



ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ II

Γεωργίου Οδ. Δημητρακόπουλου

ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΝΕΠ. ΠΑΤΡΩΝ





1954

ΙΔΡΥΜΑ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ
ΧΡΥΣΟΥΝ ΜΕΤΑΛΛΙΟΝ ΑΚΑΔΗΜΙΑΣ ΑΘΗΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Ο Ευγένιος Ευγενίδης, ο ιδρυτής και χορηγός του «Ιδρύματος Ευγενίδου», πολύ νωρίς πρόβλεψε και σχημάτισε την πεποίθηση ότι η άρτια κατάρτιση των τεχνικών μας, σε συνδυασμό με την εθνική αγωγή, θα ήταν αναγκαίος και αποφασιστικός παράγοντας της προόδου του Έθνους μας.

Την πεποίθησή του αυτή ο Ευγενίδης εκδήλωσε με τη γενναιόφρονα πράξη ευεργεσίας, να κληροδοτήσει σεβαστό ποσό για τη αύσταση Ιδρύματος που θα είχε σκοπό να συμβάλλει στην τεχνική εκπαίδευση των νέων της Ελλάδας.

Έτσι, το Φεβρουάριο του 1956 συστήθηκε το «Ίδρυμα Ευγενίδου», του οποίου τη διοίκηση ανέλαβε η αδελφή του κυρία Μαρ. Σίμου, σύμφωνα με την επιθυμία του διαθέτη.

Από το 1956 μέχρι σήμερα η συμβολή του Ιδρύματος στην τεχνική εκπαίδευση πραγματοποιείται με διάφορες δραστηριότητες. Όμως απ' αυτές η σημαντικότερη, που κρίθηκε από την αρχή ως πρώτης ανάγκης, είναι η έκδοση βιβλίων για τους μαθητές των τεχνικών σχολών.

Μέχρι σήμερα εκδόθηκαν εκαποντάδες τόμοι βιβλίων, που έχουν διατεθεί σε πολλά εκατομμύρια τεύχη. Τα βιβλία αυτά κάλυπταν ή καλύπτουν ανάγκες των Κατωτέρων και Μέσων Τεχνικών Σχολών του Υπ. Παιδείας, των Σχολών του Οργανισμού Απασχολήσεως Εργατικού Δυναμικού (ΟΑΕΔ), των Τεχνικών και Επαγγελματικών Λυκείων, των Τεχνικών Επαγγελματικών Σχολών και των Δημοσίων Σχολών Εμπορικού Ναυτικού.

Μοναδική φροντίδα του Ιδρύματος σ' αυτή την εκδοτική του προσπάθεια ήταν και είναι η ποιότητα των βιβλίων, από άποψη όχι μόνον επιστημονική, παιδαγωγική και γλωσσική, αλλά και από άποψη εμφανίσεως, ώστε το βιβλίο να αγαπηθεί από τους νέους.

Για την επιστημονική και παιδαγωγική ποιότητα των βιβλίων τα κείμενα υποβάλλονται σε πολλές επεξεργασίες και βελτιώνονται πριν από κάθε νέα έκδοση.

Ιδιαίτερη σημασία απέδωσε το Ίδρυμα από την αρχή στην ποιότητα των βιβλίων από γλωσσική άποψη, γιατί πιστεύει ότι και τα τεχνικά βιβλία, όταν είναι γραμμένα σε γλώσσα άρτια και ομοιόμορφη αλλά και κατάλληλη για τη στάθμη των μαθητών, μπορούν να συμβάλλουν στη γλωσσική διαπαιδαγώγηση των μαθητών.

Έτσι, με απόφαση που πάρθηκε ήδη από το 1956 όλα τα βιβλία της Βιβλιοθήκης του Τεχνίτη, δηλαδή τα βιβλία για τις Κατώτερες Τεχνικές Σχολές, όπως αργότερα και για τις Σχολές του ΟΑΕΔ, ήταν γραμμένα σε γλώσσα δημοτική με βάση τη γραμματική του Τριανταφυλλίδη, ενώ όλα τα άλλα βιβλία ήταν γραμμένα στην απλή καθαρεύουσα. Σήμερα ακολουθείται η γραμματική που διδάσκεται στα σχολεία της δευτεροβάθμιας εκπαίδευσεως. Η γλωσσική επεξεργασία των βιβλίων γίνεται από φιλολόγους του Ιδρύματος και έτσι εξασφαλίζεται η ενιαία σύνταξη και ορολογία κάθε κατηγορίας βιβλίων.

Η ποιότητα του χαρτιού, το είδος των τυπογραφικών στοιχείων, τα σωστά σχήματα και η καλαίσθητη σελιδοποίηση, το εξώφυλλο και το μέγεθος του βιβλίου, περιλαμβάνονται και αυτά στις φροντίδες του Ιδρύματος.

Το Ίδρυμα θεώρησε ότι είναι υποχρέωσή του, σύμφωνα με το πνεύμα του ιδρυτή του, να θέσει στη διάθεση του Κράτους όλη αυτή την πείρα του των 20 ετών, αναλαμβάνοντας το 1978 και την έκδοση των βιβλίων για τις νέες Τεχνικές Επαγγελματικές Σχολές και τα νέα Τεχνικά και Επαγγελματικά Λύκεια, σύμφωνα με τα εγκεκριμένα Αναλυτικά Προγράμματα του Π.Ι.

ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΕΚΔΟΣΕΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

Μιχαήλ Αγγελόπουλος, ομ. καθηγητής ΕΜΠ, Πρόεδρος.

Αλέξανδρος Σταυρόπουλος, ομ. καθηγητής Πανεπιστημίου Πειραιώς, Αντιπρόεδρος.

Ιωάννης Τεγόπουλος, καθηγητής ΕΜΠ.

Σταμάτης Παλαιοκρασάς, Ηλεκτρολόγος Μηχανικός, Σύμβουλος Παιδαγωγικού Ινστιτούτου.

Χρήστος Σιγάλας, Δ/ντής Σπ. Δευτ. Εκπαιδεύσεως ΥΠΕΠΘ,

Σύμβουλος εκδόσεων του Ιδρύματος **Κ. Α. Μανάφης**, καθηγ. Φιλ. Σχολής Παν/μίου Αθηνών.

Γραμματέας της Επιτροπής, Γεώργιος Ανδρεάκος.

Διατελέσαντα μέλη ή σύμβουλοι της Επιτροπής

Γεώργιος Κακριδής (1955-1959) Καθηγητής ΕΜΠ, **Αγγελος Καλογεράς** (1957-1970) Καθηγητής ΕΜΠ, **Δημήτριος Νιάνιας** (1957-1965) Καθηγητής ΕΜΠ, **Μιχαήλ Σπετσιέρης** (1956-1959), **Νικόλαος Βασιώτης** (1960-1967), **Θεόδωρος Κουζέλης** (1968-1976) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Παναγιώτης Χατζηιωάννου** (1977-1982) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Αλέξανδρος Ι. Παπαδάς** (1955-1983) Καθηγητής ΕΜΠ, **Χρυσόβούτος Κάρδυνηδης** (1955-1984) Μηχ. Ηλ. ΕΜΠ, **Γεώργιος Ρούσσος** (1970-1987) Χημ.-Μηχ. ΕΜΠ, **Δρ. Θεοδόσιος Παπαθεοδοσίου** (1982-1984) Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Ηλάντιος Χατζηευστρατίου** (1985-1988) Μηχανολόγος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Γεώργιος Σταματίου** (1988-1990) Ηλεκτρολόγος ΕΜΠ, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ, **Σωτ. Γκλαβάς** (1989-1993) Φιλόλογος, Δ/ντής Σπουδών Δευτεροβάθμιας Εκπαίδευσεως ΥΠΕΠΘ.





ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

II

ΓΕΩΡΓΙΟΥ ΟΔ. ΔΗΜΗΤΡΑΚΟΠΟΥΛΟΥ
ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΑΝ/ΜΙΟΥ ΠΑΤΡΩΝ

ΑΘΗΝΑ
1998



Α' ΕΚΔΟΣΗ 1979



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Το βιβλίο αυτό αποτελεί συνέχεια του βιβλίου της Μικροβιολογίας που διδάσκεται στη Β' τάξη Επαγγελματικού Λυκείου. Έχει γραφεί με βάση το αναλυτικό πρόγραμμα που έχει εκπονήσει το ΚΕΜΕ και περιλαμβάνει δεκαπέντε κεφάλαια. Στο πρώτο κεφάλαιο αναφέρονται τα σχετικά με την ονοματολογία και την κατάταξη των βακτηρίων, ενώ στο δεύτερο κεφάλαιο περιγράφεται η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του ανθρώπου. Τα υπόλοιπα κεφάλαια πραγματεύονται εκείνα τα βακτήρια τα οποία αποτελούν τα ισχυρότερα αίτια λοιμωδών νοσημάτων.

Στο κάθε κεφάλαιο δίδονται δλες οι πληροφορίες σχετικά με τις χαρακτηριστικές ιδιότητες του κάθε βακτηρίου, τη νόσο που προκαλεί και τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για την απομόνωση και τυποποίηση του. Η περιγραφή των μεθόδων τυποποιήσεως θα αποτελέσει την ύλη ενός τρίτου βιβλίου Μικροβιολογίας με τη συμπλήρωση του οποίου ο μαθητής θα έχει τα εφόδια να εργασθεί σε ένα διαγνωστικό Μικροβιολογικό Εργαστήριο.

Κατά τη διδασκαλία του μαθήματος είναι σκόπιμο να δοθεί μεγαλύτερο βάρος από τους διδάσκοντες και τους μαθητές στη μορφολογία και χρώση, τις χαρακτηριστικές ιδιότητες και τη μικροβιολογική διάγνωση του κάθε βακτηρίου.

Καταβλήθηκε προσπάθεια ώστε το βιβλίο αυτό να εξυπηρετήσει δύο σκοπούς: α) να αποτελέσει βοήθημα για το μαθητή στα χρόνια των σπουδών του και β) να χρησιμεύσει σαν βοήθημα για το μαθητή και μετά την αποφοίτηση του όταν αρχίσει την εργασία του στο κλινικό διαγνωστικό εργαστήριο.

Ελπίζω το βιβλίο αυτό να συμπληρώσει με επιτυχία και τους δύο σκοπούς.

Ο συγγραφέας



ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

ΟΝΟΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΤΑΞΗ ΤΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ

1.1. Γενικά.

Τα Βακτήρια αποτελούν μια μεγάλη ενότητα μικροοργανισμών που ανήκουν στα κατώτερα Πρώτιστα. Η ενότητα αυτή αποτελείται από πολλά μέλη τα οποία φέρουν διάφορα ονόματα και κατατάσσονται σε διάφορες ομάδες. Τα μέλη της κάθε ομάδας βακτηρίων έχουν κοινές ιδιότητες που τα χαρακτηρίζουν και τα διαχωρίζουν από τα μέλη που ανήκουν στις άλλες ομάδες.

Η ονοματολογία και η κατάταξη των βακτηρίων παρουσιάζει μεγάλες δυσκολίες, σχεδόν ανυπέρβλητες, τις οποίες προσπαθούν να ξεπεράσουν οι ειδικοί που κατά καιρούς προτείνουν διάφορα συστήματα κατατάξεως. Σήμερα το επικρατέστερο σύστημα κατατάξεως των βακτηρίων είναι εκείνο το υποίο προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Bergey και τους συνεργάτες του και κυκλοφόρησε σε βιβλίο το 1923. Από τότε έχουν γίνει επανειλημμένες εκδόσεις του βιβλίου αυτού και στην κάθε έκδοση υπάρχουν πολλές τροποποιήσεις του αρχικού συστήματος κατατάξεως των βακτηρίων. Το 1974 κυκλοφόρησε η 8η έκδοση του Bergey's Manual of Determinative Bacteriology στην οποία περιλαμβάνεται η κατάταξη των βακτηρίων σύμφωνα με τα νεώτερα κριτήρια. Στην κατάταξη αυτή τα βακτήρια χωρίζονται σε **μέρη, τάξεις, οικογένειες, γένη και είδη**.

Η πρώτη βαθμίδα στην ταξινόμηση των βακτηρίων είναι το **είδος**. Ένα είδος βακτηρίου χαρακτηρίζεται από ορισμένους φυσιολογικούς και βιοχημικούς χαρακτήρες. Βακτήρια που έμφανίζουν τους ίδιους βασικούς χαρακτήρες ανήκουν στο ίδιο είδος. Ανώτερη ταξινομική βαθμίδα είναι το **γένος**. Κάθε γένος περιλαμβάνει ένα ή περισσότερα είδη που έχουν συγγενείς χαρακτήρες. Ένα ή περισσότερα γένη αποτελούν μία **οικογένεια** βακτηρίων, ενώ μία ή περισσότερες οικογένειες αποτελούν μία **τάξη**. Η ανώτερη ταξινομική βαθμίδα των βακτηρίων είναι το **μέρος** που αποτελείται από μία ή περισσότερες τάξεις. Στην τελευταία έκδοση του Bergey's τα βακτήρια χωρίζονται σε 19 μέρη.

Για την ονομασία του κάθε βακτηρίου χρησιμοποιείται πρώτα το όνομα του γένους στο οποίο ανήκει και αμέσως μετά το όνομα του είδους. Το όνομα το γένους και το όνομα του είδους γράφονται με λατινικά γράμματα. Το όνομα του γένους έχει το πρώτο γράμμα κεφαλαίο, ενώ το όνομα του είδους γράφεται ολόκληρο με μικρά γράμματα. Έτσι, όταν θέλουμε να γράψωμε το όνομα του βακτηρίου που είναι

το αίτιο μιας συγκεκριμένης ασθένειας, π.χ. της διφθερίτιδας, γράφομε πρώτα το όνομα του γένους στο οποίο ανήκει και μετά το όνομα του είδους που είναι υπεύθυνο για την ασθένεια: *Corynebacterium diphtheriae*. Το όνομα του γένους και του είδους είναι αρκετά για να χαρακτηρίσουν ένα βακτήριο.

Όταν γράφεται το όνομα μιας τάξεως βακτηρίων χρησιμοποιείται η κατάληξη -ales, η οποία στην ελληνική μεταφράζεται σαν -ακά, π.χ. *Rickettsi-ales* η Ρικετσιακά. Η κατάληξη στό όνομα της οικογένειας είναι -aceae η οποία στην ελληνική αντιστοιχεί στην κατάληξη -ιοειδή, π.χ. *Enterobacteriaceae* η Εντεροβακτηριοειδή.

Ένας πολύ χρήσιμος όρος είναι ο όρος **στέλεχος** ενός βακτηρίου. Ένα είδος βακτηρίου αποτελείται από πολλά στελέχη. Το στέλεχος προέρχεται από μία αποκία ενός είδους βακτηρίου. Τα στελέχη ενός είδους έχουν όλες τις βασικές ιδιότητες που χαρακτηρίζουν το είδος αλλά μπορεί να διαφέρουν σε δευτερεύουσες ιδιότητες. Έτσι π.χ. γράφομε ότι «μελετήσαμε 100 στελέχη *Staphylococcus aureus* που απομονώσαμε από το βλενογόνο της μύτης 100 ανθρώπων». Αυτό σημαίνει ότι και τα 100 στελέχη έχουν όλες τις βασικές ιδιότητες για να χαρακτηρισθούν σαν *Staphylococcus aureus*, αλλά μπορεί να έχουν διαφορές σε σχέση π.χ. με την ευαισθησία τους σε ένα ή περισσότερα αντιβιοτικά ή την ικανότητα τους να διασπούν ορισμένα σάκχαρα, δηλαδή ιδιότητες δευτερεύουσες που δεν αποτελούν ταξινομικά κριτήρια για να χαρακτηρίσουν το συγκεκριμένο είδος βακτηρίου. Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι κάθε στέλεχος βακτηρίου έχει βασικούς χαρακτήρες που το κατατάσσουν σε ένα ορισμένο είδος, αλλά έχει και ιδιότητες που το ξεχωρίζουν από άλλα στελέχη του ίδιου είδους.

