторых видов полисахаридных капсул. Гистолитические ферменты; выделяемые возбудителями, вызывают деструкцию ткани, увеличивают анаэробноз, способствуют дальнейшей инвазии бактериоидов, фузобактерий и др. анаэробов в окружающие ткани и развитию абсцессов. Процессы некротизации нарастают, формируются гнойно-воспалительные очаги с гангренозным распадом тканей и зловонным гноем, характерно также образование абсцессов в различных тканях и органах (в головном мозге, печени, органах малого таза женщин и др.).

Может развиваться и генерализованная инфекция с диссеминацией возбудителей и образованием множественных метастатических очагов в различных тканях и органах (гематогенных абсцессов).

Тяжесть инфекции усиливает эндотоксин, освобождающийся из распавшихся клеток, который проявляет свое действие опосредовано - через систему медиаторов воспаления.

Клинические проявления гнойно-воспалительных инфекций, вызываемых неспорообразующими облигатными анаэробами многообразны, зависят как от локализации паталогического очага и от возбудителей. Возбудители заносятся контактным путем из близко расположенных биотопов, где они вегетируют из полости рта, кишечника, влагалища или распространяются гематогенным путем при десеминированной инфекции.

В инфекциях области головы и шеи – различные инфекции ротовой полости, десен, некротизирующие инфекции глотки, придаточных пазух,

органов зрения и слуха, гангрена лицевой области – ведущее значение как этиологическому фактору принадлежит *Porphyromonas gingivalis*.

Инфекции центральной нервной системы – абсцессы головного мозга – в 85% имеют анаэробную этиологию и вызываются чаще всего грамположительными анаэробными кокками (пептококками и пептострептококками) и реже фузобактериями.

Инфекционные анаэробные процессы в органах дыхания – пневмония и абсцессы легких – вызываются, как правило, фузобактериями.

В инфекциях органов брюшной полости, которые локализуются ниже диафрагмы – перитониты, аппендицит, абсцессы печени – основным этиологическим анаэробным фактором является *Bacteroides fragilis*, который, наряду с другими возбудителями, поступает в патологический очаг из основного резервуара микроорганизмов ЖКТ – дистального отдела кишечника.

При поражении тазовых органов женщин (абсцессы, эндометриты) возбудители проникают из влагалища, наиболее часто представителем неспорогенных анаэробов является *Prevotella melaninogenica*.

Кожу и подкожную клетчатку – глубокие инъекционные абсцессы, флегмоны – наиболее часто поражают бактерии рода *Propionibacterium*.

Поражения костей и суставов – остеомиелиты, гнойные артриты – часто вызывают грамположительные анаэробные кокки (пептококки и пептострептококки) и фузобактерии.

6.4 Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика включает бактериологический метод (основной), бактериоскопический, ускоренные и экспресс-методы исследования.

Исследуемые материалы: кусочки пораженных тканей, гной, отделяемое, полученное из глубины поражения, пунктаты из ограниченных очагов воспаления (абсцесс, флегмона, артрит, остеомиелит и т.п.).

При взятии материала необходимо исключить как контакт с кислородом воздуха, так и контаминацию посторонней микрофлорой, поэтому при взятии и

доставке образцов в лабораторию (сроки доставки не должны превышать 1 часа) необходимо соблюдать следующие условия:

- забор клинического материала производится шприцом с притертым поршнем;
- при большом количестве исследуемого материала (5-7 мл) его можно транспортировать в пробирке с газовой смесью без кислорода, закрытой резиновой пробкой или непосредственно в шприце;
- при небольшом количестве – материал помещают в глубину транспортной среды в пробирку с газовой смесью, закрытой резиновой пробкой;
- кровь, взятую из вены, в объеме 5-10 мл засевают непосредственно у постели больного в питательную среду в соотношении крови и питательной среды 1:10 - 1:20.

Бактериологический метод.

На 1-м этапе производят микроскопию исследуемого материала и посев на элективные и селективные среды. Питательные среды имеют в своем составе восстановители кислорода (глюкозу или декстрозу, цистеин, тиогликолат, гемин, кровь и/ или другие ингредиенты, например - среды КАБ, 105К, клостридиум-агар, Цесслера, Вильсен-Блэра и др. При смешанных инфекциях для угнетения роста факультативных анаэробов в среду добавляют антибиотики: неомицин, канамицин, налидиксовую кислоту или др. Посевы инкубируют в анаэробных условиях (анаэроостат, система GAS-Pak, анаэробный бокс и т.п.) при 37°C 48-72 часа (для некоторых анаэробов сроки культивирования составляют 4-7 суток).

