

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
“Уральский государственный медицинский университет”
Министерства здравоохранения Российской Федерации
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии**

Литусов Н.В.

Род *Bacteroides*

Иллюстрированное учебное пособие

Екатеринбург, 2017

УДК 612

Рецензент: доктор медицинских наук, профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО УГМУ Слободенюк А.В.

Литусов Н.В. Род *Bacteroides*. Иллюстрированное учебное пособие. – Екатеринбург: ФГБОУ ВО УГМУ, 2017. - 17 с.

В иллюстрированном учебном пособии рассматриваются вопросы истории открытия и изучения бактероидов, их морфологические, тинкториальные, культуральные, биохимические и антигенные свойства, факторы патогенности, эпидемиология, патогенез, клиника, принципы профилактики и лечения вызываемых бактероидами заболеваний.

Учебное пособие включает вопросы для контроля усвоения материала и тренировочные тесты. Учебное пособие иллюстрировано рисунками, схемами, таблицами для лучшего усвоения изучаемого материала. Часть рисунков выполнена автором, другая часть – заимствована из Интернет-ресурсов.

Иллюстрированное учебное издание предназначено для самостоятельной работы студентов при подготовке к практическим занятиям, компьютерным контролям и экзаменам.

© Литусов Н.В.

© УГМУ, 2017

Содержание

Историческая справка	4
Классификация.....	4
Морфологические и тинкториальные свойства	5
Культуральные, биохимические и антигенные свойства	6
Экология бактериоидов.....	8
Факторы патогенности бактериоидов и патогенез заболеваний	9
Заболевания, вызываемые бактериоидами	10
Резистентность.....	12
Диагностика	12
Профилактика	13
Лечение	14
Вопросы для контроля усвоения материала	14
Тренировочные тесты	14
Литература.....	15

Историческая справка

Бактероиды (греч. *bakterion* – палочка, *eidos* – вид, форма) представляют отдельный род грамотрицательных облигатных анаэробных палочек, не образующих споры. Они являются условно-патогенными микроорганизмами, входящими в состав нормальной микрофлоры человека и животных.

Первое описание бактериоидов принадлежит А. Veillon и А. Zuber, которые в 1898 г. из гноя при аппендиците выделили анаэробные микроорганизмы, не образующие спор (*Bacteroides fragilis*). Родовое название *Bacteroides* было введено в 1919 г. А. Castellani и А. Chalmers.

Классификация

Бактероиды относятся к царству бактерий, типу *Bacteroidetes*, классу *Bacteroidia*, порядку *Bacteroidales*, семейству *Bacteroidaceae*, роду *Bacteroides*. Тип (филум, отдел) *Bacteroidetes* включает в себя следующих представителей, имеющих медицинское значение (таблица 1).

Таблица 1 - Представители типа *Bacteroidetes*, имеющие медицинское значение

Тип	Класс	Порядок	Семейство	Род
<i>Bacteroidetes</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidales</i>	<i>Bacteroidaceae</i>	<i>Bacteroides</i>
			<i>Porphyromonadaceae</i>	<i>Porphyromonas</i> <i>Tannerella</i>
			<i>Prevotellaceae</i>	<i>Prevotella</i>
	<i>Flavobacteria</i>	<i>Flavobacteriales</i>	<i>Flavobacteriaceae</i>	<i>Flavobacterium</i>

Род *Bacteroides* объединяет более 10 видов (*B. acidifaciens*, *B. biacutis*, *B. distasonis*, *B. gracilis*, *B. fragilis*, *B. oris*, *B. ovatus*, *B. putredinis*, *B. pyogenes*, *B. stercoris*, *B. suis*, *B. tectus*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*). Виды, входящие в состав рода *Bacteroides*, по морфологическим и биохимическим признакам, продукции жирных кислот, способности поражать те или иные органы и ткани подразделяются на группы, например, *fragilis*, *melaninogenicus-oralis*, *asaccharolyticus*. Клиническое значение имеют виды *B. fragilis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*.