Για την κατάταξη των διαφόρων στελεχών του ίδιου βακτηρίου χρησιμοποιείται ο όρος **βιότυπος**. Ένα είδος βακτηρίου μπορεί να χωρίζεται σε ένα ή περισσότερους βιότυπους. Η κατάταξη αυτή γίνεται συνήθως ανάλογα με την ικανότητα των στελεχών να διασπούν ορισμένα σάκχαρα ή να παράγουν ορισμένες ουσίες. Έτσι π.χ. τα στελέχη του βακτηρίου *Staphylococcus epidermidis* κατατάσσονται σε 4 βιότυπους. Και στην περίπτωση αυτή όμως στελέχη που ανήκουν στον ίδιο βιότυπο μπορεί να διαφέρουν σε μία άλλη ιδιότητα, π.χ. την ευαισθησία σε ένα αντιβιοτικό.

Μία άλλη κατάταξη των στελεχών ενός είδους βακτηρίου μπορεί να γίνει με βάση την αντιγονική σύσταση του κυτταρικού τους τοιχώματος ή την αντιγονική σύσταση των βλεφαρίδων, αν πρόκειται για κινητό βακτήριο. Στην περίπτωση αυτή τα στελέχη του είδους κατατάσσονται σε διάφορους **ορολογικούς τύπους** η **ορότυπους**. Για να γίνει η ορολογική τυποποίηση των στελεχών πρέπει πρώτα να έχουν παραχθεί **ειδικοί αντιοροί** που ο καθένας να περιέχει αντισώματα ειδικά για ένα μόνο από τα κυτταρικά ή βλεφαριδικά αντιγόνα. Οι αντιοροί παράγονται μετά από ένεση του αντιγόνου σε κουνέλι, όπου το ζώο αφαιμάσσεται και παραλαμβάνεται ο ορός που περιέχει αντισώματα για το συγκεκριμένο αντιγόνο. Η κατάταξη των στελεχών σε ορολογικούς τύπους γίνεται συνήθως με τη μέθοδο της συγκολλητικοαντιδράσεως πάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα.

Από όσα αναφέραμε πιο πάνω προκύπτει ότι τα στελέχη ενός είδους βακτηρίου εμφανίζουν διαφορές, δεν είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους. Όλα όμως έχουν τις κύριες ιδιότητες του είδους στό οποίο ανήκουν.

Στον πίνακα 1.1.1 αναφέρεται η κατάταξη των βακτηρίων.

ΔΙΑΙΡΕΣΗ I. KYANOBAKTHRIA**ΔΙΑΙΡΕΣΗ II. BAKTHRIA****ΜΕΡΟΣ 1. ΦΩΤΟΤΡΟΦΑ BAKTHRIA****ΤΑΞΗ I. Rhodospirillales****Οικογένεια I. Rhodospirillaceae**

Γένος I.	Rhodospirillum
Γένος II.	Rhodopseudomonas
Γένος III.	Rhodomicrobium

Οικογένεια II. Chromatiaceae

Γένος I.	Chromatium
Γένος II.	Thiocystis
Γένος III.	Thiosarcina
Γένος IV.	Thiospirillum
Γένος V.	Thiocapsa
Γένος VI.	Lamprocystis
Γένος VII.	Thiodictyon
Γένος VIII.	Thiopedia
Γένος IX.	Amoebobacter
Γένος X.	Ectothiorhodospira

Οικογένεια III. Chlorobiaceae

Γένος I.	Chlorobium
Γένος II.	Prosthecochloris
Γένος III.	Chloropseudomonas
Γένος IV.	Pelodictyon
Γένος V.	Clathrochloris

ΜΕΡΟΣ 2. BAKTHRIA ΠΟΥ KINOYNTAI XΩΡΙΣ ΕΙΔΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ**ΤΑΞΗ I. Myxobacterales****Οικογένεια I. Myxococcales**

Γένος I.	Myxococcus
----------	------------

Οικογένεια II. Archangiaceae

Γένος I.	Archangium
----------	------------

Οικογένεια III. Cystobacteraceae

Γένος I.	Cystobacter
Γένος II.	Melittangium
Γένος III.	Stigmatella

Οικογένεια IV. Polyangiaceae

Γένος I.	Polyangium
Γένος II.	Nannocystis
Γένος III.	Chondromyces

ΤΑΞΗ II.

Οικογένεια I. Cytophagaceae

Γένος I.	Cytophaga
Γένος II.	Flexibacter
Γένος III.	Herpetosiphon
Γένος IV.	Flexithrix
Γένος V.	Saprospira
Γένος VI.	Sporocytophaga

Οικογένεια II. Beggiatoaceae

Γένος I.	Beggiatoa
Γένος II.	Vitreoscilla
Γένος III.	Thioploca

Οικογένεια III. Simonsiellaceae

Γένος I.	Simonsiella
Γένος II.	Alysiella

Οικογένεια IV. Leucotrichaceae

Γένος I.	Leucothrix
Γένος II.	Thiothrix

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΕΣ ΚΑΙ ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Toxothrix
--------------	-----------

Οικογένεια Achromatiaceae

Γένος	Achromatium
--------------	-------------

Οικογένεια Pelonemataceae

Γένος	Pelonema
Γένος	Achroonema
Γένος	Peloploca
Γένος	Desmantos

ΜΕΡΟΣ 3. ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΦΕΡΟΝΤΑΙ ΜΕΣΑ ΣΕ ΘΗΚΗ

Γένος	Sphaerotilus
Γένος	Leptothrix
Γένος	Streptothrix
Γένος	Lieskeela
Γένος	Phragmidiothrix
Γένος	Cremothrix
Γένος	Clonothrix

ΜΕΡΟΣ 4. ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΜΕ ΔΙΑΚΛΑΔΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΣΑΡΤΗΜΑΤΑ

Γένος	Hypomicrobium
Γένος	Hypomonas
Γένος	Pedomicrobium
Γένος	Caulobacter
Γένος	Asticcacaulis
Γένος	Ancalomicrobium
Γένος	Prosthecomicrobium
Γένος	Thiodendron
Γένος	Pasteuria
Γένος	Blastobacter
Γένος	Seliberia
Γένος	Gallionella
Γένος	Neuskia
Γένος	Planctomyces
Γένος	Metallogenium
Γένος	Caulococcus
Γένος	Kusnezovia

ΜΕΡΟΣ 5. SPIROCHETES

ΤΑΞΗ I. Spirochaetales

Οικογένεια I. Spirochetaeae

Γένος I.	Spirochaeta
Γένος II.	Cristispira
Γένος III.	Treponema
Γένος IV.	Borrelia
Γένος V.	Leptospira

ΜΕΡΟΣ 6. ΣΠΕΙΡΟΕΙΔΗ ΚΑΙ ΚΕΚΑΜΜΕΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Οικογένεια I. Spirillaceae

Γένος I.	Spirillum
Γένος II.	Cambylobacter

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Bdellovibrio
Γένος	Microcyclus
Γένος	Pelosigma
Γένος	Brachyarcus

ΜΕΡΟΣ 7. GRAM - ΑΡΝΗΤΙΚΑ, ΑΕΡΟΒΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ ΚΑΙ ΚΟΚΚΟΙ

Οικογένεια I. Pseudomonadaceae

Γένος I.	Pseudomonas
Γένος II.	Xanthomonas
Γένος III.	Zoogloea
Γένος IV.	Gluconobacter

Οικογένεια II. Azotobacteraceae

Γένος I.	Azotobacter
Γένος II.	Azomonas
Γένος III.	Beijerinckia
Γένος IV.	Dexia

Οικογένεια III. Rhizobiaceae

Γένος I.	Rhizobium
Γένος II.	Agrobacterium

Οικογένεια IV. Methyloimonadaceae

Γένος I.	Methyloimonas
Γένος II.	Methylococcus

Οικογένεια V. Halobacteriaceae

Γένος I.	Halobacterium
Γένος II.	Halococcus

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Alcaligenes
Γένος	Acetobacter
Γένος	Brucella
Γένος	Bordetella
Γένος	Francisella
Γένος	Thermus

ΜΕΡΟΣ 8. GRAM - ΑΡΝΗΤΙΚΑ, ΠΡΟΑΙΡΕΤΙΚΩΣ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ**Οικογένεια I. Enterobacteriaceae**

Γένος I.	Escherichia
Γένος II.	Edwardsiella
Γένος III.	Citrobacter
Γένος IV.	Salmonella
Γένος V.	Shigella
Γένος VI.	Klebsiella
Γένος VII.	Enterobacter
Γένος VIII.	Hafnia
Γένος IX.	Serratia
Γένος X.	Proteus
Γένος XI.	Yersinia
Γένος XII.	Erwinia

Οικογένεια II. Vibrionaceae

Γένος I.	Vibrio
Γένος II.	Aeromonas
Γένος III.	Plesiomonas
Γένος IV.	Photobacterium
Γένος V.	Lucibacterium

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Zymomonas
Γένος	Chromobacterium
Γένος	Flavobacterium
Γένος	Haemophilus
Γένος	Pasteurella
Γένος	Actinobacillus
Γένος	Cardiobacterium
Γένος	Streptobacillus
Γένος	Calymmatobacterium

ΜΕΡΟΣ 9. GRAM - ΑΡΝΗΤΙΚΑ ΑΝΑΕΡΟΒΙΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Οικογένεια I. Bacteroidaceae

Γένος I.	Bacteroides
Γένος II.	Fusobacterium
Γένος III.	Leptotrichia

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Desulfovibrio
Γένος	Butyrvibrio
Γένος	Succinovibrio
Γένος	Succinomonas
Γένος	Lachnospira
Γένος	Salenomonas

ΜΕΡΟΣ 10. GRAM-ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ, ΑΕΡΟΒΙΟΙ ΚΟΚΚΟΙ ΚΑΙ ΚΟΚΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ

Οικογένεια I. Neisseriaceae

Γένος I.	Neisseria
Γένος II.	Branhamella
Γένος III.	Moraxella
Γένος IV.	Acinetobacter

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

Γένος	Paracoccus
Γένος	Lampropedia

ΜΕΡΟΣ 11. GRAM-ΑΡΝΗΤΙΚΟΙ ΑΝΑΕΡΟΒΙΟΙ ΚΟΚΚΟΙ

Οικογένεια I. Veillonellaceae

Γένος I.	Veillonella
Γένος II.	Acidaminococcus
Γένος III.	Megasphaera

ΜΕΡΟΣ 12. GRAM-ΑΡΝΗΤΙΚΑ, ΧΗΜΕΙΟΑΥΤΟΤΡΟΦΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

α) Βακτήρια που οξειδώνουν την αμμωνία ή τα νιτρικά

Οικογένεια I. Nitrobacteraceae

Γένος I.	Nitrobacter
Γένος II.	Nitrospina
Γένος III.	Nitrococcus
Γένος IV.	Nitrosomonas
Γένος V.	Nitrosospira
Γένος VI.	Nitrosococcus
Γένος VII.	Nitrosolobus

β) Βακτήρια που μεταβολίζουν το θείο

Γένος I.	Thiobacillus
Γένος II.	Sulfolobus
Γένος III.	Thiobacterium
Γένος IV.	Macromonas
Γένος V.	Thiovulum
Γένος VI.	Thiospira

γ) Βακτήρια που εναποθέτουν σίδηρο ή οξείδια του μαγγανίου

Οικογένεια I. Siderocapsaceae

Γένος I.	Siderocapsa
Γένος II.	Naumaniella
Γένος III.	Ochrobium
Γένος IV.	Siderococcus

ΜΕΡΟΣ 13. ΒΑΚΤΗΡΙΑ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΟΥΝ ΜΕΘΑΝΙΟ

Οικογένεια I. Methanobacteriaceae

Γένος I.	Methanobacterium
Γένος II.	Methanosarcina
Γένος III.	Methanococcus

ΜΕΡΟΣ 14. GRAM-ΘΕΤΙΚΟΙ ΚΟΚΚΟΙ

α) Αερόβιοι και / η προαιρετικά αναερόβιοι κόκκοι

Οικογένεια I. Micrococcaceae

Γένος I.	Micrococcus
Γένος II.	Staphylococcus
Γένος III.	Planococcus

Οικογένεια II. Streptococcaceae

Γένος I.	Streptococcus
Γένος II.	Leuconostoc
Γένος III.	Pediococcus
Γένος IV.	Aerococcus
Γένος V.	Gemella

β) Ανερόβιοι κόκκοι

Οικογένεια III. Peptococcaceae

- Γένος I. Peptococcus
- Γένος II. Peptostreptococcus
- Γένος III. Ruminococcus
- Γένος IV. Sarcina

ΜΕΡΟΣ 15. ΣΠΟΡΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΑ

Οικογένεια I. Bacillaceae

- Γένος I. Bacillus
- Γένος II. Sporolactobacillus
- Γένος III. Clostridium
- Γένος IV. Desulfotomaculum
- Γένος V. Sporosarcina

ΓΕΝΟΣ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

- Γένος Oscillospira

ΜΕΡΟΣ 16. GRAM-ΘΕΤΙΚΑ, ΜΗ ΣΠΟΡΟΓΟΝΑ ΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ

Οικογένεια I. Lactobacillaceae

- Γένος I. Lactobacillus

ΓΕΝΗ ΜΕ ΑΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΤΗ ΣΥΓΓΕΝΕΙΑ

- Γένος Listeria
- Γένος Erysipelothrix
- Γένος Caryophanon

ΜΕΡΟΣ 17. ΑΚΤΙΝΟΜΥΚΗΤΕΣ ΚΑΙ ΣΥΓΓΕΝΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑ

- Γένος I. Corynebacterium
- Γένος II. Arthrobacter
- Γένος III. Cellulomonas
- Γένος IV. Kurthia

Οικογένεια I. Propionibacteriaceae

- Γένος I. Propionibacterium
- Γένος II. Eubacterium

ΤΑΞΗ I. Actinomycetales

Οικογένεια I. Actinomycetaceae

- Γένος I. Actinomyces
- Γένος II. Arachnia
- Γένος III. Bifidobacterium
- Γένος IV. Bacterionema
- Γένος V. Rothia

Οικογένεια II. Mycobacteriaceae

Γένος I. Mycobacterium

Οικογένεια III. Frankiaceae

Γένος I. Frankia

Οικογένεια IV. Actinoplanaceae

Γένος I.	Actinoplanes
Γένος II.	Spirillospora
Γένος III.	Streptosporangium
Γένος IV.	Amphosporangium
Γένος V.	Ampullariella
Γένος VI.	Pilimelia
Γένος VII.	Planomonospora
Γένος VIII.	Planobispora
Γένος IX.	Dactylosporangium
Γένος X.	Kitasatoa

Οικογένεια V. Dermatophiliaceae

Γένος I.	Dermatophilus
Γένος II.	Geodermatophilus

Οικογένεια VI. Nocardiaceae

Γένος I.	Nocardia
Γένος II.	Pseudonocardia

Οικογένεια VII. Streptomycetaceae

Γένος I.	Streptomyces
Γένος II.	Streptoverticillium
Γένος III.	Sporichtha
Γένος IV.	Microellobosporia

Οικογένεια VIII. Micromonosporaceae

Γένος I.	Micromonospora
Γένος II.	Thermoactinomyces
Γένος III.	Actinobifida
Γένος IV.	Thermomonospora
Γένος V.	Microbispora
Γένος VI.	Micropolyspora

ΜΕΡΟΣ 18. ΡΙΚΕΤΣΙΕΣ**ΤΑΞΗ I. Rickettsiales****Οικογένεια I. Rickettsiaceae****Οικογένεια II. Bartonellaceae****Οικογένεια III. Anaplasmataceae****ΤΑΞΗ II. Chlamydiales****Οικογένεια I. Chlamydiaceae**

Γένος I. Chlamydium

ΜΕΡΟΣ 19. ΜΥΚΟΠΛΑΣΜΑΤΑ**ΤΑΞΗ I. *Mycoplasmatales*****Οικογένεια I. *Mycoplasmataceae*****Γένος I. *Mycoplasma***

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Η ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΑΚΗ ΧΛΩΡΙΔΑ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ

2.1 Γενικά.