2-й этап – изучают макроскопически и микроскопически изолированные колонии: на анаэробном кровяном агаре *B.fragilis* образуют круглые выпуклые серовато-белые колонии, *P.melaninogenica* – круглые колонии с коричневым или черным пигментом, анаэробные кокки – мелкие выпуклые непрозрачные колонии серовато-белого цвета.

Для получения чистой культуры каждую отобранную колонию параллельно засевают на 2 чашки с питательной средой. Одну чашку

инкубируют в анаэробных условиях, другую – в аэробных (исключается рост облигатных анаэробов) при 37°C 24-48 часов.

3-й этап – идентификация выделенных культур облигатных анаэробов по биохимическим свойствам: например, производят засев на API-20A тест-систему.

Дифференциальные признаки наиболее значимых облигатных анаэробов представлены в таблице № 7. Идентификация может проводиться также при помощи газожидкостной хроматографии.

4-й этап – заключение по проведенному исследованию.

Для обоснования тактики лечения, клиницисту необходимы сведения о наличии или отсутствии в исследуемом материале облигатных неспорообразующих анаэробов. С этой целью применяются ускоренные и экспресс-методы, не являющиеся альтернативой бактериологическому методу – прямой МИФ, выявление аутофлюоресценции, газожидкостная хроматография.

Выявление аутофлюоресценции проводится при помощи люминесцентного микроскопа или лампы Вуда. Нативный материал или выросшие колонии облучают длинноволновыми ультрафиолетовыми лучами. Отдельные виды *Prevotella* и *Porphyromonas* светятся красным светом, а фузобактерии – зеленым.

Метод газожидкостной хроматографии основан на обнаружении летучих жирных кислот (масляная, валериановая, пропионовая, капроновая и др.), которые продуцируются облигатными анаэробами в процессе своей жизнедеятельности. Он может применяться как ориентировочный, позволяющий судить о наличии облигатных анаэробов в нативном материале, а также, на основании изучения спектра летучих жирных кислот у выделенной культуры, можно определить ее видовую принадлежность.

6.5 Лечение гнойно-воспалительных инфекций, вызванных облигатными неспорообразующими бактериями

Лечению подлежат все больные с гнойно-воспалительными заболеваниями. Терапия проводится комплексно: воздействие на возбудителя, восстановление обменных нарушений и повышение сопротивляемости организма. Этиотропная терапия гнойно-воспалительных инфекций анаэробной этиологии при тяжелом течении проводится в комбинации с хирургическим вмешательством [2].

ГЛАВА 7. ОБЛИГАТНЫЕ АНАЭРОБЫ – ВОЗБУДИТЕЛИ АНАЭРОБНОЙ ГАЗОВОЙ ИНФЕКЦИИ – ГАЗОВОЙ ГАНГРЕНЫ

7.1 Общая характеристика

Газовая гангрена – тяжелая раневая инфекция полимикробной этиологии, для которой характерны выраженная интоксикация, прогрессирующий некроз тканей, сопровождающийся их отеком и газообразованием. Наибольшую опасность это заболевание представляет в военное время, но встречается и в мирное и чаще всего связано с травмами.

Важнейшее место в этиологической структуре газовой гангрены занимает *C.perfringens*, поэтому этому виду уделено основное внимание. Возможными возбудителями могут быть *C.novyi*, *C.septicum*, *C.histolyticum*, *C.sordelli*. Возбудители газовой гангрены обнаруживаются в ране в различных ассоциациях друг с другом, а также с гноеродными кокками и грамотрицательными палочками.

C.perfringens – грамположительные крупные палочки (4-8 x 1,0- 1,5 мкм) со слегка закругленными концами, способны образовывать споры, располагающиеся субтерминально или центрально, имеют капсулу, не обладают подвижностью, являются облигатными анаэробами, но толерантны к кислороду. Биохимически активны: ферментируют глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу и другие углеводы до кислоты и газа. Продуцируют протеолитические ферменты, расплавляет свернутую сыворотку или вареные кусочки мяса, образуют H₂S, обладают гемолитической активностью. Культивируются на многокомпонентных питательных средах, содержащих питательный агар, восстановители кислорода, факторы роста. Например, таких как сердечно-мозговой агар, TSN-агар и др.; для селективного роста клостридий в питательную среду добавляют неомисин и другие антибиотики.

7.2 Антигенный состав *C.perfringens*

Выделяют 5 серотипов *C.perfringens*, обозначаемых от А до Е в зависимости от серологических отличий экзотоксина. Тип А *C.perfringens* наиболее часто вызывает газовую гангрену, серотипы А, С, D, Е могут вызывать пищевые токсикоинфекции, особенно тяжелые некротические энтериты вызывает серотип С.