При классификации бактериоидов выделяют особую группу *Bacteroides fragilis*, включающую в себя сам вид *B. fragilis*, а также *B. distasonis*, *B. ovatus*, *B. thetaiotaomicron* и *B. vulgatus*. Эти бактерии устойчивы к пенициллину за счет продукции бета-лактамаз, являются представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и преобладают при внутрибрюшной инфекции, при периректальных абсцессах, пролежнях.

Морфологические и тинкториальные свойства

Бактероиды представляют собой грамотрицательные палочки, которые отличаются высоким полиморфизмом. Клетки бактериоидов могут быть кокковидной (коккобациллы), палочковидной или ветвящейся формы размером 1-3x0,5-0,8 мкм. В мазке располагаются одиночно, парами, небольшими цепочками (рисунок 1).

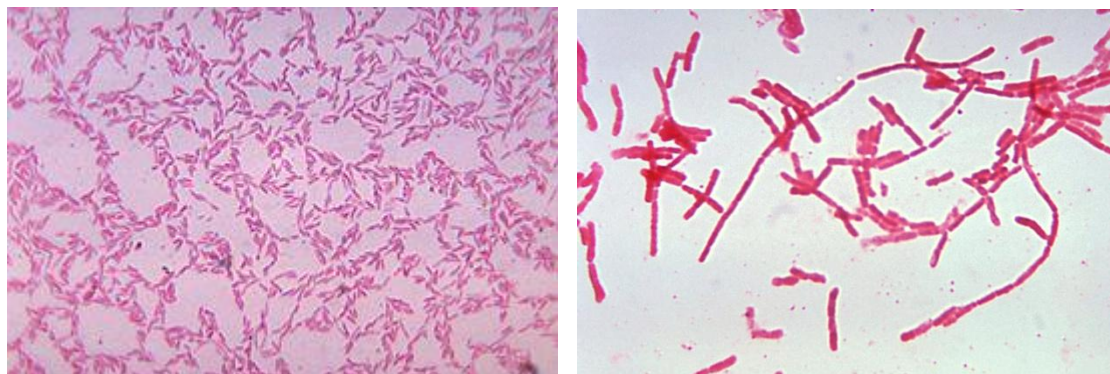


Рисунок 1 - *Bacteroides fragilis*, окраска по Граму. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Одни виды бактериоидов являются неподвижными, другие виды имеют перитрихально расположенные жгутики. Бактероиды не образуют спор, некоторые виды имеют полисахаридную капсулу (рисунок 2).