Στο περιβάλλον όπου ζει ο άνθρωπος – από τη γέννηση μέχρι το θάνατό του – υπάρχει τεράστιος αριθμός βακτηρίων που, καθώς είπαμε, ανήκουν σε διάφορα είδη, γένη, οικογένειες και τάξεις. Τα βακτήρια αυτά δεν βρίσκονται μόνο στο περιβάλλον του ανθρώπου, αλλά αποικίζουν και τις διάφορες περιοχές του σώματός του. Τα είδη των βακτηρίων που βρίσκονται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες στον άνθρωπο διαφέρουν από περιοχή σε περιοχή του σώματός του, ενώ ορισμένες άλλες περιοχές δε φέρουν μικρόβια και χαρακτηρίζονται σαν περιοχές στείρες από μικρόβια.

Με τον όρο **φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του ανθρώπου** χαρακτηρίζομε τα είδη των βακτηρίων που απομονώνονται κάτω από φυσιολογικές συνθήκες από τις διάφορες περιοχές του σώματος. Τα βακτήρια που αποτελούν τη φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα μιας περιοχής του σώματος δεν ασκούν παθογόνο δράση στη συγκεκριμένη περιοχή. Όμως, τα ίδια αυτά βακτήρια είναι παθογόνα, όταν βρεθούν σε άλλες περιοχές του σώματος, ενώ μερικές φορές π.χ. τοπικός τραυματισμός, μπορεί να ασκήσουν παθογόνο δράση και στην περιοχή της οποίας αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι οι περιοχές του σώματος διακρίνονται: στις περιοχές που φέρουν κάτω από φυσιολογικές συνθήκες μικρόβια και σε εκείνες που είναι στείρες από μικρόβια.

2.2 Η μικροβιακή χλωρίδα των περιοχών του σώματος.

2.2.1 Αναπνευστική οδός.

Οι περιοχές της αναπνευστικής οδού, όπου φυσιολογικά αναπτύσσονται μικρόβια, είναι το στόμα (βλεννογόνος παρειών, δόντια, γλώσσα, ούλα και υπερώα), η φαρυγγική κοιλότητα (ρινοφάρυγγας, στοματοφάρυγγας και αμυγδαλές) και η μύτη.

Περιοχές της αναπνευστικής οδού που είναι στείρες από μικρόβια κάτω από φυσιολογικές συνθήκες είναι ο λάρυγγας, η τραχεία, οι βρόγχοι, τα βρογχιόλια, οι κυψελίδες και οι παραρρινικοί κόλποι.

Στον πίνακα 2.2.1 αναφέρονται τα κύρια είδη βακτηρίων που αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα της αναπνευστικής οδού.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.1.
Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα της αναπνευστικής οδού.

Βακτήρια	Περιοχή
Corynebacterium (διάφορα είδη)	Στόμα, μύτη
Enterobacteriaceae (κυρίως E. coli και Klebsiella - Enterobacter)	Στόμα, φαρυγγική κοιλότητα
Enterococcus	Στόμα, αμυγδαλές, μύτη
Haemophilus (influenzae και parainfluenzae)	Στόμα, φαρυγγική κοιλότητα
Micrococcus (διάφορα είδη)	Στόμα, αμυγδαλές
Neisseria (διάφορα είδη)	Στόμα, ρινοφάρυγγας, μύτη
Staphylococcus aureus	Στόμα, ρινοφάρυγγας, αμυγδαλές, μύτη
Staphylococcus epidermidis	Στόμα, ρινοφάρυγγας, αμυγδαλές, μύτη
Streptococcus pneumoniae	Στόμα, μύτη, αμυγδαλές, φαρυγγική κοιλότητα
Streptococci (πρασινίζοντες)	Στόμα, φαρυγγική κοιλότητα

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.2.
Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος.

Βακτήρια	Περιοχή
Bacteroides (διάφορα είδη)	Παχύ έντερο
Clostridium (διάφορα είδη)	Παχύ έντερο
Enterobacteriaceae	Παχύ έντερο
Enterococcus	Παχύ έντερο
Fusobacterium (διάφορα είδη)	Παχύ έντερο
Pseudomonas aeruginosa	Παχύ έντερο
Staphylococcus aureus	Παχύ έντερο

2.2.2 Γαστρεντερικό σύστημα.

Η περιοχή του γαστρεντερικού συστήματος, όπου φυσιολογικά υπάρχουν μικρόβια, είναι το παχύ έντερο.

Περιοχές του γαστρεντερικού συστήματος, που είναι στείρες από μικρόβια, είναι: ο οισοφάγος, το στομάχι, το λεπτό έντερο, η χοληδόχος κύστη και το περιτόναιο.

Στον πίνακα 2.2.2 αναφέρονται τα κύρια είδη βακτηρίων που αποτελούν τη φυσιολογική μικροβιολογική χλωρίδα του γαστρεντερικού συστήματος.

2.2.3 Ουρογεννητικό σύστημα.

Οι περιοχές του ουρογεννητικού συστήματος, όπου φυσιολογικά βρίσκονται μικρόβια, είναι τα εξωτερικά γεννητικά όργανα, η πρόσθια ουρήθρα και ο κόλπος. Όλες οι άλλες περιοχές του ουρογεννητικού συστήματος είναι, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, στείρες από μικρόβια.

Στον πίνακα 2.2.3 αναφέρονται τα κύρια είδη βακτηρίων που αποτελούν τη φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του ουρογεννητικού συστήματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.3.

Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του ουρογεννητικού συστήματος.

Βακτήρια	Περιοχή
Bacteroides (διάφορα είδη)	Εξωτερικά γεννητικά όργανα
Clostridium (διάφορα είδη)	Κόλπος
Enterobacteriaceae	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, πρόσθια ουρήθρα, κόλπος
Enterococcus	Κόλπος
Lactobacillus	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, πρόσθια ουρήθρα, κόλπος
Mycoplasma (διάφορα είδη)	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, πρόσθια ουρήθρα, κόλπος
Neisseria (μη παθογόνα είδη)	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, πρόσθια ουρήθρα, κόλπος
Staphylococcus aureus	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, σπανίως στην πρόσθια ουρήθρα, κόλπος
Staphylococcus epidermidis	Εξωτερικά γεννητικά όργανα, σπανίως στην πρόσθια ουρήθρα, κόλπος

2.2.4 Δέρμα, μάτια και αυτιά.

Κάτω από φυσιολογικές συνθήκες ο μέσος και ο έσω ακουστικός πόρος είναι περιοχές στείρες από μικρόβια, ενώ ο έξω ακουστικός πόρος φέρει συνήθως την ίδια μικροβιακή χλωρίδα με το δέρμα.

Στα μάτια, ο επιπεφυκότας, κάτω από φυσιολογικές συνθήκες, φέρει ορισμένα από τα βακτήρια του δέρματος.

Στον πίνακα 2.2.4 αναφέρονται τα κύρια είδη βακτηρίων που αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα του δέρματος, των ματιών και των αυτιών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2.4.

Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του δέρματος, ματιών και αυτιών.

Βακτήρια	Περιοχή
<i>Corynebacterium</i> (διάφορα είδη)	Δέρμα, μάτι, αυτί
<i>Micrococcus</i> (διάφορα είδη)	Δέρμα
<i>Neisseria</i> (διάφορα είδη)	Δέρμα, μάτι
<i>Peptostreptococcus</i>	Δέρμα
<i>Staphylococcus aureus</i>	Δέρμα, μάτι (σπανίως) αυτί
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Δέρμα, μάτι, αυτί
<i>Streptococci</i> (πρασινίζοντες)	Δέρμα, μάτι

Τέλος πρέπει να σημειωθεί ότι στα υγιή άτομα το αίμα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό είναι περιοχές στείρες από μικρόβια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΣΤΑΦΥΛΟΚΟΚΚΟΣ

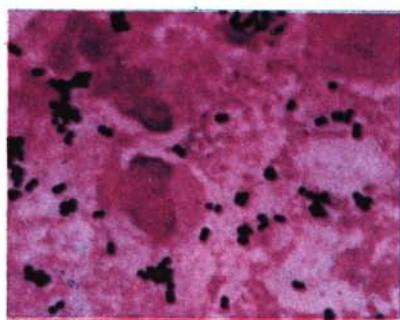
3.1 Γενικά.

Το γένος **Staphylococcus** ανήκει στην οικογένεια των Micrococcaceae και περιλαμβάνει δύο είδη, τον *S. aureus* και τον *S. epidermidis*. Από τα δύο είδη ο *S. aureus* είναι παθογόνος για τον άνθρωπο και τα ζώα, ενώ τα τελευταία χρόνια έχει διαπιστωθεί ότι και ο *S. epidermidis* ασκεί σε ορισμένες περιπτώσεις παθογόνο δράση.

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναπτύξουμε τις ιδιότητες του *S. aureus* και στο τέλος θα αναφέρομε τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται για να ξεχωρίσουμε τον *S. aureus* από τον *S. epidermidis*.

3.2 Μορφολογία και χρώση.

Ο σταφυλόκοκκος είναι Gram-θετικός κόκκος και τα κύτταρα του διατάσσονται σε αθροίσματα που μοιάζουν με τσαμπιά από σταφύλια (σχ. 3.2).



Ⓐ



Ⓑ

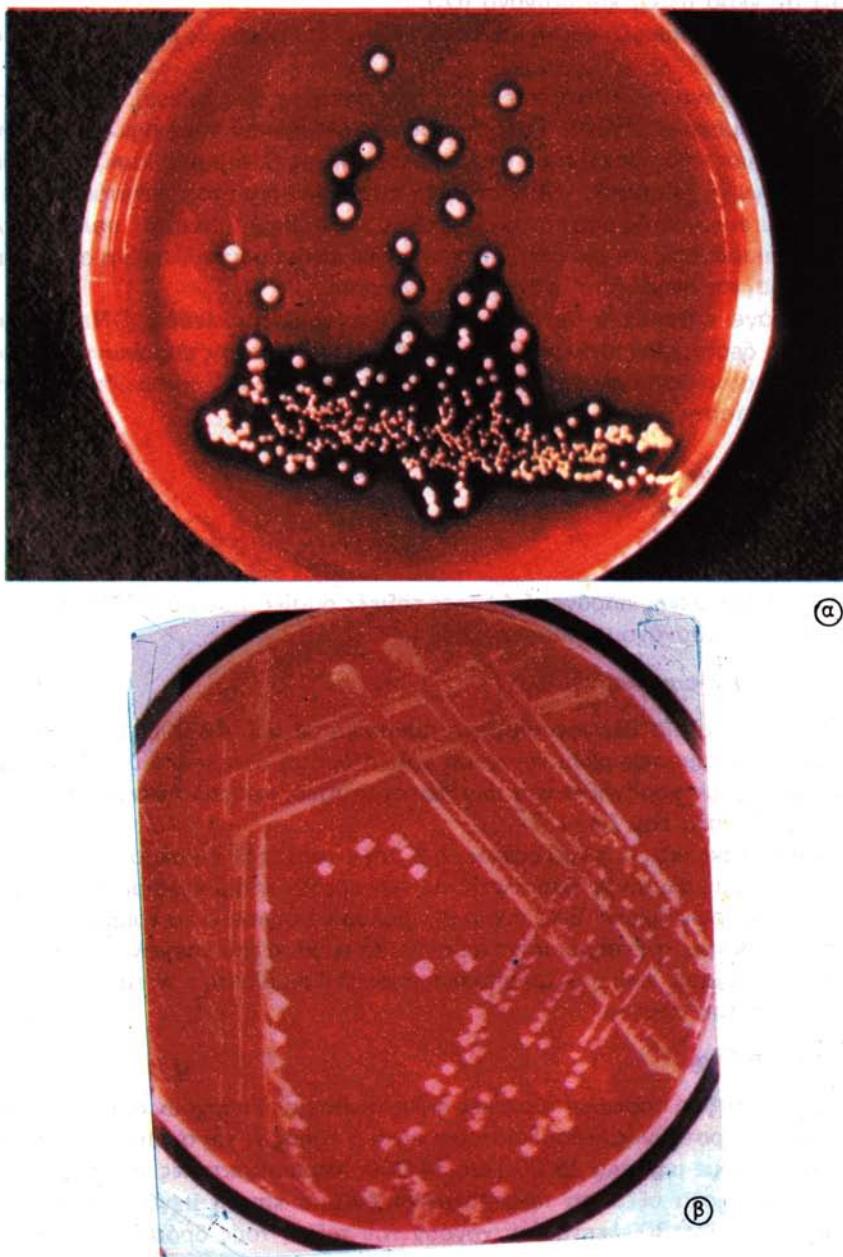
Σχ. 3.2.

Άμεσο παρασκευάσμα *S. aureus* από πύον (Ⓐ) και παρασκεύασμα από μία αποικία σε αιματούχο άγαρ (Ⓑ).

3.3 Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες, αλλά μπορεί να αναπτυχθεί και χωρίς την παρουσία οξυγόνου. Η καλλιέργεια του γίνεται σε κοινά και εμπλουτι-

σμένα θρεπτικά υλικά. Αναπτύσσεται σε θερμοκρασίες από 10% ως 45°C, αλλά η άριστη θερμοκρασία αναπτύξεώς του είναι οι 37°C. Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται σε υγρά ή στερεά θρεπτικά υλικά που περιέχουν 7,5% NaCl (σχ. 3.3).



Σχ. 3.3.

Αποικίες *S. aureus* σε αιματούχο άγαρ.

Στο (a) οι αποικίες παράγουν αιμόλυση, ενώ στο (β) οι αποικίες δεν είναι αιμολυτικές.

3.4 Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

1) Παράγει ένα ένζυμο, την **καταλάση**, που διασπά το υπεροξείδιο του οξυγόνου (H_2O_2) σε νερό (H_2O) και οξυγόνο (O_2).

2) Διασπά τη γλυκόζη και τη μαννιτόλη κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες.

3) Παράγει ένα έξωκυττάριο ένζυμο, την **πηκτάση** (coagulase), που έχει την ιδιότητα να προκαλεί πήξη του πλάσματος του ανθρώπου και διαφόρων ζώων. Ο χαρακτηρισμός ενός στελέχους σταφυλοκόκκου ως *S. aureus* βασίζεται ακριβώς στην παραγωγή πηκτάσης. Όσα στελέχη παράγουν πηκτάση κατατάσσονται στο είδος *S. aureus*. Εκτός από την εξωκυττάρια - ελεύθερη πηκτάση, πολλά στελέχη *S. aureus* παράγουν και μία άλλη πηκτάση, που είναι προσκολλημένη στο κυτταρικό τοίχωμα και ονομάζεται **συνδεμένη πηκτάση**.

4) Παράγει επίσης μία **θερμοανθεκτική δεοξυριβονουκλεάση** (DNase), που υδρολύει το δεοξυριβονουκλεϊνικό οξύ (DNA). Η ιδιότητα της παραγωγής θερμοανθεκτικής δεοξυριβονουκλεάσης είναι χαρακτηριστική του *S. aureus* όπως και η παραγωγή πηκτάσης.