7.3 Экология и эпидемиология возбудителей газовой гангрены

Естественной средой обитания клостридий является кишечник животных, преимущественно травоядных, человека и окультуренные почвы, куда клостридии вместе с фекалиями попадают в большом количестве. В почве клостридии длительно сохраняются в форме спор, при благоприятных условиях способны к вегетации.

Газовая гангрена – раневая инфекция. Ее возбудители не способны размножаться в живых тканях с полноценным кровоснабжением, обеспечивающим их кислородом. Как правило, заболевание развивается при тяжелых военных ранениях или травмах мирного времени со значительными повреждениями тканей, разможением мышц, нарушением кровотока. При таких повреждениях ткани омертвевают, в них создаются анаэробные условия. Являясь «некропаразитами», клостридии, попав в раны вместе с почвой, обрывками одежды и другими загрязненными материалами, находят благоприятные условия и интенсивно размножаются, вызывая газовую гангрену. При ранениях кишечника возможно развитие эндогенной инфекции.

7.4 Факторы патогенности *C.perfringens*

C.perfringens обладает высокой инвазивностью и токсигенностью, что связано, прежде всего, со способностью продуцировать 12 токсинов и ферментов, обозначаемых греческими буквами. Они обладающих гистолитической и летальной активностью, их разделили на 4 «больших» летальных токсина и 8 «малых» токсинов (большинство из них - ферменты

патогенности).

«Большие» токсины: альфа (α) ~ токсин (фосфолипаза С, альфа-гемолизин, альфа-лецитиназа) является наиболее важным и продуцируется не всеми серотипами *C.perfringens*. Обладает активностью фермента лецитиназы (фосфолипаза С). Основными сайтами связывания токсина являются биологические мембраны мышечной ткани. Токсин вызывает гидролиз фосфатидов, входящих в состав клеточных мембран, при этом нарушается проницаемость клетки, ее деструкция, возникает отек, сопровождающийся снижением окислительно-восстановительного потенциала, активируются эндогенные протеазы, происходит массивный аутолиз тканей с разрушением мышечной ткани, миелина нервных волокон, эритроцитов, лейкоцитов, тромбоцитов, эндотелиальных клеток. Действие альфа-токсина приводит к увеличению сосудистой проницаемости, оказывает гепатотоксическое действие, приводит к дисфункции миокарда (брадикардия, гипотензия).

Бета - токсин продуцируют серотипы В и С *C.perfringens*. Рецепторы к этому токсину локализуются на слизистой тонкого кишечника. Его действие обуславливают очаговый, отек, геморрагии и сегментарный кишечный некроз, характерный для кишечной гангрены.

Эпсилон (γ) - токсин вырабатывается *C.perfringens* в виде протоксина, активируется протеазами кишечника, увеличивает сосудистую проницаемость слизистой пищеварительного тракта.

Йота - токсин - является четвертым летальным токсином. Обладает некротической активностью и повышает сосудистую проницаемость.

Энтеротоксин продуцируется серотипом А *C.perfringens* – вызывает пищевые токсикоинфекции. Энтеротоксин повышает проницаемость мембран энтероцитов, что приводит к потере воды и электролитов и клинически выражается в виде диареи.

«Малые» токсины:

Дельта (δ) - токсин – обладает гемолитической активностью.

Тета (θ) - токсин – разрушает холестерин клеточных мембран, оказывает

гемолитическое и цитолитическое действие.

Каппа (κ) – токсин (коллагеназа, желатиназа) – лизирует белковые структуры, обладает некротическим действием.

Лямбда (λ) – токсин - протеаза.

Мю (μ) – токсин - гиалуронидаза

Ню (ν) – токсин - ДНК-аза.

Нейраминидаза - модифицирует рецепторы на клетках.

«Малые» токсины усиливают действие альфа-токсина.

7.5 Патогенез газовой гангрены

Возбудители газовой гангрены, прежде всего *C.perfringens*, попадают в организм человека через поврежденную кожу и слизистые оболочки. Наиболее часто инфекция развивается в ранах с разможением мышечной ткани, нарушенным кровоснабжением, что сопровождается снижением или отсутствием воспалительной реакции и затруднением действия гуморальных защитных факторов. В результате происходит омертвление тканей, развивается местная гипоксия.

Попавшие в рану сопутствующие бактерии – аэробы и факультативные анаэробы, редуцируя кислород, усиливают анаэробноз в очаге повреждения. Являясь «некропаразитами», возбудители газовой гангрены попадают в благоприятную среду и в течение инкубационного периода, длительностью от нескольких часов до недели, интенсивно размножаются, продуцируя многочисленные токсины и ферменты.