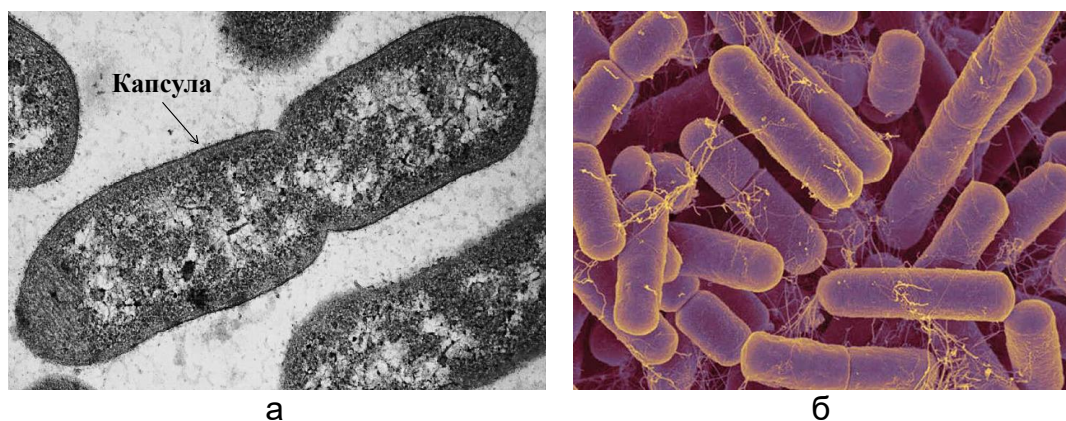


Рисунок 2 - *Bacteroides fragilis*, а – просвечивающая электронная микроскопия, б – сканирующая электронная микроскопия, компьютерная визуализация. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Клеточная стенка бактериоидов имеет некоторые особенности: между наружной и внутренней мембранами располагается периплазматическое пространство (рисунок 3).



Рисунок 3 - Структура клеточной стенки *Bacteroides fragilis*. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Культуральные, биохимические и антигенные свойства

Бактероиды являются облигатными анаэробами. Культивируются на обогащенных питательных средах: кровяном агаре, на средах с добавлением яичного белка, желчи, эскулина, тканевых экстрактов (мозгового, сердечного). Рост бактериоидов стимулирует добавление в среды гемина, витамина К, цистеина, декстрозы. Желчно-эскулиновый агар используется для селективного выделения, идентификации и культивирования микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis*. Эта среда содержит компоненты, поддерживающие рост прихотливых анаэробных микроорганизмов и подавляющие рост большинства других микробов, кроме эскулинположительных бактериоидов.

Бактероиды лучше растут в атмосфере 10% углекислого газа при температуре 37°C. *B. fragilis* образует каталазу и супероксиддисмутазу, поэтому является аэротолерантным микроорганизмом. Культивирование бактериоидов проводят в анаэростатах (рисунок 4).



Рисунок 4 – Анаэростат.

Размножение бактериоидов протекает медленно, посеы инкубируют в

течение 2-5 дней.

На плотных питательных средах бактероиды образуют мелкие жемчужно-серые или белые колонии. На кровяном агаре *B. fragilis* образует мелкие (1-3 мм) выпуклые непигментированные колонии, а *B. melaninogenicus* – пигментированные колонии черного или темно-коричневого цвета. Некоторые штаммы бактероидов могут вызывать гемолиз (рисунки 5 и 6).

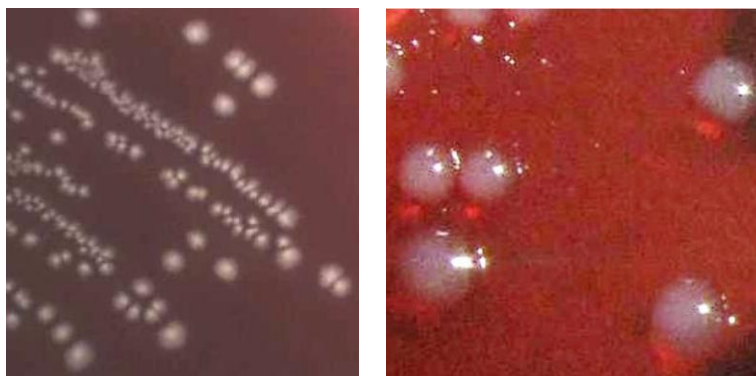


Рисунок 5 - Рост бактероидов на кровяном агаре. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

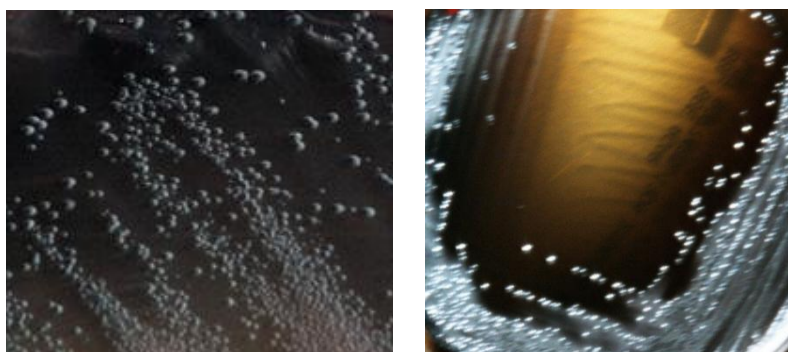


Рисунок 6 - Колонии *B. fragilis* на агаре для бактероидов с желчью и эскулином (эскулиновом агаре). Заимствовано из Интернет-ресурсов.