3.5 Τοξικές ουσίες.

Ο σταφυλόκοκκος παράγει διάφορες τοξικές ουσίες, που συμβάλλουν στην εκδήλωση της παθογόνου δράσεως του.

1) *a*-τοξίνη ή *a*-αιμολυσίνη.

Πρόκειται για μία θερμοευαίσθητη πρωτεΐνη με μ.β. 44 000. Προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ασκεί τοξική δράση στα λευκά αιμοσφαίρια του κουνελιού. Όταν χορηγηθεί στο ίδιο πειραματόζωο, προκαλεί νέκρωση του δέρματος και θάνατο του ζώου.

Ο σταφυλόκοκκος παράγει επίσης τη β-, τη γ-, και τη δ- αιμολυσίνη. Η κάθε μία από αυτές τις αιμολυσίνες προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων του ανθρώπου και διαφόρων ζώων. Έτσι π.χ. η β-αιμολυσίνη αιμολύει τα ερυθρά αιμοσφαίρια του προβάτου, η γ- αιμολύσινη αιμολύει τα ερυθρά του κουνελιού, του ανθρώπου και του χοίρου, ενώ η δ- αιμολυσίνη προκαλεί αιμόλυση των ερυθρών του ανθρώπου και του αλόγου.

2) Εντεροτοξίνη.

Η εντεροτοξίνη προκαλεί τροφικές δηλητηριάσεις. Υπάρχουν αρκετοί αντιγονικοί τύποι εντεροτοξίνης. Σπουδαιότεροι είναι ο τύπος A και ο τύπος B. Πρόκειται για πρωτεΐνες με μ.β. από 28 000 ως 34 000. Χαρακτηριστικές ιδιότητές τους είναι η αντοχή στα οξέα, τα πρωτεολυτικά ένζυμα και τη μεγάλη θερμοκρασία (στους 100°C για 30' λεπτά δεν χάνουν την τοξική τους δράση).

Ο άνθρωπος παθαίνει δηλητηρίαση από σταφυλόκοκκο όταν καταναλώσει τρόφιμα όπου έχουν αναπτυχθεί εντεροτοξίνογόνα στελέχη σταφυλόκοκκου. Τέτοια τρόφιμα είναι συνήθως το γάλα και το κρέας.

γ) Επιδερμολυτική τοξίνη.

Πρόκειται για μία πρωτεΐνη που παράγεται από ορισμένα στελέχη *S. aureus* και προκαλεί νέκρωση και απόπτωση της επιδερμίδας των νεογνών (επιδερμολυτική νέκρωση των νεογνών).

δ) Λευκοκοτονίνη.

Προκαλεί ελευθέρωση των ενζύμων από τα λυσοσώματα των λευκών αιμοσφαιρίων. Τα ένζυμα ελευθερώνονται μέσα στο κυτταρόπλασμα και καταστρέφουν τα λευκά αιμοσφαιρία.

ε) Υαλουρονιδάση.

Διασπά το υαλουρονικό οξύ του διάμεσου συνδετικού ιστού και με αυτόν τον τρόπο ευνοεί την έπεκταση της λοιμώξεως, στα αρχικά κυρίως στάδια της νόσου.

Μέχρι τώρα δεν είναι γνωστή με ακρίβεια ποια από τις τοξικές ουσίες και τά ένζυμα του σταφυλόκοκκου είναι κυρίως υπεύθυνα για την πρόκληση λοιμώξεως. Όλες οι ουσίες συμβάλλουν στην ανάπτυξη των λοιμώξεων από σταφυλόκοκκο, ενώ για την περίπτωση της τροφικής δηλητηριάσεως και της επιδερμολυτικής νέκρωσεως των νεογνών είναι υπεύθυνες αντίστοιχα η εντεροτοξίνη και η επιδερμολυτική τοξίνη.

3.6 Παθογόνος δράση.

Οι λοιμώξεις από σταφυλόκοκκο αφορουν σε διάφορα σημεία του σώματος και μπορεί να είναι **εντοπισμένες ή συστηματικές**.

Οι εντοπισμένες λοιμώξεις χαρακτηρίζονται από το σχηματισμό μιας περιγεγραμμένης φλεγμονώδους αλλοιώσεως του δέρματος που έχει πύο και καλείται **απόστημα**. Όταν το απόστημα καταλαμβάνει και τον υποδόριο ιστό καλείται **δοθήν**. Σε μερικές περιπτώσεις τα κύτταρα του μικροβίου φεύγουν από την περιοχή της εντοπισμένης λοιμώξεως και με το αίμα μεταφέρονται σε απομακρυσμένα όργανα (συστηματικές). Στην περίπτωση αυτή αναπτύσσονται σοβαρές λοιμώξεις, όπως π.χ. οστεομυελίτιδα (προσβολή της μεταφύσεως των οστών, ιδίως των κάτω άκρων) και ενδοκαρδίτιδα (προσβολή των βαλβίδων της καρδιάς). Ο σταφυλόκοκκος προκαλεί ακόμα διαπυήσεις τραυμάτων, μαστίτιδα, μηνιγγίτιδα, πνευμονία, τροφικές δηλητηριάσεις και την επιδερμολυτική νέκρωση των νεογνών.

3.7 Μικροβιολογική διάγνωση.

Η εργαστηριακή διάγνωση μιας λοιμώξεως, που οφείλεται σε σταφυλόκοκκο βασίζεται:

α) Στην απομόνωση του μικροοργανισμού από το ύποπτο υλικό (πύο, αίμα, πτύελα, εγκεφαλονωτιαίο υγρό κλπ.) σε κατάλληλα θρεπτικά υλικά,

β) Στη μελέτη των παρασκευασμάτων που γίνονται από τις αποικίες, οι οποίες απομονώνονται και

γ) στην ανίχνευση της παραγωγής πηκτάσης από τις ίδιες αποικίες.

Στον πίνακα 3.7.1 δίνονται οι ιδιότητες, με τις οποίες διαχωρίζομε τον *S. aureus* από τον *S. epidermidis*.

ΠΙΝΑΚΑΣ 3.7.1.*Ιδιότητες για το διαχωρισμό του *S. aureus* από τον *S. epidermidis*.*

Ιδιότητα	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>
Διάσπαση της γλυκόζης		
αερόβια	+	+
αναερόβια	+	+
Διάσπαση της μαννιτόλης		
αερόβια	+	δ
αναερόβια	+	-
α - αιμολυσίνη	+	-
Θερμοανθεκτική δεοξυριβονουκλεάση	+	-
Πηκτάση	+	-
δ = άλλα στελέχη + και άλλα -		

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΣΤΡΕΠΤΟΚΟΚΚΟΙ

4.1 Γενικά.

Το γένος *Streptococcus* ανήκει στην οικογένεια των *Streptococcaceae* και περιλαμβάνει διάφορα είδη.

Οι στρεπτόκοκκοι χωρίζονται σε τρεις ομάδες, με βάση την ιδιότητα να προκαλούν ή να μην προκαλούν αιμόλυση στο αιματούχο άγαρ και με το αν η αιμόλυση είναι πλήρης ή μερική:

1) **Η πρώτη ομάδα** περιλαμβάνει τους στρεπτόκοκκους εκείνους που οι αποικίες τους στο αιματούχο άγαρ περιβάλλονται από διαυγή ζώνη. Η διαυγής ζώνη οφείλεται στην πλήρη λύση όλων των ερυθρών αιμοσφαιρίων γύρω από την αποικία και οι στρεπτόκοκκοι αυτοί ονομάζονται **β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι**.

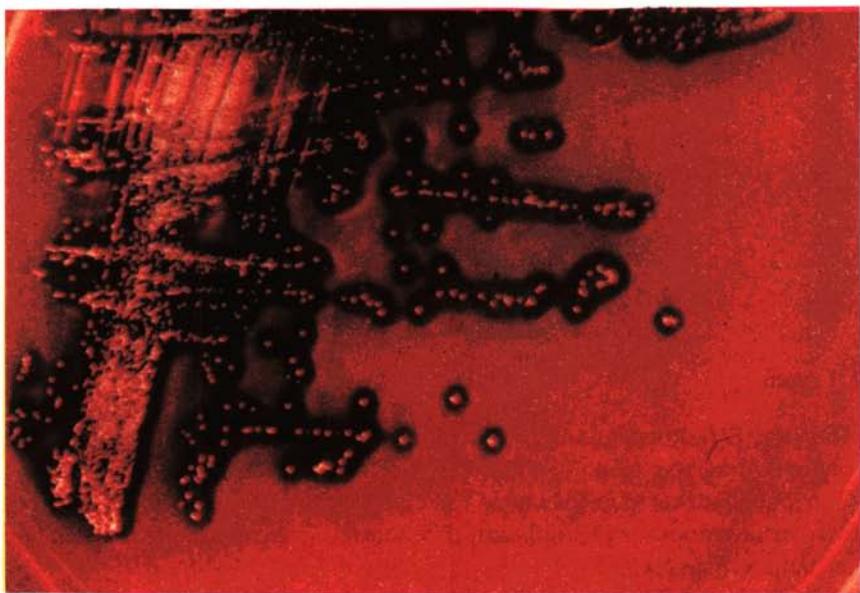
2) **Η δεύτερη ομάδα** περιλαμβάνει στρεπτόκοκκους, που προκαλούν μερική λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και οι αποικίες τους στο αιματούχο άγαρ περιβάλλονται από ζώνη που έχει πράσινο χρώμα. Οι στρεπτόκοκκοι αυτής της ομάδας ονομάζονται **α-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι**.

3) **Η τρίτη ομάδα** περιλαμβάνει τους στρεπτόκοκκους που δεν εμφανίζουν κανένα είδος αιμολύσεως στο αιματούχο άγαρ και καλούνται **μη αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι** (σχ. 4.1α και 4.1β).

Οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι διακρίνονται σε διάφορες ορολογικές ομάδες (Α μέχρι Τ) με βάση το πολυσακχαριδικό αντιγόνο C που βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα. Αντισώματα ειδικά για το αντιγόνο C μιας ομάδας, π.χ. τις A, αντιδρούν μόνο με στελέχη στρεπτοκόκκων που ανήκουν στην ομάδα A. Η ανεύρεση της ορολογικής ομάδας, στην οποία ανήκει κάθε στέλεχος β - αιμολυτικού στρεπτοκόκκου γίνεται με ίζηματινο αντίδραση. Η κατάταξη αυτή των στρεπτοκόκκων καλείται **ορολογική τυποποίηση κατά Lancefield**, από την επιστήμονα που πρώτη την εφάρμοσε.

Οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι της ομάδας A υποδιαιρούνται σε ορολογικούς τύπους με βάση την πρωτεΐνη M, που βρίσκεται στο κυτταρικό τοίχωμα. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 55 ορολογικού τύποι του β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου της ομάδας A και ορίζονται με αραβικούς αριθμούς (1, 2, 3, 4,... 55). Η ανεύρεση του ορολογικού τύπου, στον οποίο ανήκει κάθε στέλεχος β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου ομάδας A, γίνεται με ίζηματινο αντίδραση η συγκολλητινοαντίδραση.

Οι περισσότερες στρεπτοκοκκικές λοιμώξεις (90% ως 95%) οφείλονται στους β - αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους της ομάδας A. Οι στρεπτόκοκκοι αυτής της ομάδας

**Σχ. 4.1α.**

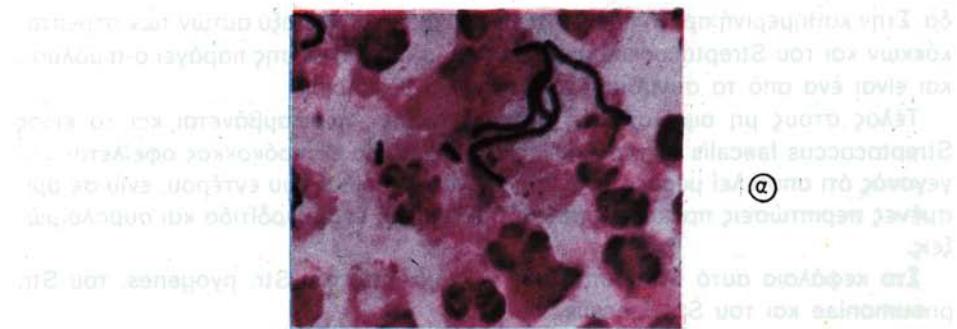
Αποικίες β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου σε αιματούχο άγαρ.

δας είναι γνωστοί και με το όνομα *Streptococcus pyogenes*.

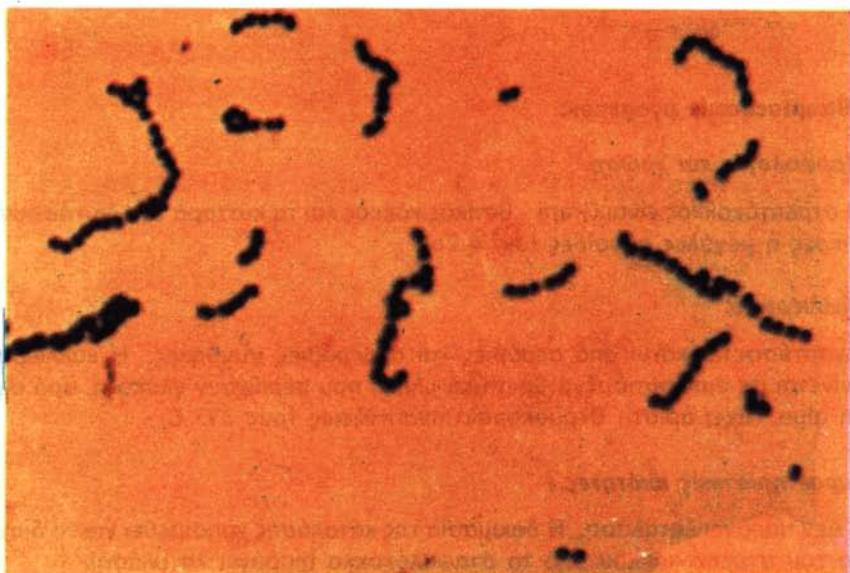
Η ομάδα των α-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων περιλαμβάνει στρεπτόκοκκους που δεν έχουν ταξινομηθεί με ακρίβεια, είναι γνωστοί με το όνομα πρασινίζοντες (*viridans*) στρεπτόκοκκοι και αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του ανθρώπου. Σε ορισμένες περιπτώσεις προκαλούν υποξεία βακτηριακή ενδοκαρδίτι-

**Σχ. 4.1β.**

Αποικίες α-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου σε αιματούχο άγαρ.



Ⓐ



Ⓑ

Σχ. 4.2α.

Άμεσο παρασκευάσμα *S. pyogenes* από πύον (α) και παρασκεύασμα από μία αποικία σε αιματούχο άγαρ (β).



Σχ. 4.2β.

Αναστολή της αναπτύξεως του β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου της ομάδας Α γύρω από δίσκο βακιτρασίνης.

Η αναστολή είναι λόγω της απρότοφεπτοι μεταβολών που προκαλεί η βακιτρασίνη. Το δίσκο βακιτρασίνης προστατεύεται από την αναπτύξη του βακιτρασίνης. Η αναστολή είναι λόγω της απρότοφεπτοι μεταβολών που προκαλεί η βακιτρασίνη. Το δίσκο βακιτρασίνης προστατεύεται από την αναπτύξη του βακιτρασίνης.

δα. Στην καθημερινή πράξη πρέπει να γίνεται διάκριση μεταξύ αυτών των στρεπτοκόκκων και του *Streptococcus pneumoniae*, ο οποίος επίσης παράγει α-αιμόλυση και είναι ένα από τα συνηθισμένα παθογόνα βακτήρια.