При достаточной концентрации токсинов и ферментов, возникают клинические проявления инфекции. Накопившись в первичной зоне некроза, токсические продукты проникают в окружающие здоровые ткани, быстро расширяя зону некротических повреждений. Альфа-токсин вызывает гибель клеток мышечной ткани (мионекроз), ферменты – коллагеназа, гиалуронидаза и другие – разрушают соединительную ткань. Вслед за токсинами в некротизированную ткань проникают и интенсивно размножаются в них

кlostридии, продуцируя новые порции токсинов, которые, продвигаясь в здоровые ткани, еще увеличивают зону повреждения. Процесс распространения газовой гангрены идет очень быстро.

Вследствие воздействия токсинов повышается проницаемость кровеносных сосудов для плазмы и форменных элементов крови, развивается отек. Это приводит к сдавлению и ишемизации ткани и способствует развитию некротических изменений.

К некрозу приводит также характерное для газовой гангрены газообразование в ткани. Обладая выраженной ферментативной активностью, *C.perfringens* и, в меньшей степени другие возбудители, ферментируют мышечный гликоген. Накапливаются газообразные продукты (CO_2 , H_2) и молочная кислота, активирующая протеолитические тканевые ферменты. Газообразование увеличивает сдавление тканей. Присутствие газа определяют по симптому црепитации – характерному «хрусту» или «скрипу» при надавливании на кожу в области поражения.

Все эти процессы приводят к прогрессирующему распространению мионекроза. Чаще всего поражаются богатые мышечной тканью нижние конечности и ягодичная область. Пораженная конечность увеличивается в объеме, кожа чернеет и лопается под давлением отечной жидкости и газа.

Одновременно наблюдается общая тяжелая интоксикация организма. Поступая в кровь, токсические вещества кlostридий, особенно альфа-токсин, а также продукты распада тканей организма приводят к гемолизу, развитию почечной недостаточности, токсическому шоку. Летальный исход может наступить в течение 2-3 дней от начала заболевания.

Иммунитет при газовой гангрене формируется антитоксический и антимикробный. Однако постинфекционный антитоксический иммунитет не обладает достаточной напряженностью.

7.6 Лабораторная диагностика газовой гангрены

Проводится микроскопическим, бактериологическим методами, ставят биопробу, используют экспресс-методы.

Материалы для исследования: отделяемое раны, кусочки поврежденных тканей, отечная жидкость, секционный материал. При необходимости исследуют перевязочный и шовный материал.

Исследуемый материал берут из глубины раны и помещают в транспортную среду, в которой созданы анаэробные условия. Жидкие материалы забирают шприцом с притертым поршнем и вносят в транспортную среду или, если материала много, доставляют в бактериологическую лабораторию непосредственно в заполненном шприце. Материал для бактериоскопии берут ватным тампоном и помещают в стерильную пробирку.

Бактериологическое исследование. Бактериологическое исследование занимает длительное время и выполняет подтверждающую роль в диагностике газовой гангрены.

1-й этап – Исследуемый материал делят на две порции, кусочки тканей предварительно растирают в ступке и разводят изотоническим раствором NaCl. Одну порцию прогревают при 80°C в течение 20-30 минут для уничтожения попавших в рану неспоровых бактерий, что облегчает получение чистой культуры клостридий, споры которых сохраняют жизнеспособность. Испытуемые пробы – прогретую и непрогретую – исследуют параллельно, засевая на элективные и/или селективные среды для анаэробов. Посевы инкубируют в анаэробных условиях при 37°C в течение 2-4 суток.

2-й этап – Макроскопически и микроскопически изучают выросшие колонии. На анаэробном кровяном агаре клостридии образуют крупные, плоские, чаще шероховатые, колонии, нередко дают ползучий рост. Колонии *C.perfringens* обычно окружены двойной зоной гемолиза: прозрачной зоной полного гемолиза вокруг колоний и зоной неполного α-гемолиза по периферии.

На среде, содержащей яичный желток, α-токсин гидролизует лецитин, что проявляется в виде непрозрачных опалесцирующих преципитатов.

Изучают мазки из колоний, окрашенные по Граму и нативные препараты «раздавленная капля» – для определения подвижности. *C.perfringens* не обладает подвижностью в отличие от других клостридий, являющихся перитрихами. Целесообразно использовать МИФ.

Выделенную культуру проверяют на аэротолерантность, инкубируя на кровяном агаре в аэробных условиях (где не должно быть роста) и в анаэробных условиях, в которых клостридии должны расти.