На плотных питательных средах с желчью колонии бактероидов окружены опалесцирующей зоной выпавших в осадок желчных солей (рисунок 7).

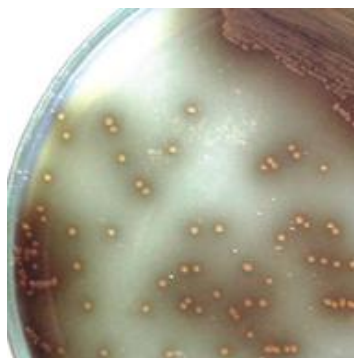


Рисунок 7 – Рост *Bacteroides fragilis* на агаре с желчью. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Рост бактериоидов в жидких питательных средах сопровождается равномерным помутнением.

Ключевыми признаками бактериоидов является способность расти в присутствии 20% желчи, резистентность к канамицину (100 мкг), ванкомицину (5 мкг) и колистину (10 мкг).

Протеолитическая активность у бактериоидов умеренная, лецитиназу не образуют, большинство штаммов не вызывают гемолиза эритроцитов, гиппурат не гидролизуют, индол не образуют. Гидролизуют эскулин, сбраживают различные углеводы (глюкозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу и др.), синтезируют каталазу. Одни штаммы бактериоидов являются уреазоположительными, другие - уреазоотрицательными. Основные дифференциальные признаки представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Основные дифференциальные признаки бактерий рода *Bacteroides*, имеющих клиническое значение

Вид	Образование индола	Гидролиз желатина	Гидролиз эскулина	Образование сероводорода	Ферментация углеводов с образованием кислоты			
					рамнозы	глюкозы	лактозы	сахарозы
<i>B. fragilis</i>	-	+/-	+	+	-	+	+	+
<i>B. thetaiotaomicron</i>	+	+/-	+	+	+	+	+	+
<i>B. vulgatus</i>	-	+	+	+	+	+	+	+

Бактериоиды содержат соматический О-антиген, могут иметь капсульный К-антиген и жгутиковый Н-антиген.

Геномы бактериоидов представлены кольцевыми двухцепочечными молекулами ДНК. Установлена возможность переноса генов между *E. coli* и *B. fragilis* с помощью плазмид.

Экология бактериоидов

Бактериоиды являются представителями нормальной микрофлоры кишечника, мочеполовых органов, верхних дыхательных путей, полости рта. Основное место обитания бактериоидов в организме человека – толстая кишка (рисунок 8).

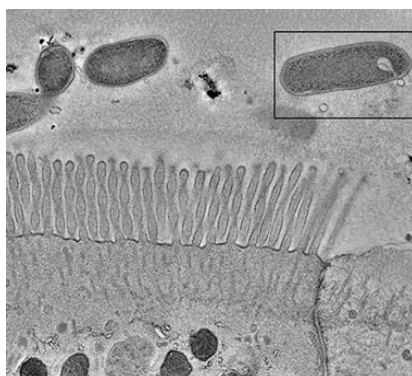


Рисунок 8 – *B. fragilis* на эпителии кишечника (Chu H. e. a., 2016).

Бактероиды появляются в кишечнике человека через 10 дней после рождения, у детей первого года жизни их количество в фекалиях достигает 10^7 - 10^8 КОЕ/г, у взрослых – 10^9 - 10^{10} КОЕ/г, у пожилых людей – 10^{10} - 10^{11} КОЕ/г. В тонком кишечнике бактериоидов намного меньше – до 10^7 КОЕ/г, а в полости рта их количество составляет не более 10^3 КОЕ/г. В ротовой полости бактериоиды обнаруживаются главным образом в десневых карманах. В стерильных внутренних органах здоровых людей бактериоиды отсутствуют.