Τέλος στους μη αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους περιλαμβάνεται και το είδος *Streptococcus faecalis* (εντερόκοκκος). Η ονομασία εντερόκοκκος οφείλεται στο γεγονός ότι αποτελεί μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του εντέρου, ενώ σε όρισμένες περιπτώσεις προκαλεί υποξεία βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα και ουρολοιμώξεις.

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναπτύξουμε τις ιδιότητες του *Str. pyogenes*, του *Str. pneumoniae* και του *Str. faecalis*.

4.2 *Streptococcus pyogenes*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Ο στρεπτόκοκκος είναι Gram - θετικός κόκκος και τα κύτταρά του διατάσσονται σε μικρές ή μεγάλες αλυσίδες (σχ. 4.2α).

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Η καλλιέργειά του γίνεται σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά, που περιέχουν γλυκόζη, ορό αίματος ή αίμα. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

— Δεν παράγει καταλάση. Η δοκιμασία της καταλάσης χρησιμεύει για το διαχωρισμό του στρεπτοκόκκου από το σταφυλόκοκκο (παράγει καταλάση).

— Η ανάπτυξή του αναστέλλεται από τη βακιτρασίνη. Τα στελέχη του β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου της ομάδας A είναι ευαίσθητα σε πολύ μικρές πυκνότητες βακιτρασίνης, ενώ οι β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι όλων των άλλων ομάδων είναι ανθεκτικοί. Η μέθοδος της ευαισθησίας στη βακιτρασίνη είναι πολύ χρήσιμη για να διαπιστωθεί γρήγορα και με μεγάλη σχετικά ακρίβεια αν ένα στέλεχος β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου ανήκει στην ομάδα A. Η δοκιμασία της βακιτρασίνης δίνει ακριβή αποτέλεσμα σε ποσοστό 95% ως 99%, όταν συγκρίνεται με την ορολογική τυποποίηση των β-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων της ομάδας A (σχ. 4.2β).

δ) Τοξικές ουσίες.

1) *Ερυθρογόνος τοξίνη.* Η ερυθρογόνος τοξίνη έχει μ.β. 29 000 και είναι υπεύθυνη για το εξάνθημα της ωστρακιάς. Η δράση της ασκείται στα τριχοειδή αγγεία, των οποίων αυξάνει τη διαπερατότητα με αποτέλεσμα την έμφανιση εξανθήματος. Έχουν περιγραφεί 3 διαφορετικοί αντιγονικοί τύποι ερυθρογόνου τοξίνης: η A, Β και C.

Τα πιο πολλά στελέχη β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου ομάδας A παράγουν τον

αντιγονικό τύπο Α. Μόνο στελέχη της ομάδας Α παράγουν ερυθρογόνο-τοξίνη και κατά συνέπεια προκαλούν οστρακιά, ενώ δεν έχει διαπιστωθεί η παραγωγή ερυθρογόνου τοξίνης από β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους άλλων ομάδων.

2) Στρεπτολυσίνες (αιμολυσίνες). Οι αιμολυσίνες που παράγει ο στρεπτόκοκκος καλούνται και **στρεπτολυσίνες**. Οι στρεπτολυσίνες είναι δύο, η στρεπτολυσίνη-Ο και η στρεπτολυσίνη-S.

Η στρεπτολυσίνη-Ο είναι ευαίσθητη στο οξυγόνο, έχει αντιγονική ικανότητα και παράγεται από τα περισσότερα στελέχη των β-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων της ομάδας Α. Προκαλεί αιμόλυση μόνο κάτω από αναερόβιες συνθήκες καλλιέργειας.

Τα άτομα που βρίσκονται στο στάδιο της αναρρώσεως από στρεπτοκοκκική λοιμωξή έχουν στον ορό του αίματος αυξημένο τίτλο αντισωμάτων εναντίον της στρεπτολυσίνης Ο. Τα αντισώματα αυτά καλούνται **αντιστρεπτολυσίνες-Ο** (Antistreptolysin-O ή AST-O) και η αναζήτηση τους προσφέρει μεγάλη βοήθεια στη διαπίστωση μιας πρόσφατης η προγενέστερης στρεπτοκοκκικής λοιμώξεως.

Η στρεπτολυσίνη-S δεν είναι ευαίσθητη στο οξυγόνο, δεν έχει αντιγονική ικανότητα και είναι υπεύθυνη για την αιμόλυση που παρατηρείται στο αιματούχο άγαρ, όταν η καλλιέργεια γίνεται σε αερόβιες συνθήκες.

Οι στρεπτολυσίνες-Ο και-S προκαλούν ελευθέρωση ενζύμων από τα λυσοσώματα των ουδετεροφίλων. Τα ένζυμα αυτά δρουν στο κυτταρόπλασμα των ουδετεροφίλων και προκαλούν τη νέκρωσή τους.

Η ονομασία στρεπτολυσίνη-Ο οφείλεται στο γεγονός ότι είναι ευαίσθητη στο οξυγόνο (Οxygen, O), ενώ η ονομασία στρεπτολυσίνη-S οφείλεται στο ότι παραλαμβάνεται από τα κύτταρα του μικροβίου, όταν χρησιμοποιηθεί ορός (ορός = serum, S).

3) Υαλουρονιδάση. Δρα όπως και η υαλουρονιδάση του σταφυλοκόκκου.

4) Δεοξυριβονουκλεάσες. Έχουν περιγραφεί 4 αντιγονικοί τύποι δεοξυριβονουκλεάσης.

ε) Παθογόνος δράση.

Η συχνότερη νόσος από τους β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους της ομάδας Α είναι η στρεπτοκοκκική αμυγδαλίτιδα. Η φλεγμονή δεν μένει περιορισμένη στις αμυγδαλές, αλλά επεκτείνεται και στα άλλα λεμφικά όργανα της φαρυγγικής κοιλότητας.

Σε ορισμένες περιπτώσεις η στρεπτοκοκκική αμυγδαλίτιδα συνοδεύεται από την εμφάνιση εξανθήματος κυρίως στον κορμό. Το εξάνθημα οφείλεται στην ερυθρογόνο τοξίνη του στρεπτοκόκκου και η ασθένεια ονομάζεται **οστρακιά**.

Πριν από την εισαγωγή των αντιβιοτικών, η στρεπτοκοκκική αμυγδαλίτιδα είχε σοβαρές επιπλοκές, που σήμερα παρατηρούνται σε σχετικά μικρό αριθμό περιπτώσεων. Τέτοιες επιπλοκές είναι οι ακόλουθες: περιαμυγδαλικό απόστημα, μαστοειδίτιδα, μέση ατίτιδα, μηνιγγίτιδα και ενδοκαρδίτιδα.

Μετά τον τοκετό ο στρεπτόκοκκος μπορεί να προκαλέσει επιλόχειο πυρετό.

Πρόκειται για λοίμωξη του ενδομητρίου (ενδομητρίτιδα), που αρκετά συχνά ακολουθεί σηψαιμία που καταλήγει στο θάνατο σε 24 ως 48 ώρες. Ο επιλόχειος πυρετός έχει περιορισθεί σημαντικά σήμερα με τις σύγχρονες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στη μαιευτική.

Άλλα νοσήματα από το στρεπτόκοκκο είναι η κυτταρίτιδα, η λεμφαγγείτιδα και το ερυσίπελας (διάχυτη έρυθρότητα του δέρματος με οίδημα που επεκτείνεται στό υγιές δέρμα).

Μετά την υποδρομή μιας στρεπτοκοκκικής λοιμώξεως είναι δυνατό να εμφανισθούν δυο πολύ σοβαρά νοσήματα, η **οξεία σπειραματονεφρίτιδα** και ο **ρευματικός πυρετός**.

1) Οξεία σπειραματονεφρίτιδα.

Οξεία σπειραματονεφρίτιδα εμφανίζεται μετά από 10 περίπου ημέρες σε άτομα που έχουν νοσήσει από στρεπτοκοκκική αμυγδαλίτιδα. Η νόσος εμφανίζεται κυρίως σε εκείνα τα άτομα, που η στρεπτοκοκκική λοίμωξη οφειλόταν σε β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο ομάδας A και ορολογικού τύπου 12. Ένα μικρό ποσοστό περιπτώσεων της νόσου εμφανίζεται και μετά από λοίμωξη με στρεπτόκοκκους των τύπων 1, 4, 18, 25 και 49. Η συχνότητα της εμφανίσεως σπειραματονεφρίτιδας σε άτομα που έχουν νοσήσει με στρεπτόκοκκο τύπου 12 κυμαίνεται από 2% ως 13%.

Ο μηχανισμός με τον οποίο αναπτύσσεται η μεταστρεπτοκοκκική σπειραματονεφρίτιδα δεν είναι γνωστός. Πιστεύεται ότι ίσως η νόσος οφείλεται στην εναπόθεση συμπλεγμάτων στρεπτοκοκκικών αντιγόνων και αντισωμάτων στη βασική μεμβράνη του αγγειώδους σπειράματος του νεφρικού σωματίου.

2) Ρευματικός πυρετός.

Τα κύρια χαρακτηριστικά του ρευματικού πυρετού είναι: πυρετός, αρθραλγίες και καρδίτιδα (προσβάλλονται όλες οι στιβάδες της καρδιάς, δηλ. το ενδοκάρδιο, το μυοκάρδιο και το περικάρδιο). Η νόσος αρχίζει 2 - 3 εβδομάδες μετά από την εμφάνιση στρεπτοκοκκικής αμυγδαλίτιδας.

Η νόσος δεν συνδέεται με κάποιο συγκεκριμένο ορολογικό τύπο β-αιμολυτικού στρεπτοκόκκου ομάδας A. Η συχνότητα της εμφανίσεως ρευματικού πυρετού για πρώτη φορά σε άτομα που έχουν νοσήσει από στρεπτοκοκκική αμυγδαλίτιδα κυμαίνεται από 0,3% ως 3%. Η συχνότητα αυτή αυξάνει σημαντικά σε άτομα που έχουν προσβληθεί από τη νόσο και άλλη φορά στο παρελθόν και εμφανίζουν νέα στρεπτοκοκκική λοίμωξη. Επίσης η συχνότητα των νέων προσβολών ρευματικού πυρετού αυξάνεται ανάλογα με τον τίτλο των αντισωμάτων εναντίον της στρεπτολυσίνης-O, (AST-O) στον ορό του αίματος των ασθενών.

Ο μηχανισμός με τον οποίο αναπτύσσεται ο ρευματικός πυρετός δεν είναι γνωστός με ακρίβεια. Γεγονάς είναι ότι οι μεμβράνες των στρεπτοκόκκων της ομάδας A έχουν κοινά αντιγόνα με την καρδιά και ο πολυσακχαρίτης των στρεπτοκόκκων της ομάδας A έχει κοινά αντιγόνα με ορισμένες γλυκοπρωτεΐνες των βαλβίδων της καρδιάς. Αυτά τα δύο γεγονότα ενισχύουν την άπωψη ότι ο ρευματικός πυρετός οφείλεται σε ανοσολογικό μηχανισμό.

στ) Μικροβιολογική διάγνωση.

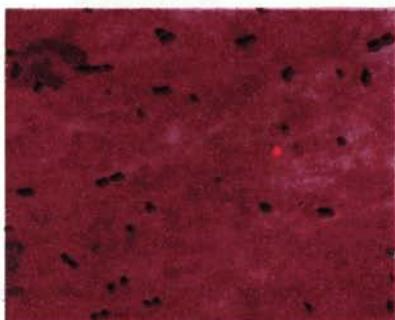
Η εργαστηριακή διάγνωση των λοιμώξεων από β-αιμολυτικό στρεπτόκοκκο της ομάδας A γίνεται με το ακόλουθο σχήμα:

- 1) Το ύποπτο υλικό καλλιέργειται σε αιματούχο άγαρ.
- 2) Γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram από τις αποικίες που περιβάλλονται από διαυγή ζώνη αιμολύσεως.
- 3) Ελέγχεται η ευαισθησία των αποικιών στη βακιτρασίνη. Μόνο β-αιμολυτικοί στρεπτόκοκκοι της ομάδας A είναι ευαίσθητοι στη βακιτρασίνη.
- 4) Αν υπάρχει δυνατότητα γίνεται ορολογική τυποποίηση κατά Lancefield.

4.3 *Streptococcus pneumoniae* (Πνευμονιόκοκκος).

α) Μορφολογία και χρώση.

Ο πνευμονιόκοκκος είναι Gram - θετικός κόκκος που έχει σχήμα λογχοειδές και τα κύτταρα του διατάσσονται σε ζεύγη (διπλόκοκκος) ή σχηματίζουν μικρές αλυσίδες (σχ. 4.3α).



Ⓐ

Ⓑ

Σχ. 4.3α.

Άμεσο παρασκεύασμα *S. pneumoniae* από πτύελα (α) και παρασκεύασμα από μία αποικία σε αιματούχο άγαρ (β).

β) Καλλιέργεια.

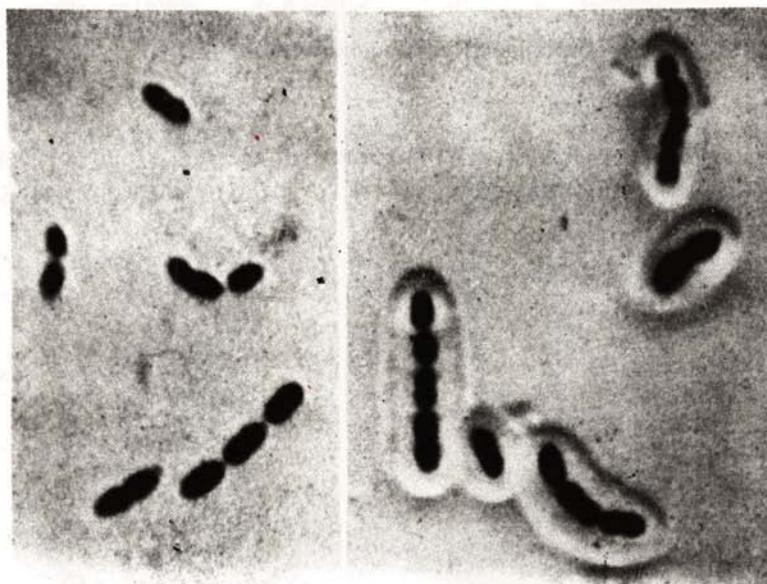
Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες. Η καλλιέργειά του γίνεται σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά που περιέχουν αίμα. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37°C .

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

Ο πνευμονιόκοκκος έχει **έλυτρο** πολυσακχαριδικής φύσεως, που τον προστατεύει από τη φαγοκυττάρωση και έτσι αυξάνει τη λοιμογόνο του δύναμη. Με βάση

την αντιγονική σύσταση του ελύτρου ο πνευμονιόκοκκος διακρίνεται σε 84 υρολογικούς τύπους.

Σήμερα υπάρχουν στο εμπόριο οροί, που περιέχουν αντισώματα ειδικά για τον κάθε αντιγονικό τύπο ελύτρου. Η ανεύρεση του ορολογικού τύπου ενός στελέχους πνευμονιοκόκκου γίνεται με τη **δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου**. Όταν αναμιχθεί ένα στέλεχος πνευμονιοκόκκου με τον ομόλογο ορό, παρατηρείται διόγκωση του ελύτρου κατά τη μικροσκόπηση. Αν το στέλεχος αναμιχθεί με ορό που έχει αντισώματα για άλλο αντιγονικό τύπο ελύτρου, δεν παρατηρείται διόγκωση (σχ. 4.3β).



Σχ. 4.3β.