3-й этап – Выделенную культуру идентифицируют – определяют видовую принадлежность. С этой целью применяют биохимические тест-системы, например, API-20A.

Примечание: по такому же принципу проводят бактериологическую диагностику столбняка.

Для ускоренной диагностики газовой гангрены производят посевы исследуемого материала на среду Вильсон-Блера и в пробирку с молоком – по изменению которых можно обнаружить с достаточной надежностью присутствие *C.perfringens* в течение 6 часов. Культивирование проводят при 42°C.

Среда Вильсон-Блера через 4-6 часов чернеет, появляется множество разрывов агара вследствие газообразования. Молоко через 2-4 створаживается – сверху образуется сгусток казеина, пронизанный пузырьками газа, в нижней части пробирки – прозрачная сыворотка. Если используют лакмусовое молоко, то сгусток приобретает красный цвет.

Кроме того, учитывают результаты микроскопического исследования содержимого пробирок – по Граму, Бурри-Гинсу и прямым методом иммунофлюоресценции (МИФ).

Для экспресс-анализа применяют метод прямой иммунофлюоресценции и газожидкостную хроматографию, по которым результат получают в течение 1,5-2 часов.

Метод газожидкостной хроматографии основан на выявлении в исследуемом материале продуктов метаболизма клостридий, преимущественно

летучих жирных кислот – пропионовой, масляной, изокапроновой и др. По характеру спектра этих кислот выявляют присутствие возбудителей рода *Clostridium*, но не удается определить их видовую принадлежность (хотя исследования в этом направлении ведутся).

Биопроба – реакция нейтрализации экзотоксина антитоксином *in vivo*. Биопробу проводят на белых мышах или морских свинках. Тип экзотоксина (и соответственно вид возбудителя) определяют у испытуемой бульонной культуры клостридий. Для этой цели порции центрифугата культуры смешивают с противогангренозными антитоксическими сыворотками (антиперфрингенс, антисептик, антигистолитик и др.), выдерживают 40 минут и вводят нескольким группам животных. По выжившей группе животных (вследствие нейтрализации токсина соответствующей антисывороткой) определяют вид испытуемой культуры. Остальные группы животных гибнут, так как антитоксические сыворотки не соответствовали экзотоксину определяемого возбудителя.

7.7 Профилактика и лечение газовой гангрены

Профилактика и лечение газовой гангрены должно проводиться комплексно и включать в себя своевременную и правильную хирургическую обработку ран, гипербарическую оксигенацию, применение антибиотиков и противогангренозной поливалентной сыворотки. Противогангренозную поливалентную лошадиную сыворотку, содержащую антитела против токсинов *C.perfringens*, *C.novyi*, *C.septicum* назначают с профилактической целью при осложненных травмах и для лечения газовой гангрены. Для этиотропной терапии газовой гангрены применяют антибиотики бензилпенициллин, клиндамицин, доксициклин, эритромицин. Препаратами резерва являются цефазолин, карбокси- и уреидопенициллины, имипенем [2].

ГЛАВА 8. ВОЗБУДИТЕЛЬ СТОЛБНЯКА

8.1 Общая характеристика возбудителя столбняка

Столбняк – раневая анаэробная инфекция с тяжелым течением. Характеризуется токсическим поражением нервной системы, проявляющимся в виде тонических и клонических судорог скелетной мускулатуры; поражаются и другие системы.

Возбудитель столбняка – *C. tetani* – относится к роду *Clostridium*. Это грамположительные, подвижные (перитрихи) палочки, имеющие размеры 1-8 мкм х 0,3-0,8 мкм. Их характерным морфологическим признаком является способность образовывать терминально расположенные споры округлой формы. Поэтому палочку со спорой на конце сравнивают с «барабанной палочкой». В мазках столбнячные бациллы располагаются поодиночке или короткими цепочками.

C. tetani является облигатным анаэробом, более строгим, чем возбудители газовой гангрены. Он хорошо растет на кровяном анаэробном агаре и на других средах, предназначенных для культивирования анаэробов. Большинство штаммов *C. tetani* не ферментирует углеводов, имеют слабо выраженную протеолитическую активность. Расщепление белков и пептонов до аминокислот и далее до летучих кислот и индола происходит медленно, имеется фермент желатиназа. На кровяном агаре *C. tetani* образует нежные прозрачные колонии, окруженные малозаметной зоной гемолиза.