Бактероиды являются антагонистами шигелл, сальмонелл, некоторых видов эшерихий. Они участвуют в процессах разложения углеводов, белков и биотрансформации жёлчных кислот.

Патология, обусловленная бактериоидами, развивается чаще всего как эндогенная инфекция в результате повреждения слизистых оболочек – мест обитания этого микроба. При развитии патологических процессов выявляются ассоциации бактериоидов с другими анаэробными, а также с аэробными и факультативно-анаэробными бактериями (кишечной палочкой, стрептококками, стафилококками, синегнойной палочкой). Однако *B. fragilis* способен вызывать моноинфекции.

Факторы патогенности бактериоидов и патогенез заболеваний

Патогенность бактериоидов обусловлена следующими факторами:

1. Адгезины:

- лектиноподобные поверхностные белки;
- пили;
- капсула.

2. Ферменты:

- супероксиддисмутаза;
- нейраминидаза;
- гиалуронидаза;
- фибринолизин;
- коллагеназа;
- дезоксирибонуклеаза;
- гепариназа;
- IgA-протеаза;
- бета-лактамаза.

3. Токсины:

- эндотоксин;
- энтеротоксин;
- лейкоцидин.

4. Метаболиты.

Поверхностные структуры клетки (лектиноподобные поверхностные белки, пили и капсула) обуславливают адгезию к субстрату и защищают бактерию от фагоцитоза. Капсульный полисахарид состоит из двух компонентов: полисахарида А и полисахарида В. В своем составе полисахариды имеют

необычную повторяющуюся последовательность углеводных групп. Капсульные полисахариды активируют Т-лимфоциты и тем самым способствуют образованию абсцессов, возникающих при бактериоидной инфекции.

Продуцируемые бактериоидами **гистолитические ферменты** (протеазы, нейраминидаза, гиалуронидаза, нуклеаза, коллагеназа и др.) вызывают деструкцию иммуноглобулинов, компонентов комплемента, матриксных белков (коллагена, ламинина, фибронектина и др.), что способствует некрозу тканей и распространению гнойного процесса. В частности, протеаза разрушает секреторные антитела (IgA) и тем самым подавляет иммунитет слизистых оболочек организма. Она также разрушает факторы комплемента, препятствуя фагоцитозу.

Инактивирующие кислород ферменты (каталаза, супероксиддисмутаза) создают в тканях анаэробные условия, благоприятные для размножения бактериоидов. Кроме того супероксиддисмутаза бактериоидов защищает бактерии от фагоцитоза.

Дезоксирибонуклеаза расщепляет ДНК клеток организма, что способствует абсцедированию пораженных тканей.

Гепариназа вызывает образование локальных тромбов, обуславливает внутрисосудистые изменения и тканевую ишемию в результате разрушения гепарина.

Бета-лактамаза обуславливает устойчивость к бета-лактамам антибиотикам (пенициллинам, цефалоспорином).

Эндотоксин бактериоидов отличается от ЛПС других грамотрицательных бактерий. Он оказывает общетоксическое действие на ткани организма, вызывает синтез цитокинов, в результате чего развивается воспаление.

Энтеротоксин повреждает цитоскелет энтероцитов, изменяет их секреторные свойства и вызывает дегенерацию эпителиоцитов кишечника. Энтеротоксин *B. fragilis* (*Bacteroides fragilis toxin*, *BFT*, фрагилизин) является цинковой металлопротеазой. Энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* (ЕТВФ) могут продуцировать 3 варианта энтеротоксина. Синтез этого токсина кодируется генами *btf-1*, *btf-2*, *btf-3*. Токсин разрушает структурно-функциональные контакты между эпителиоцитами кишечника, в результате чего наступает их эксфолиация и гиперсекреция жидкости. Таким образом, энтеротоксин способствует проникновению бактерий в глубже лежащие ткани и развитию воспалительной реакции.