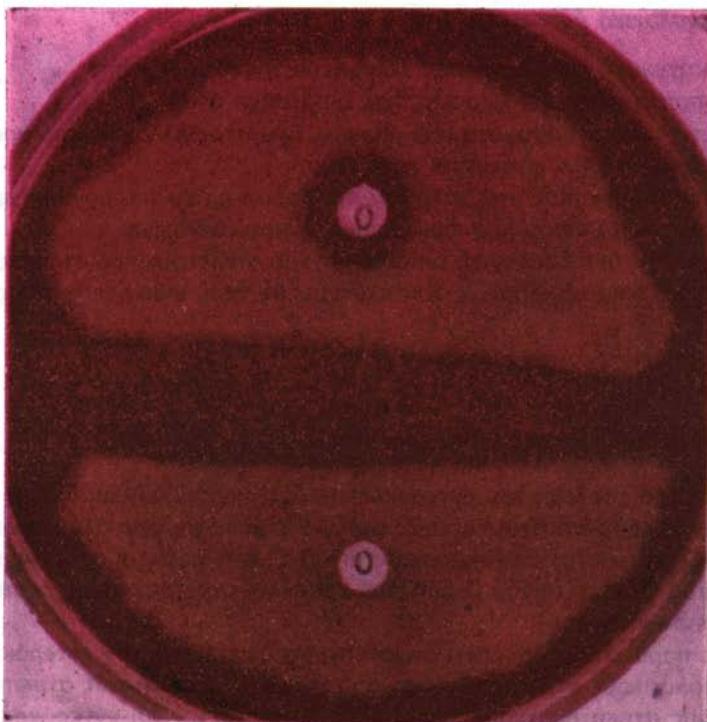
Στέλεχος *S. pneumoniae* που έχει αντιδράσει με τον ομόλογο ορό με αποτέλεσμα την εξοίδηση του ελύτρου.

— Η ανάπτυξη του αναστέλλεται από την **οπποχίνη**. Η οπποχίνη είναι συνθετικό απολυμαντικό και φέρεται στο εμπόριο με τη μορφή δισκίων διηθητικού χαρτιού που έχουν εμποτισθεί με διάλυμα της ουσίας. Οι πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι είναι ανθεκτικοί στην οπποχίνη και η δοκιμασία αποτελεί χρήσιμη μέθοδο για να διαπιστωθεί γρήγορα και με ακρίβεια αν ένας α-άιμολυτικός στρεπτόκοκκος είναι πνευμονιόκοκκος η πρασινίζων στρεπτόκοκκος (σχ. 4.3γ).

— Άλλη χαρακτηριστική ιδιότητα του πνευμονιοκόκκου είναι η λύση των κυττάρων του, όταν προστεθούν χολή ή χολικά άλατα (**δοκιμασία χολής**). Οι πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι δεν κυτταρολύνονται από την προσθήκη χολής.

δ) Τοξικές ουσίες.

1) **Πνευμονολυσίνη.** Προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων και μοιάζει αντιγονικά με τη στρεπτολυσίνη-Ο.



Σχ. 4.3γ.

Δοκιμασία οπποχίνης με στέλεχος *S. pneumoniae* (επάνω) και *S. viridans* (κάτω). Γύρω από το δίσκο της οπποχίνης δεν παρατηρείται ανάπτυξη του *S. pneumoniae*, σε αντίθεση με το στέλεχος *S. viridans* το οποίο είναι ανθεκτικό στην οπποχίνη και αναπτύσσεται γύρω από το δίσκο.

2) **Πορφυρογόνος τοξίνη.** Παράγεται κατά τη λύση των κυττάρων, και οταν ενεθεί σε κουνέλια προκαλεί ερυθρότητα στο δέρμα και εσωτερική αιμορραγία.

ε) Παθογόνος δράση.

Ο πνευμονιόκοκκος αποτελεί το κύριο αίτιο της οξείας λοβώδους πνευμονίας. Από τον πνεύμονα το μικρόβιο είναι δυνατόν να έλθει στην κυκλοφορία (μικροβιαιμία), να εγκατασταθεί σε άλλα όργανα και να προκαλέσει μηνιγγίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, αρθρίτιδα και περιτονίτιδα. Από τους 84 ορολογικούς τύπους πνευμονιοκόκκων οι τύποι 1, 7, 8, 4, 3 και 12 προκαλούν το 60% των περιπτώσεων λοβώδους πνευμονίας. Λοιμώχεις από τον τύπο 1 εμφανίζουν θνητότητα 3%, ενώ η θνητότητα είναι 22% σε λοιμώχεις από τον τύπο 3. Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι ο τύπος 3 παράγει το μεγαλύτερο έλυτρο από όλους τους τύπους.

Άλλες λοιμώχεις από πνευμονιόκοκκο είναι η παραρρινική κολπίτιδα, η μέση ωτίτιδα και η μαστοειδίτιδα.

στ) Μικροβιολογική διάγνωση.

Η εργαστηριακή διάγνωση των λοιμώξεων γίνεται ως εξής:

- 1) Το ύποπτο υλικό καλλιεργείται σε αιματούχο άγαρ.
- 2) Γίνονται παρασκευάσματα από αποικίες που περιβάλλονται από πράσινη ζώνη αιμολύσεως και χρωματίζονται κατά Gram.
- 3) Γίνεται η δοκιμασία της χολής με τις αποικίες που απομονώθηκαν.
- 4) Ελέγχεται η ευαισθησία των αποικιών στην οποχίνη.
- 5) Αν χρειάζεται η ορολογική τυποποίηση του στελέχους που έχει απομονωθεί, γίνεται η δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου με τους ειδικούς αντιορούς.

4.4 Streptococcus faecalis (Εντερόκοκκος).

Τα πιο πολλά στελέχη του εντεροκόκκου δεν εμφανίζουν αιμόλυση στο αιματούχο άγαρ. Ορισμένα στελέχη προκαλούν β-αιμόλυση, ενώ άλλα προκαλούν αιμόλυση. Οι εντερόκοκκοι τυποποιούνται κατά Lancefield και ανήκουν στην ορολογική ομάδα D. Στην ομάδα D ανήκουν και άλλοι στρεπτόκοκκοι, οι οποίοι όμως δεν είναι εντερόκοκκοι.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι πρέπει να διακρίνομε τον εντερόκοκκο: από τους β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους, από τους α - αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους και από τους στρεπτόκοκκους της ομάδας D που δεν είναι εντερόκοκκοι.

Χαρακτηριστική ιδιότητα όλων των στρεπτοκόκκων της ομάδας D είναι η υδρόλυση της αισκουλίνης σε υλικό που περιέχει χολή. Οι στρεπτόκοκκοι των άλλων ομάδων δεν έχουν αυτή την ιδιότητα.

Η διάκριση μεταξύ εντεροκόκκων και των άλλων στρεπτοκόκκων της ομάδας D γίνεται με τη δοκιμασία αναπτύξεως σε υλικό που περιέχει 6,5% NaCl. Μόνο οι εντερόκοκκοι αναπτύσσονται σε αυτή τη μεγάλη συγκέντρωση NaCl, ενώ δεν αναπτύσσονται οι άλλοι στρεπτόκοκκοι της ομάδας D.

Σε περίπτωση που ένα στέλεχος εντεροκόκκου παράγει β-αιμόλυση διαχωρίζεται από τους β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους ομάδας A με τη δοκιμασία της ευαισθησίας στη βακτηρασίνη (ο εντερόκοκκος είναι ανθεκτικός, οι στρεπτόκοκκοι της ομάδας A είναι ευαίσθητοι).

Αν ένα στέλεχος εντεροκόκκου παράγει α-αιμόλυση, διαχωρίζεται από τους πρασινίζοντες στρεπτόκοκκους με τη δοκιμασία της υδρολύσεως της αισκουλίνης σε υλικό που περιέχει χολή (ο εντερόκοκκος υδρολύει την αισκουλίνη, οι πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι δεν την υδρολύουν), ενώ από τον πνευμονιόκοκκο διαχωρίζεται με τη δοκιμασία της ευαισθησίας στην οποχίνη (ο εντερόκοκκος είναι ανθεκτικός, ο πνευμονιόκοκκος είναι ευαίσθητος).

Τέλος, αν ένα στέλεχος στρεπτοκόκκου δεν παράγει αιμόλυση, χαρακτηρίζεται σαν εντερόκοκκος με τη δοκιμασία της υδρολύσεως της αισκουλίνης σε υλικό που περιέχει χολή και με τη δοκιμασία αναπτύξεως σε υλικό που περιέχει 6,5% NaCl.

Στον πίνακα 4.4.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες με τις οποίες διαχωρίζομε τους β-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους, που απαντούν συχνότερα στο κλινικό εργαστήριο. Τέτοιοι στρεπτόκοκκοι είναι ο Str. pyogenes και ορισμένα στελέχη Str. faecalis.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4.1.**Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των β-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων.**

	Ευαισθησία στη Βακιτρασίνη	Υδρόλυση αισκουλίνης σε υλικό με χολή	Ανάπτυξη σε υλικό με 6,5% NaCl	Ορολογική ομάδα
Str. pyogenes	+	-	-	A
Str. faecalis	-	+	+	D

Στον πίνακα 4.4.2 αναφέρονται οι δοκιμασίες, με τις οποίες διαχωρίζομε τους α-αιμολυτικούς στρεπτόκοκκους. Αποικίες με α-αιμόλυση παράγουν ο Str. pneumoniae, οι πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι και ορισμένα στελέχη Str. faecalis.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4.2.**Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των α-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων.**

	Ευαισθησία στην οποχίνη	Δοκιμασία χολής	Υδρόλυση αισκουλίνης σε υλικό με χολή	Ανάπτυξη σε υλικό με 6,5% NaCl	Ορολογική ομάδα
Str. pneumoniae	+	+	-	-	-
Πρασινίζοντες στρεπτόκοκκοι	-	-	-	-	-
Str. faecalis	-	-	+	+	D

Τέλος, στον πίνακα 4.4.3 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό των στρεπτοκόκκων της ομάδας D, δηλαδή του Str. faecalis και των άλλων στρεπτοκόκκων της ίδιας ομάδας, οι οποίοι δεν είναι Str. faecalis.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4.3.**Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των στρεπτοκόκκων της ορολογικής ομάδας D.**

	Αιμόλυση	Υδρόλυση αισκουλίνης σε υλικό με χολή	Ανάπτυξη σε υλικό με 6,5% NaCl
Ομάδα D Str. faecalis	α,β καρμία	+	+
Ομάδα D άλλοι στρεπτόκοκκοι	α, καρμία	+	-

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΝΑΪΣΣΕΡΙΕΣ

5.1 Γενικά.

Το γένος *Neisseria* ανήκει στην οικογένεια των *Neisseriaceae* και περιλαμβάνει διάφορα είδη, δύο από τα οποία είναι παθογόνα για τον άνθρωπο, η *N. meningitidis* και η *N. gonorrhoeae*.

5.2 *Neisseria meningitidis* (Μηνιγγιτιδόκοκκος).

α) Μορφολογία και χρώση.

Ο Μηνιγγιτιδόκοκκος είναι Gram - αρνητικός κόκκος. Τα κύτταρά του έχουν σχήμα νεφροειδές ή σπέρματος καφέ, διατάσσονται σε ζεύγη (διπλόκοκκος) και η κοίλη επιφάνεια του ενός κυττάρου είναι στραμμένη προς την κοίλη επιφάνεια του άλλου κυττάρου του ζεύγους.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες. Η ανάπτυξη του ευνοείται από την παρουσία 10% CO₂. Η καλλιέργεια του γίνεται σε αιματούχο ή σοκολατόχροο άγαρ (αιματούχο άγαρ που έχει βρασθεί για λίγα δευτερόλεπτα). Άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως οι 36° ως 37°C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Παράγει καταλάση.
- Παράγει οξειδάση, ένα οξειδωτικό ένζυμο που δρα σε ορισμένες αρωματικές αμίνες και παράγονται χρωστικά παράγωγα.
- Διασπά τη γλυκόζη και τη μαλτόζη χωρίς παραγωγή αερίου.
- Δεν αναπτύσσεται στους 22°C όπως άλλα είδη σαπροφυτικών Ναϊσσεριών.
- Διακρίνεται σε τέσσερεις ορολογικές ομάδες (A, B, C και D) με βάση το πολυσακχαριδικό αντιγόνο του ελύτρου, τό οποίο απαντά στις ομάδες A και C, ή τις πολυσακχαριδικές-πολυπεπτιδικές απτίνες της επιφάνειας των κυττάρων, οι οποίες απαντούν στην ομάδα B, για την οποία δεν έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη ελύτρου. Η ορολογική τυποποίηση των στελεχών γίνεται με τη δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου (για τις ομάδες A και C) ή με συγκολλητινοαντίδραση (για όλες τις ομάδες).

δ) Παθογόνος δράση.

Ο μηνιγγιτιδόκοκκος βρίσκεται στο ρινοφάρυγγα υγιών μικροβιοφόρων σε α-

ναλογία 5% ως 30%. Σε ορισμένες περιπτώσεις το μικρόβιο έρχεται από το ρινοφάρυγγα στο αίμα (μικροβιαιμία), φέρεται στις μήνιγγες και προκαλεί μηνιγγίτιδα. Η μηνιγγίτιδα από μηνιγγιτιδόκοκκο εμφανίζεται με τη μορφή επιδημιών (επιδημική εγκεφαλονωτιαία μηνιγγίτιδα) ή με τη μορφή σποραδικών κρουσμάτων.

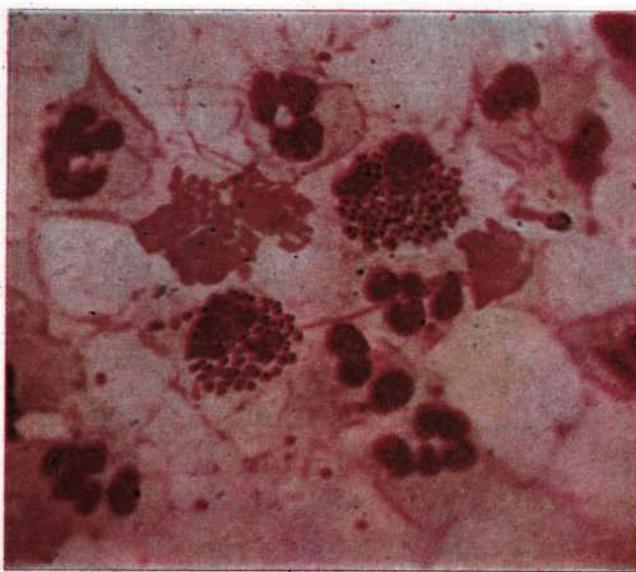
Σπανιότερα τα μικρόβια φέρονται με το αίμα στα επινεφρίδια: Η προσβολή των επινεφρίδιων χαρακτηρίζεται από μεγάλη πτώση της πιέσεως και αιμορραγική νέκρωση των επινεφρίδιων.

Χαρακτηριστικό της μικροβιαιμίας από μηνιγγιτιδόκοκκο είναι η εμφάνιση πετεχειώδους εξανθήματος (μικρές αιμορραγίες στο δέρμα) στο σώμα του ασθενή.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Για την εργαστηριακή διάγνωση της μηνιγγιτιδοκοκκικής μηνιγγίτιδας εξετάζεται το εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

1) Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό φυγοκεντρείται και από το ίζημα γίνεται παρασκεύασμα που χρωματίζομε κατά Gram και μικροσκοπείται. Αν βρεθούν τυπικοί Gram-αρνητικοί καφεοειδείς διπλόκοκκοι εξωκυττάριοι και ενδοκυττάριοι (μέσα σε ουδετερόφιλα πολυμορφοπύρηνα), η εξέταση αυτή αρκεί για να χαρακτηρισθεί το μικρόβιο σαν μηνιγγιτιδόκοκκος (σχ. 5.2).