Антигены *C. tetani*. Столбнячные бациллы имеют О- и Н-антигены. Термостабильный О-антиген является общим для всех представителей вида. По строению жгутикового термолабильного Н-антигена *C. tetani* подразделяется на 10 сероваров. Все варианты возбудителя столбняка продуцируют экзотоксин, идентичный по антигенным свойствам, который нейтрализуется антитоксической противостолбнячной сывороткой единого типа.

Вегетативные формы *C. tetani* по своей устойчивости к воздействию различных факторов внешней среды не отличаются от других бактерий.

Бактерии гибнут при прогревании до 80°C в течение 30 минут, быстро погибают под воздействием обычных дезинфицирующих веществ. Значительной устойчивостью к воздействиям факторов внешней среды обладают споры, хотя степень их устойчивости у различных штаммов варьирует. При нагревании до 90°C споры сохраняют жизнеспособность в течение 2-3 часов, при кипячении гибнут через 30-50 минут, в сухом состоянии переносят 20-минутное нагревание до 155°C. В растворах обычных дезинфектантов выживают до 10-12 часов. В почве могут сохраняться многие годы (до 30 лет).

8.2 Эпидемиология столбняка

Возбудители столбняка широко распространены в природе. Существуют два основных места обитания *C. tetani* – окультуренная почва и кишечник многих животных, преимущественно травоядных, и человека. Из этих резервуаров инфекции возбудители рассеиваются во внешнюю среду вместе с частицами почвы, с пылью, испражнениями человека и животных. Возможность заражения столбняком от больного человека отсутствует. Находящиеся в кишечнике животных и человека возбудители столбняка не представляют опасности для организма человека, так как образуемый токсин подвергается быстрому разрушению. При экспериментальном введении животным через рот столбнячного токсина, он не оказывает патогенного действия.

Столбняк является раневой инфекцией, и возбудитель способен проникать в организм контактным путем только при повреждениях кожного покрова и слизистых оболочек. Различают посттравматический путь передачи и искусственный (постоперационный, инъекционный, постабортный и др.), таким образом, раневой клостридиоз – столбняк является проблемой не только военного, но и мирного времени.

Заболеваемость столбняком – спорадическая, сезонность заболевания – весенне-летняя, чаще болеют жители сельской местности. Столбняк более распространен в южных районах и в тропиках, в странах с отсталой санитарной

культурой. Основная мера против заболеваемости столбняком - планомерная иммунизация населения столбнячным анатоксином.

8.3 Факторы патогенности *C.tetani*

Возбудитель столбняка характеризуется выраженной токсигенностью и отсутствием инвазивности. *C. tetani* продуцирует два экзотоксина – тетаноспазмин и тетанолизин. Также есть третий компонент в низкомолекулярной фракции.

1. Тетаноспазмин является основным в патогенезе столбняка. Этот частично секретлируемый термолабильный нейротоксин, продуцируемый *C.tetani*, относится к цинковым эндопротеазам. Тетаноспазмин токсичен не только для человека, но и для ряда животных. Особенно чувствительны к нему лошади, из экспериментальных животных – мыши и морские свинки. Летальная доза для мышей составляет 0,0001 мг.

Синтез тетаноспазмина закодирован в плазмиде (75 КБ). Способность к токсинообразованию выражена неодинаково у разных штаммов.

Тетаноспазмин – простой токсин, состоящий из единой полипептидной цепи (протоксин). Для его преобразования в бифункциональную АВ-систему необходимо протеолитическое расщепление на легкую цепь (А-активатор) и тяжелую цепь (В- акцептор), соединенные дисульфидной связью.

Рецепторная цепь В связывается с мембраной периферического мотонейрона и способствует проникновению в клетку путем эндоцитоза полипептида А, который с помощью внутриаксонного ретроградного транспорта поступает в тормозные вставочные нейроны спинного мозга. Эти нейроны регулируют деятельность двигательных мотонейронов посредством белка синаптобrevина, ответственного за функционирование синапсов. Этот белок необходим для соединения синаптических пузырьков с пресинаптическими мембранами и выхода тормозных медиаторов у-аминомасляной кислоты и глицина. Полипептид А, обладающий протеазной активностью, разрушает синаптобrevин и, тем самым, блокирует систему торможения, что приводит к

постоянному поступлению импульсов на спинномозговые двигательные нейроны, вызывая их перевозбуждение, и обуславливает длительное спастическое сокращение мышц – спастические параличи, контрактуры, а также тетанические судороги. Тетанолизин – чувствительный к кислороду термостабильный гемолизин, серологически сходный с гемолизинами других клостридий и со стрептолизинном О. Обладает гемолитической, кардиотоксической и летальной активностью, вызывает местные некротические поражения, разрушает фагоциты. Синтез тетанолизина не связан с синтезом тетаноспазмина. Роль тетанолизина в патогенезе столбняка недостаточно изучена и менее важна. Низкомолекулярная фракция – вызывает усиление секреции медиаторов в нервно-мышечных синапсах.