Жирные кислоты (метаболиты бактериоидов) оказывают антифагоцитарный эффект: угнетают хемотаксис и кислородзависимую цитотоксичность лейкоцитов.

Развитию бактериоидной инфекции способствуют аэробные и факультативно-анаэробные бактерии – ассоцианты, обнаруживаемые в патологическом материале. В пораженных тканях они поглощают кислород и выделяют продукты метаболизма, оказывающие благоприятное влияние на развитие бактериоидов.

Заболевания, вызываемые бактериоидами

Бактериоиды способны вызывать у человека неклостридиальные анаэробные

гнойно-воспалительные инфекции: хронический синусит, хроническое воспаление среднего уха, инфекции ротовой полости, абсцессы, некротическую пневмонию (рисунок 9).

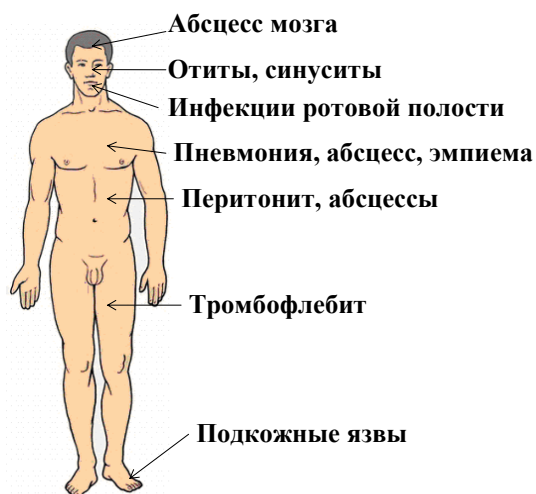


Рисунок 9 – Поражения, вызываемые бактероидами.

Бактероиды вызывают различные гнойно-воспалительные заболевания после травм, оперативных вмешательств, при онкологических заболеваниях (перитонит, абсцессы, эндокардит, сепсис, тонзиллит, пародонтоз, поражения костей и суставов). Инфекции бактериальной этиологии возникают обычно у лиц с иммунодефицитами. Часто бактероиды являются причиной воспалительных заболеваний женских половых органов (цервицитов, эндометритов, аднекситов). У мужчин бактероиды обнаруживаются при простатитах, хронических уретритах.

Развитию анаэробной инфекции способствуют:

- хирургические операции;
- наличие злокачественных новообразований;
- травматические и прочие повреждения внутренних органов с перфорацией;
- длительная химиотерапия, гормонотерапия, применение цитостатиков;
- нарушение кровоснабжения тканей.

Возможно развитие генерализованной бактериальной инфекции с диссеминацией возбудителей по организму и образованием множественных метастатических очагов.

Клинически бактериальная инфекция проявляется в виде следующих заболеваний:

- инфекции ротовой полости, десен, некротизирующие инфекции глотки, придаточных пазух, органов зрения, слуха, гангрена лицевой области;
- абсцессы головного мозга;
- пневмонии и абсцессы легкого;
- перитонит, аппендицит, абсцессы печени;
- эндометриты;
- глубокие инъекционные абсцессы, флегмоны;
- остеомиелиты, гнойные артриты.

Резистентность

При попадании на воздух бактероиды погибают в течение короткого времени. Они устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином I и II поколений, аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину, канамицину, мономицину), тетрациклину (рисунок 10).