Σχ. 5.2.

Άμεσο παρασκεύασμα εγκεφαλονωτιαίου υγρού από ασθενή με επιδημική εγκεφαλονωτιαία μηνιγγίτιδα.

Παρατηρήσατε τους Gram-αρνητικούς ενδοκυττάριους και εξωκυττάριους διπλόκοκκους.

2) Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό καλλιεργείται οε σοκολατόχρωμο άγαρ σε ατμόσφαιρα CO_2 10% και σε θερμοκρασία 37°C για 18 ως 24 ώρες. Από τις αποικίες που θα αναπτυχθούν γίνονται παρασκευάσματα, χρωματίζονται κατά Gram και μικροσκοπούνται.

3) Οι αποικίες ελέγχονται για την παραγωγή οξειδάσης, για τη διάσπαση διαφόρων σακχάρων και την ικανότητα αναπτύξεως στους 22°C.

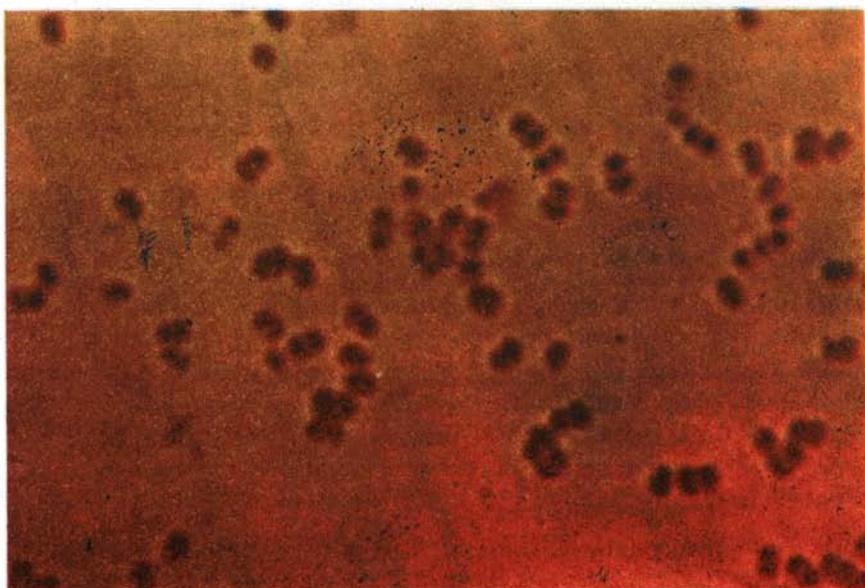
4) Προσδιορίζεται η ορολογική ομάδα στην οποία ανήκει ο μηνιγγιτιδόκοκκος που έχει απομονωθεί. Η ορολογική τυποποίηση γίνεται με τη δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου (ομάδες A και C) ή με συγκολλητινοαντίδραση (όλες οι ομάδες).

Σημείωση. Το Εργαστήριο πρέπει να δώσει πολύ γρήγορα απάντηση στην κλινική με βάση τα αποτέλεσματα της μικροσκοπικής εξετάσεως των παρασκευασμάτων του εγκεφαλονωτιαίου υγρού (εξέταση 1) για να αρχίσει αμέσως η θεραπεία της νόσου, η οποία είναι βαρύτατη και κάθε καθυστέρηση μπορεί να είναι μοιραία για τον ασθενή.

5.3 *Neisseria gonorrhoeae* (Γονόκοκκος).

α) Μορφολογία και χρώση.

Ο γονόκοκκος είναι Gram-αρνητικός κόκκος. Τα κύτταρα του έχουν σχήμα σπέρματος καφέ και διατάσσονται σε ζεύγη (διπλόκοκκος) με την κοίλη επιφάνεια του ενός κυττάρου στραμμένη προς την κοίλη επιφάνεια του άλλου κυττάρου του ζεύγους (σχ. 5.3α).



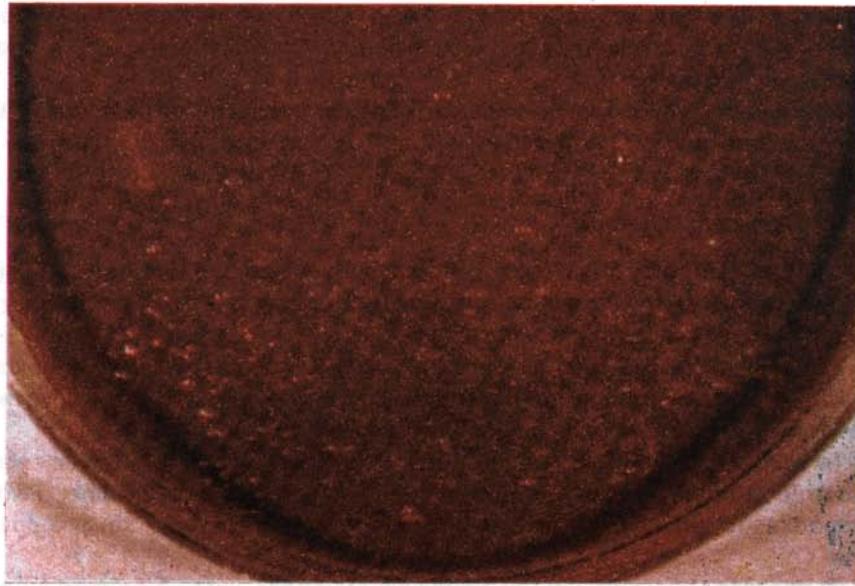
Σχ. 5.3α.

Παρασκεύασμα Γονοκόκκου από μία αποικία σε αιματουχό άγαρ.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες. Η ανάπτυξή του ευνοείται από την παρουσία 10% CO₂. Η καλλιέργεια του γίνεται σε αιματούχο, σοκολατόχρωο άγαρ ή στο υλικό Thayer-Martin (πρόκειται για σοκολατόχρωο άγαρ, στο οποίο ε-

χουν προστεθεί τα αντιβιοτικά Vancomycin, Colistin και Nystatin). Στο υλικό αυτό δεν αναπτύσσονται ο *S. epidermidis* και οι σαπροφυτικές Ναϊσσέριες. Άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως 36° ως 37°C (σχ. 5.3β).



Σχ. 5.3β.

Αποικίες Γονοκόκκου σε σοκολατόχροο άγαρ.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Παράγει καταλάση.
- Παράγει οξειδάση.
- Διασπά μόνο τη γλυκόζη χωρίς παραγωγή αερίου. Η μελέτη της διασπάσεως των σακχάρων από τις Ναϊσσέριες γίνεται σε στερεό ή ημίρρευστο θρεπτικό υλικό που περιέχει ορό αίματος ανθρώπου ή κουνελιού.
- Δεν αναπτύσσεται στους 22°C.

δ) Παθογόνος δράση.

Ο γονόκοκκος είναι το αίτιο της γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας (βλενόρροια), ενός από τα αφροδίσια νοσήματα. Από την ουρήθρα η φλεγμονή μπορεί να επεκταθεί και να προκαλέσει στους άνδρες επιδιδυμίτιδα, ορχίτιδα και προστατίτιδα και στις γυναίκες τραχηλίτιδα, ενδομητρίτιδα, σαλπιγγίτιδα και σε σπάνιες περιπτώσεις περιτονίτιδα.

Ασθενείς που μένουν χωρίς θεραπεία, δυνατό να εμφανίσουν 1 ως 4 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη αρθρίτιδα (1,5% ως 2,5%) που αφορά κυρίως την άρθρωση του καρπού, του γόνατος και την ποδοκνημική άρθρωση. Σε σπάνιες περιπτώσεις

εμφανίζεται ενδοκαρδίτιδα και μηνιγγίτιδα. Η μεταφορά του μικροβίου στις παραπάνω περιοχές γίνεται με το αίμα (γονοκοκκική μικροβιαιμία).

Στα μικρά κορτίσια ο γονόκοκκος προκαλεί αιδοιοκολπίτιδα. Η νόσος μεταδίδεται μετά από συνουσία.

Στα νεογνά ο γονόκοκκος προκαλεί επιπεφυκίτιδα. Η μόλυνση των νεογνών γίνεται κατά τη γέννηση από τη μητέρα, η οποία πάσχει από τη νόσο. Η φλεγμονή του επιπεφυκότα επεκτείνεται στον κερατοειδή και προκαλεί εξέλκωση, η οποία καταλήγει σε τύφλωση.

Η πρόληψη της γονοκοκκικής επιπεφυκίτιδας επιτυγχάνεται αν γίνει ενστάλλαξη σταγόνων διαλύματος 1% AgNO_3 η πενικιλίνης στα μάτια των νεογεννήτων αμέσως μετά τον τοκετό.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Η εργαστηριακή διάγνωση της γονοκοκκικής ουρηθρίτιδας γίνεται με την εξέταση του εκκρίματος της ουρήθρας στους άνδρες και την εξέταση του εκκρίματος της ουρήθρας ή του τραχήλου στις γυναίκες.

1) Το έκκριμα επιστρώνεται σε αντικειμενόφόρο πλάκα και χρωματίζεται κατά Gram. Σε περίπτωση θετικού αποτελέσματος, παρατηρούνται Gram - αρνητικοί διπλόκοκκοι ενδοκυττάριοι και ορισμένοι εξωκυττάριοι.

2) Το έκκριμα καλλιεργείται σε σοκολατόχρωμο άγαρ ή στο υλικό Thayer - Martin, σε ατμόσφαιρα CO_2 10% και σε θερμοκρασία 37°C επί 18 ως 24 ώρες. Γίνονται παρασκευάσματα από τις αποικίες, χρωματίζονται κατά Gram και μικροσκοπούνται.

3) Οι αποικίες ελέγχονται για την παραγωγή οξειδάσης, για τη διάσπαση διαφόρων σακχάρων και την ανάπτυξη στους 22°C .

Στον πίνακα 5.3.1 αναφέρονται τα διάφορα είδη Ναϊσσεριών που απομονώνονται από τον άνθρωπο και οι δοκιμασίες με τις οποίες διαχωρίζονται.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.3.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των διαφόρων ειδών Ναϊσσεριών οι οποίες απομονώνονται από τον άνθρωπο.

Είδος	Ανάπτυξη σε κοινά θρεπτικά υλικά	Ανάπτυξη στους 22°	Παραγωγή οξείος από				
			Γλυκόζη	Μαλτόζη	Σουκρόζη	Λακτόζη	Φρουκτόζη
N. gonorrhoeae	—	—	+	—	—	—	—
N. meningitidis	—	—	+	+	—	—	—
N. lactamica	+	—	+	+	—	+	—
N. sicca	+	+	+	+	+	—	+
N. subflava	+	+	+	+	δ	—	δ
N. mucosa	+	+	+	+	+	—	+
N. flavaescens	+	+	—	—	—	—	—
N. catarrhalis	+	+	—	—	—	—	—

δ = άλλα στελέχη + και άλλα στελέχη —

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

ΒΡΟΥΚΕΛΛΕΣ

6.1 Γενικά.

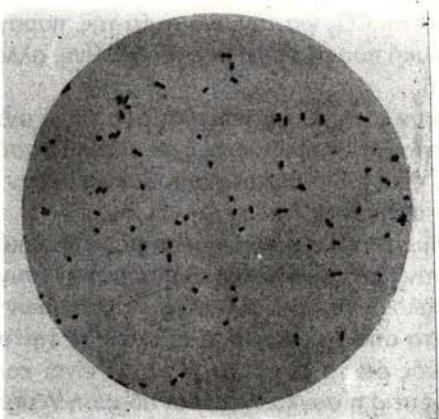
Το γένος *Brucella* περιλαμβάνει τρία είδη: τη *B. abortus*, τη *B. melitensis* και τη *B. suis*. Οι βρουκέλλες προκαλούν στα θηλαστικά ζώα τις λεγόμενες **βρουκελώσεις**, ασθένειες που εμφανίζονται με επιδημική μορφή και συνοδεύονται από αυτόματες εκτρώσεις.

Η *B. melitensis* είναι παθογόνος κυρίως για τις αίγες και τα πρόβατα, η *B. abortus* για τις αγελάδες και η *B. suis* για τους χοίρους. Στα ζώα αυτά οι βρουκέλλες βρίσκονται σε πολύ μεγάλους αριθμούς στον πλακούντα και τους γαλακτοφόρους αδένες. Ο μεγάλος αριθμός βρουκελών στον πλακούντα των ζώων εξηγείται από την παρουσία μιας αλκοόλης, της **ερυθριτόλης**, η οποία έχει βρεθεί ότι ευνοεί την ανάπτυξη και των τριών ειδών βρουκελών. Ερυθριτόλη δεν έχει ανιχνευθεί στον πλακούντα των γυναικών.

Οι βρουκέλλωσεις είναι ζωνόσοι, που μεταδίδονται στον άνθρωπο με το άβραστο γάλα και τα γαλακτοκομικά προϊόντα, μετά από λύση της συνέχειας του δέρματος σε άτομα που έρχονται σε επαφή με τα ζώα (κτηνοτρόφοι, σφαγείς, κτηνίατροι κλπ) ή, σπανιότερα, μετά από εισπνοή κονιορτού που είναι μολυσμένος με τα μικρόβια.

a) Μορφολογία και χρώση.

Οι βρουκέλλες είναι Gram-αρνητικά μικρά κοκκοβακτηρίδια τα οποία διατάσσονται μεμονωμένα, σε ζεύγη ή σπανιότερα σε μικρές αλυσίδες (σχ. 6.1).



Σχ. 6.1a.

Παρασκεύασμα *B. abortus* από μία αποικία σε αιματούχο άγαρ.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες. Η παρουσία CO_2 ευνοεί την ανάπτυξη τους. Η *B. abortus* δεν αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες, αλλά χρειάζεται οπωσδήποτε την παρουσία CO_2 10% για να αναπτυχθεί. Η καλλιέργεια τους γίνεται σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά, τα οποία περιέχουν λευκωματούχες ουσίες ζωικής ή φυτικής προελεύσεως που έχουν κατεργασθεί με πεπτικά ένζυμα (*Trypticase soy* άγαρ ή ζωμός, *Tryptone soy* άγαρ ή ζωμός κλπ). Συνήθως αναπτύσσονται μετά 4 ως 5 ημέρες ή και αργότερα. Αρνητική απάντηση για την ανάπτυξη βρουκελών δίνεται μόνον, όταν τα θρεπτικά υλικά έχουν επωασθεί επί 21 τουλάχιστον ημέρες. Άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως είναι οι 37°C .

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Παράγουν καταλάση.
- Παράγουν οξειδάση.
- Ο διαχωρισμός των βρουκελών σε είδη γίνεται με τα εξής τέσσερα κριτήρια:
 - a) Αν είναι απαραίτητη η παρουσία CO_2 για την ανάπτυξη τους.
 - β) Αν αναπτύσσονται σε θρεπτικό υλικό, στο οποίο έχει προστεθεί η χρωστική βασική φουξίνη σε αναλογία 1:100 000.
 - γ) Αν αναπτύσσονται σε θρεπτικό υλικό, στο οποίο έχει προστεθεί η χρωστική θειονίνη σε αναλογία 1:100 000 και
 - δ) αν παράγουν H_2S .