8.4 Патогенез столбняка

Входными воротами столбнячной инфекции являются поврежденные кожные покровы и слизистые оболочки (различные ранения, бытовые травмы, ожоги и обморожения, открытые переломы, операционные раны, незначительные повреждения, особенно колющими предметами, проникшими вглубь ткани – гвоздями, щепками и т.д.). Входные ворота при столбняке рожениц и после аборт – поврежденная поверхность слизистой матки, при столбняке новорожденных – пупочный канатик.

Поврежденную поверхность обычно инфицируют споры *C. tetani*, редко – вегетивные клетки. Прорастанию спор и размножению образовавшихся вегетативных клеток способствуют анаэробные условия, создающиеся в ранах вследствие нарушения кровоснабжения, развития некротических процессов, наличия микробов – ассоциантов с аэробным типом дыхания, а также гипоксия в глубоко проникающих колотых ранках. Размножившиеся столбнячный палочки формируют первичный очаг в месте входных ворот и, в силу отсутствия инвазивности, не распространяются за его пределы, а активно разносятся по организму продуцируемые возбудителями экзотоксины.

8.5 Клинические проявления

У человека, вне зависимости от локализации первичного очага с зоной токсинообразования, столбнячная инфекция всегда развивается по нисходящему типу (*tetanus descendens*). Первыми спастически сокращаются жевательные мышцы (тризм), появляется насильственная улыбка - *risus sardonicus*; сокращаются затылочные мышцы. Далее в процесс вовлекаются дыхательные мышцы и другая мускулатура туловища, в последнюю очередь поражаются конечности. Нередко тело больного принимает форму дуги, он лежит, опираясь только на затылок и на пятки. В процессе болезни возбудимость мотонейронов повышается и к тоническим спазмам присоединяются клонические судороги, возникающие даже от слабых внешних раздражителей. Длительное мышечное напряжение ведет к развитию тканевого ацидоза, нередко развивается пневмония. Наблюдаются сердечно-сосудистые расстройства, может поражаться дыхательный центр, страдает вегетативная система.

Таким образом, при столбняке поражается не только нервная, но и другие важнейшие системы организма, что необходимо учитывать при терапии больного. При тяжелом течении столбняка, недостаточном или поздно начатом лечении, заболевание нередко приводит к гибели больного. Смерть может наступить от асфиксии, паралича дыхательного центра, от сердечной недостаточности, пневмонии.

Иммунитет. У переболевших столбняком стойкого иммунитета не остается, поэтому возможно повторное заболевание. Это связано с образующимся при инфекции малым количеством токсина, которого недостаточно для формирования полноценного иммунного ответа. Кроме того, образовавшийся токсин быстро связывается с нервной тканью и ускользает от иммунологического надзора. В то же время введенный в организм столбнячный анатоксин создает стойкий антитоксический иммунитет.

8.6 Лабораторная диагностика столбняка

С целью диагностики проводят бактериологическое исследование с предварительной бактериоскопией (иногда используют МИФ), применяют биопробу и серологические экспресс-методы для выявления токсина.

Столбняк часто удается диагностировать на основании характерных клинических симптомов, и тогда лабораторные исследования не проводятся. Иногда при диагностике столбняка ограничиваются постановкой биологической пробы. Бактериологический метод используют как дополнительный для подтверждения клинического диагноза столбняка, так как этот метод не дает своевременных результатов из-за своей продолжительности.

Бактериологическое исследование чаще проводят для проверки стерильности шовного и перевязочного материала, растворов для парентерального введения, а также для определения степени зараженности спорами клостридий столбняка объектов окружающей среды (воздуха в операционных, почвы и др.).

Бактериологическая диагностика столбняка проводится по аналогии с бактериологическим исследованием при газовой гангрене, с учетом отличительных особенностей *C. tetani*.

Биологическая проба. Ее ставят на белых мышах с целью обнаружения столбнячного токсина в исследуемом клиническом материале или в культуре *C. tetani*, выделенной от больного.

Исследуемый материал: отделяемое раны или других очагов инфекции, кусочки иссеченной ткани, кровь, надосадочная жидкость подрощенной столбнячной культуры. Кусочки ткани измельчают, растирают в ступке с песком, заливают изотоническим раствором хлорида натрия, оставляют на 1 час для экстрагирования, а затем фильтруют. Часть фильтрата смешивают с противостолбнячной антитоксической сывороткой в соотношении 1 мл фильтрата и 0,5 мл сыворотки силой 400 АЕ/мл и инкубируют 40 мин для нейтрализации столбнячного токсина.