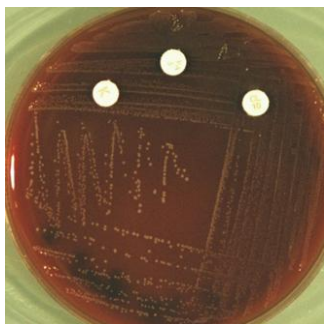


Рисунок 10 – Чувствительность бактероидов к антибиотикам. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

В последние годы отмечено повышение устойчивости бактероидов к противомикробным препаратам: пенициллинам, цефалоспорином, тетрациклинам, эритромицину и другим антибиотикам, что делает их непригодными для терапии инфекций, вызванных *B. fragilis*. Препаратами выбора при лечении бактероидной инфекции являются левомецетин, метронидазол, имипенем.

Бактероиды чувствительны к действию обычно применяемых в клинической практике антисептиков и дезинфектантов.

Диагностика

Материалом для исследования служит отделяемое из глубины раны, гной абсцессов, кусочки пораженных тканей, кровь. Сбор и транспортировку материалов осуществляют в строго анаэробных условиях. По-возможности материал для исследования отбирают путем пункции и доставляют в лабораторию в шприце, вытеснив из него воздух. Материал немедленно доставляют в лабораторию для исследования. Лучше доставлять материал в специальном контейнере с бескислородной газовой смесью или погруженным в полужидкую транспортную среду (рисунок 11).

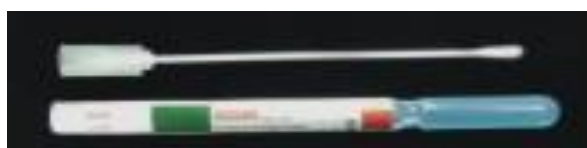


Рисунок 11 – Транспортная среда для облигатных анаэробов. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Лабораторная диагностика включает проведение следующих исследований:

- микроскопическое исследование окрашенных по Граму мазков, приготовленных из исследуемого материала;
- бактериологическое (культуральное) исследование: посев материала на специальные плотные питательные среды (кровяной агар, среда с настоем мозга и факторами роста, кровяной агар с желчью и канамицином);
- полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Культуральный метод является основным методом диагностики заболевания. Посевы инкубируют при 37°C в анаэробных условиях в течение 3-5 дней. Выделенные культуры идентифицируют по морфологическим признакам, культуральным и биохимическим свойствам, устойчивости к желчи и некоторым антибиотикам.

Для ПЦР используются тест-системы “БАКТОПОЛ” для обнаружения различных видов бактероидов, а также штаммов *B. fragilis*, продуцирующих энтеротоксин. Материалом для ПЦР-диагностики служит кал, урогенитальные соскобы, раневое отделяемое, мазки из зева и др. Применение выпускаемых тест-систем позволяет установить видовой состав бактерий рода *Bacteroides* в исследуемом материале, а также оценить патогенный потенциал *B. fragilis* путем обнаружения генов синтеза энтеротоксина.

Идентификация бактероидов до уровня семейства основывается на следующих признаках:

- отрицательная окраска по Грамму;
- отсутствие роста в аэробных условиях;
- отсутствие спорообразования;
- наличие перитрихально расположенных жгутиков.

Идентификация бактероидов до уровня рода и вида предусматривает определение продуктов метаболизма (в частности, жирных кислот) с помощью газожидкостной хроматографии и изучение ферментативной активности.

В качестве экспресс-диагностики применяют иммунофлюоресцентный метод (рисунок 12).

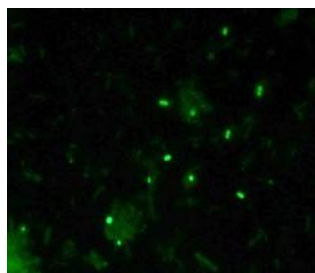


Рисунок 12 – РИФ при диагностике бактероидной инфекции. Заимствовано из Интернет-ресурсов.

Профилактика

Средства специфической профилактики бактероидной инфекции

отсутствуют. Неспецифическая профилактика бактериоидной инфекции заключается в использовании дооперационных парентеральных антибиотиков, подготовке пациентов к оперативным вмешательствам, соблюдении санитарно-гигиенических правил при выполнении хирургических вмешательств, использовании эффективной терапии гнойно-воспалительных заболеваний.

Лечение

В лечении бактериоидной инфекции особое значение имеют дренаж и санация патологического очага. Для лечения бактериоидных инфекций используются метронидазол, тинидазол, левомецетин, эритромицин, имипенем.

Вопросы для контроля усвоения материала

1. Таксономическое положение бактериоидов.
2. Морфологические, культуральные и биохимические свойства бактериоидов.
3. Факторы патогенности и патогенез инфекций, вызванных бактериоидами.
4. Диагностика бактериоидной инфекции.
5. Принципы профилактики и лечения инфекций, вызванных бактериоидами.

Тренировочные тесты

1. *B. fragilis* относится к семейству:

- *Brucellaceae*
- + *Bacteroidaceae*
- *Bartonellaceae*
- *Burkholderiaceae*
- *Bacillaceae*

2. Для бактериоидов характерно:

- грамположительная окраска
- образование спор
- + грамотрицательная окраска
- + облигатные анаэробы
- извитая форма

3. Бактероиды синтезируют токсин:

- экзотоксин А
- + эндотоксин
- тетаноспазмин

- нейротоксин
- эксфолиативный токсин

4. Для культивирования бактероидов используют среду:

- Эндо
- висмут-сульфитный агар
- + кровяной агар с желчью
- среду Плоскирева
- среду Левенштейна-Йенсена

5. Для диагностики бактероидной инфекции применяют:

- + газо-жидкостную хроматографию
- аллергопробу
- + культуральное исследование
- биологическую пробу
- серологический метод

6. Для экспресс-диагностики бактероидной инфекции применяют:

- + реакцию иммунофлюоресценции
- аллергопробу
- реакцию преципитации
- биологическую пробу
- серологический метод

Литература

1. Атлас по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для студентов медицинских вузов / Под ред. А.А. Воробьева, А.С. Быкова – М.: Медицинское информационное агентство, 2003. – 236 с.: ил.

2. Коротяев А.И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология: Учебник для студентов мед. вузов / А.И. Коротяев, С.А. Бабичев. - 5-е изд., испр. и доп. – СПб.: СпецЛит, 2012. – 759 с.: ил.

3. Медицинская микробиология: учебник. 4-е изд. Поздеев О.К. / Под ред. В.И. Покровского. – 2010. – 768 с.

4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: учебник для студентов медицинских вузов. Под ред. А.А. Воробьева. Учебники и учеб. пособия для высшей школы. Издательство: Медицинское информационное агентство, 2012. – 702 с.

5. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 1 : учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 448 с.: ил.

6. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология. В 2-х т. Том 2 :

учеб. по дисциплине “Микробиология, вирусология и иммунология” для студентов учреждений высш. проф. образования, обучающихся по специальностям 060101.65 “Лечеб. дело”, 060103.65 “Педиатрия”, 060104.65 “Медико-профилактич. дело” / под ред. В.В. Зверева, М.Н. Бойченко. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 480 с.: ил.

7. Микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов (стоматология). / Под ред. В.Н. Царева. – М.: Практическая медицина, 2010. – 581 с.

8. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиологическая и этиологическая диагностика инфекций: руководство. [Кн. 2] / под ред.: А. С. Лабинской, Н. Н. Костюковой, С. М. Ивановой. - М.: БИНОМ, 2010. - 1152 с. Рекомендовано в качестве учебного пособия для системы последиplomного медицинского образования.

9. Интернет – ресурсы:

- <http://www.microbiology.ru>

- <http://ru.wikipedia.org>

- <http://www.molbiol.ru>

Иллюстрированное учебное пособие

Род *Bacteroides*

Литусов Николай Васильевич