Затем контрольной группе мышей (обычно 2 мыши) вводят исходный

фильтрат (или культуральную жидкость) внутримышечно в заднюю лапку, а опытной группе мышей – фильтрат, смешанный с антитоксической сывороткой. При наличии столбнячного токсина у контрольной мышей на 2-3 сутки развиваются симптомы восходящего столбняка (появляются изогнутость и ригидность хвоста, мышечный спазм задних лапок, затем спастический паралич мышц туловища и последующая гибель). Мыши погибают в характерной позе – вытянув задние лапки. У мышей опытной группы, получивших смесь фильтрата с антитоксином, заболевание не развивается.

Экспресс-методы диагностики. Их используют для обнаружения столбнячного токсина в исследуемом материале в течение нескольких часов. Токсин обнаруживают *in vitro* с помощью серологических экспресс-реакций – РОНГА, иммуноэлектрофореза.

8.7 Профилактика столбняка

Специфическую профилактику столбняка проводят в плановом и в экстренном порядке.

Проводится плановая специфическая *профилактика* столбнячным анатоксином всех детей, начиная с 3-х месячного возраста и до 17 лет, в сроки, указанные в «Прививочном календаре России». Далее ревакцинация должна повторяться через каждые 10 лет. Детям до 7 лет столбнячный анатоксин вводят в составе АКДС-вакцины, более старших детей и взрослых иммунизируют АДС-М анатоксином.

Такой законченный курс активной иммунизации дает возможность быстрой (за 2-3 дня) выработки столбнячного антитоксина после введения АС-анатоксина.

Экстренная специфическая активно-пассивная профилактика столбняка проводится при травмах с нарушением кожного покрова, обморожениях и ожогах, внебольничных абортах и родах и т.п. Пострадавшим вводят ПСЧИ - противостолбнячный человеческий иммуноглобулин в дозе 250 МЕ, а при его отсутствии серологических экспресс-реакций – РОНГА, противостолбнячную

антитоксическую лошадиную сыворотку в дозе 3000 МЕ (во избежание сывороточной болезни предварительно проверяют чувствительность больного к белкам лошади, сыворотку вводят дробно). Эти препараты создают быстродействующий пассивный иммунитет. Одновременно применяют и активную иммунизацию путем введения АС- анатоксина.

Лечение столбняка следует проводить комплексно, используя хирургическую обработку ран, специфическую терапию, направленную на нейтрализацию столбнячного токсина и уничтожение возбудителей, важно применять патогенетические и симптоматические способы лечения.

Для нейтрализации столбнячного токсина применяют противостолбнячную лошадиную антитоксическую сыворотку (доза 50000 МЕ) или противостолбнячный человеческий иммуноглобулин (1500-10000 МЕ). Препараты необходимо вводить в максимально ранние сроки, пока столбнячный токсин не связался с нервной тканью и доступен для воздействия антитоксина.

Для антибактериальной терапии используют антибиотики: бензилпенициллин, метронидазол, доксициклин, имипенем.

Использованная литература

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: учебное пособие для студентов медицинских вузов / под ред. А. А. Воробьева, А. С. Быкова.
2. Горячкина Н.С. и Л.И. Кафарская – Возбудители гнойно-воспалительных, септических и раневых инфекций. Боррелии и риккетсии-возбудители трансмиссивных инфекций. – Учебно-методическое пособие, 2-е издание, исправленное и дополненное. серологических экспресс-реакций – РОНГА, Москва 2011 г.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник / Под ред. А.А. Воробьева. –М.: Медицинское информационное агентство, 2008. -691 с.
4. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / Под ред. Акад. РАМН В.И. Покровского. – М.: ГЭОТАР–МЕД, 2005. –768 с.
5. Маянский А.Н. Патогенетическая микробиология: руководство. –Нижний Новгород. – Изд-во НГМА, 2006. –520 с.
6. Борисов Л.Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. –736 с.
7. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология. – Санкт- Петербург: СпецЛит., 2008, 767 с.
8. Микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов мед. вузов / под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2009. – 581 с.

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ И РАНЕВЫЕ ИНФЕКЦИИ

Учебно-методическое пособие

Подписано в печать 05.10.2026 г. Формат 60х84/16
Бумага офисная. Печать-ризография.
Уч.-изд. л. 3,2. Тираж 100 экз.

Издательство Чеченского государственного университета им. А.А. Кадырова
Адрес: 364037 ЧР, г. Грозный, ул. Субры Кишиевой, 33