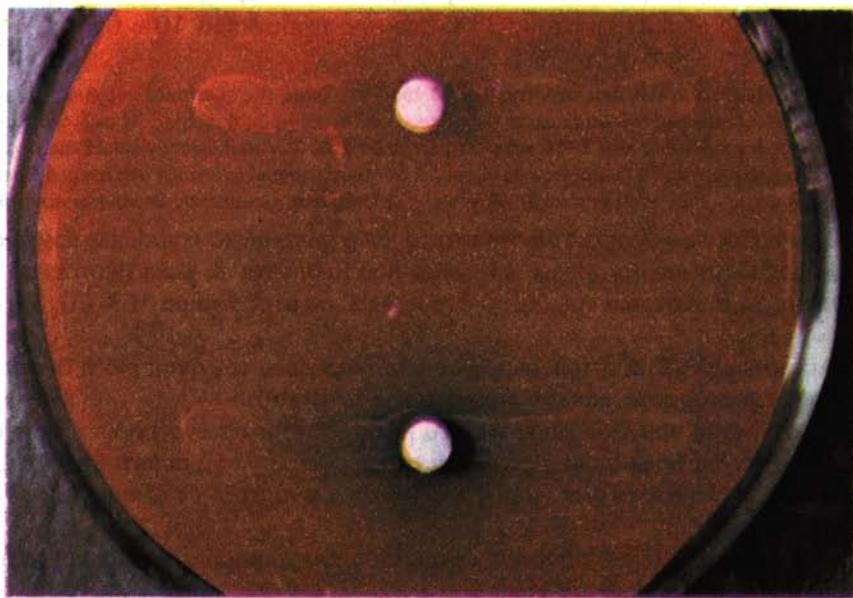
Η *B. melitensis* δεν χρειάζεται CO_2 για την ανάπτυξη της, δεν παράγει H_2S , και αναπτύσσεται σε στερεά θρεπτικά υλικά που περιέχουν βασική φουξίνη 1:100 000 και θειονίνη 1:100 000.

Η *B. abortus* χρειάζεται απαραίτητα CO_2 για την ανάπτυξη της, παράγει μικρό ποσό H_2S , αναπτύσσεται σε υλικό που περιέχει βασική φουξίνη, αλλά δεν αναπτύσσεται σε υλικό με θειονίνη.

Η *B. suis* δεν χρειάζεται CO_2 για την ανάπτυξη της, παράγει μεγάλο ποσό H_2S , δεν αναπτύσσεται σε υλικό που περιέχει βασική φουξίνη, αλλά αναπτύσσεται σε υλικό με θειονίνη (σχ. 6).

— Οι βρουκέλλες έχουν στην επιφάνειά τους δυο κοινά αντιγόνα, το M και το A, σε διαφορετική ποσότητα. Η *B. melitensis* έχει μεγάλο ποσό αντιγόνου M και μικρό ποσό αντιγόνου A, ενώ η *B. abortus* και η *B. suis* έχουν μεγάλο ποσό αντιγόνου A και μικρό ποσό αντιγόνου M.

Η λοίμωξη ενός ατόμου ή ενός ζώου με ένα ειδος βρουκέλλας έχει σαν υποτέλεσμα την ανάπτυξη στον ορό του αίματος αντισωμάτων (συγκολλητινών). Οι συγκολλητίνες αυτές προκαλούν τη συγκόλληση των κυττάρων και των τριών ειδών βρουκελών, ανεξάρτητα από το είδος που προκάλεσε την παραγωγή τους. Αυτό έχηγείται από το γεγονός ότι τα αντιγόνα M και A είναι κοινά και στα τρία είδη βρουκελών. Κατά συνέπεια η συγκολλητινοαντίδραση Wright (βλ. βιβλίο Ανοσολογίας) μας πληροφορεί μόνο για την ύπαρξη βρουκελώσεως και όχι για το είδος της βρουκέλλας, η οποία προκάλεσε τη νόσο.



Σχ. 6.1β.

H. B. suis δεν αναπτύσσεται γύρω από δίσκο που εχει εμποτισθεί με βασική φουξίνη (επάνω), αλλά αναπτύσσεται γύρω από δίσκο που έχει εμποτισθεί με θειονίνη (κάτω).

δ) Παθογόνος δράση.

Η βρουκέλλωση είναι πιο γνωστή με το όνομα Μελιταίος πυρετός ή κυματοειδής πυρετός, όταν αίτιο είναι η *B. melitensis*. Ο χρόνος επιώσεως των βρουκελώσεων είναι μεγάλος, από εβδομάδες μέχρι μήνες. Η έναρξη της νόσου χαρακτηρίζεται από πυρετό, πονοκέφαλο, αδυναμία, μυαλγίες, αρθραλγίες και εφίδρωση. Στο οξύ στάδιο της νόσου παρατηρείται διόγκωση των λεμφαδένων, του σπλήνα και του ηπατος. Συνήθως συνυπάρχει μικροβιαιμία. Είναι δυνατόν να προσβληθούν και άλλα όργανα και να εμφανισθεί μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, νεφρίτιδα και οστεομυελίτιδα. Η θνητότητα από τη νόσο είναι πολύ μικρή. Ο θάνατος οφείλεται τις περισσότερες φορές στην προσβολή των βαλβίδων της καρδιάς.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

1) Η απομόνωση των βρουκελών γίνεται μετά από καλλιέργεια του αίματος (αιματοκαλλιέργεια) του ασθενή. Λαμβάνονται 10 ml αίματος και εμβολιάζονται σε φιάλη η οποία περιέχει 100 ml Trypticase soy ζωμό. Η φιάλη ανακινείται ελαφρά για την καλή ανάμιξη του αίματος με το ζωμό, και μετά τοποθετείται στους 37° C σε ατμόσφαιρα 10% CO₂. Η φιάλη εξετάζεται κάθε ημέρα για να διαπιστωθεί αν ο ζωμός έχει θολώσει. Η θόλωση του ζωμού οφείλεται στην ανάπτυξη μικροβίων. Αν παρατηρηθεί θόλωση λαμβάνονται 0,5 ml από το ζωμό και εμβολιά-

ζονται σε ολόκληρη την επιφάνεια ενός τρυβλίου που περιέχει Trypticase soy α-γαρ. Το τρυβλίο επωάζεται στους 37°C και σε ατμόσφαιρα 10% CO₂.

Σημείωση: Σε περίπτωση που δεν παρατηρηθεί θόλωση στο ζωμό της αιματοκαλλιέργειας, γίνονται ανακαλλιέργειες σε στερεά θρεπτικά υλικά (Trypticase soy άγαρ) κάθε 4 ημέρες. Η φιάλη της αιματοκαλλιέργειας διατηρείται στους 37°C και σε ατμόσφαιρα 10% CO₂ τουλάχιστον επί 21 ημέρες. Αν μετά από αυτό το διάστημα ο ζωμός δεν θολώσει και δεν παρατηρηθεί ανάπτυξη στα στερεά θρεπτικά υλικά στα οποία έχουν γίνει οι ανακαλλιέργειες, η καλλιέργεια του αίματος θεωρείται αρνητική.

2) Οι αποικίες που αναπτύσσονται στα τρυβλία με το υλικό Trypticase soy άγαρ, ανακαλλιεργούνται σε Trypticase soy άγαρ ίπου βρίσκεται σε λοξή θέση μέσα σε σωληνάριο. Το σωληνάριο επωάζεται στους 37°C σε ατμόσφαιρα 10% CO₂ επί 48 ώρες.

3) Άπο την καλλιέργεια του μικροβίου στο Trypticase soy άγαρ (λοξή θέση) γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

4) Τό, στέλεχος που έχει απομονωθεί, κατατάσσεται σε ένα από τα είδη της βρουκέλλας με τις δοκιμασίες που έχουν αναφερθεί, δηλαδή ανάπτυξη σε ατμόσφαιρα CO₂, ανάπτυξη σε υλικό με βασική φουξίνη, ανάπτυξη σε υλικό με θειονίνη και παραγωγή H₂S.

Στον πίνακα 6.1.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό των βρουκελλών σε είδη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1.1.
Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των βρουκελλών σε είδη.

Είδος	Ατμόσφαιρα CO ₂ (απαραίτητη)	Παραγωγή H ₂ S	Ανάπτυξη σε υλικό που περιέχει	
			Βασική φουξίνη (1:100 000)	Θειονίνη (1:100 000)
B. melitensis	-	-	+	+
B. abortus	+	+	+	-
B. suis	-	+	-	+

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

ΑΙΜΟΦΙΛΟΙ

7.1 Γενικά.

Το γένος *Haemophilus* περιλαμβάνει διάφορα είδη, που, για να αναπτυχθούν στα θρεπτικά υλικά, έχουν ανάγκη από δύο παράγοντες αναπτύξεως, το X και το V, που περιέχονται στο αίμα. Ο παράγοντας X είναι η αίμη (σύμπλεγμα πρωτοπορφυρίνης και σιδήρου) και ο παράγοντας V είναι το συνένζυμο NAD (Νικοτιναμιδοαδενινοδινουκλεοτίδιο).

Από τα δεκατέσσερα είδη αιμοφίλων που περιγράφονται, τα επτά έχουν απομνωθεί ως αίτια λοιμώξεων του ανθρώπου. Τα επτά παθογόνα είδη αιμοφίλων είναι: *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *H. haemolyticus*, *H. parahaemolyticus*, *H. aphrophilus*, *H. aegyptius* και *H. ducreyi*. Ο διαχωρισμός των ειδών γίνεται κυρίως με βάση την ανάγκη που έχουν για να αναπτυχθούν από τους παράγοντες X και V (ορισμένα είδη χρειάζονται και τους δύο παράγοντες, ενώ άλλα είδη χρειάζονται τον ένα μόνο από τους δύο παράγοντες) και την ικανότητα να προκαλούν αιμόλυση στο αιματούχο άγαρ.

Στο κεφάλαιο αυτό θα περιγράψουμε τον *H. influenzae*. Αυτός αποτελεί και το συχνότερο αίτιο λοιμώξεων που οφείλονται στους αιμόφιλους.

7.2 *Haemophilus influenzae*.

α) Μορφολογία και χρώση.

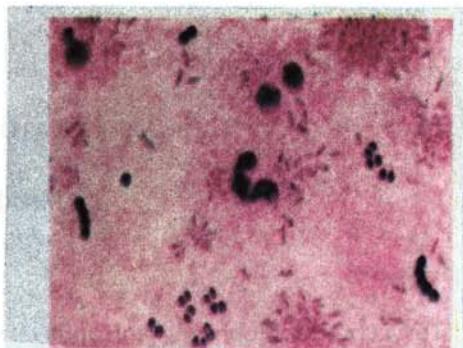
Είναι πολύ μικρό Gram - αρνητικό βακτηρίδιο που εμφανίζει έντονο πολυμορφισμό και μπορεί να λάβει τη μορφή κοκκοβακτηριδίου ή να εμφανισθεί με επιμήκεις και νηματοειδείς μορφές (σχ. 7.2).

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες, αλλά η ανάπτυξη του ευνοείται από την παρουσία 10% CO₂. Η καλλιέργεια του γίνεται σε αιματούχο άγαρ, στο οποίο περιέχεται αίμα κουνελιού ή αλόγου. Το αίμα ανθρώπου και προβάτου περιέχει θερμοευαίσθητες ουσίες, που αναστέλλουν την ανάπτυξη του μικροβίου και δεν πρέπει να χρησιμοποιείται για την παρασκευή αιματούχου άγαρ. Καλλιεργείται επίσης σε σοκολατόχρωμο άγαρ που παρασκευάζεται από αίμα ανθρώπου ή προβάτου (το βράσιμο του αίματος καταστρέφει τις θερμοευαίσθητες ανασταλτικές ουσίες) και σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά, στα οποία έχουν προστεθεί οι παράγοντες ανα-



(α)



(β)

Σχ. 7.2.

Παρασκεύασμα *H. influenzae* από μία αποικία σε αιματουχό αγάρ (α) και από πτύελα (β).

πτύξεως X και V. Οι παράγοντες X και V φέρονται έτοιμοι στο εμπόριο και χρησιμοποιούνται σε τελική συγκέντρωση 1 : 250 000 και 1 : 10 000 000, αντίστοιχα. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ο *H. influenzae* χρειάζεται και τους δύο παράγοντες αναπτύξεως X και V για να αναπτυχθεί στα θρεπτικά υλικά.
- Δεν προκαλεί αιμόλυση.
- Μερικά στελέχη του μικροβίου φέρουν έλυτρο, ενώ άλλα στελέχη δεν φέρουν έλυτρο. Τα ελυτροφόρα στελέχη διακρίνονται σε 6 ορολογικούς τύπους (a, b, c, d, e και f) με βάση την αντιγονική σύσταση του ελύτρου. Η κατάταξη των ελυτροφόρων στελέχων σε ορολογικούς τύπους γίνεται με τη δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου ή με ιζηματινοαντίδραση.
- Τα μη ελυτροφόρα στελέχη βρίσκονται συχνότερα από τα ελυτροφόρα στελέχη ως φυσιολογική χλωρίδα στην ανώτερη αναπνευστική υδό. Τα ελυτροφόρα στελέχη απομονώνονται πολύ πιο συχνά σαν αίτιο λοιμώξεων, κυρίως στα παιδιά. Ο ορολογικός τύπος b αποτελεί το συχνότερο αίτιο λοιμώξεων που οφείλονται στον *H. influenzae*. Ειδικότερα, στην ηλικία από 6 μηνών μέχρι 3 ετών ο ορολογικός τύπος b προκαλεί το 95% από τις λοιμώξεις, στις οποίες απομονώνεται *H. influenzae*. Μετά από αυτή την ηλικία αυξάνει το ποσοστό των λοιμώξεων που οφείλονται και στους άλλους ορολογικούς τύπους. Στους ενήλικες η συχνότητα λοιμώξεων από ελυτροφόρα και μη ελυτροφόρα στελέχη *H. influenzae* είναι περίπου η ίδια.

δ) Παθογόνος δράση.

Οι λοιμώξεις από *H. influenzae* είναι συνηθισμένες στα παιδιά, αλλά εμφανίζονται με μικρή συχνότητα και στους ενήλικες. Η λοίμωξη αρχίζει συνήθως σαν ρινο-

φαρυγγίτιδα και μπορεί να ακολουθήσει εμφάνιση παραρρινοκολπίτιδας, μέσης ωτίτιδας ή πνευμονίας. Σπανιότερη, αλλά πολύ σοβαρή νόσος, που εμφανίζεται στα παιδιά είναι η αποφρακτική λαρυγγίτιδα που εμφανίζει χαρακτηριστική κλινική εικόνα και είναι γνωστή έπισης με την ονομασία επιγλωττίτιδα από H. influenzae τύπου b. Η έναρξη της νόσου είναι απότομη. Ο ασθενής εμφανίζει δύσπνοια που μεγαλώνει με την πάροδο του χρόνου. Μέσα σε 24 ώρες η νόσος καταλήγει στο θάνατο από την πλήρη απόφραξη του λάρυγγα, που οφείλεται στην διογκωμένη επιγλωττίδα. Ο ασθενής σώζεται μόνο αν γίνει έγκαιρα τραχειοτομία.

Σε όλες τις λοιμώξεις από H. influenzae παρατηρείται μικροβιαιμία που πολύ συχνά, στα βρέφη και στα παιδιά κάτω από 6 ετών, έχει ως αποτέλεσμα την εγκατάσταση του μικροβίου στις μηνιγγιές και την εμφάνιση μηνιγγίτιδας.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το υλικό που εξετάζεται για την απομόνωση του H. influenzae εξαρτάται από την εντόπιση της λοιμώξεως. Όταν η λοιμώξη εντοπίζεται στο αναπνευστικό σύστημα, λαμβάνονται πτύελα η επιχρίσματα των αναπνευστικών βλεννογόνων, σε περίπτωση ωτίτιδας λαμβάνεται πυώδες εξίδρωμα, και αν πρόκειται για μηνιγγίτιδα, εξετάζεται το εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

1) Εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

α) Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό φυγοκεντρείται και από το ίζημα γίνονται παρασκευάσματα, τα οποία χρωματίζονται κατά Gram.

β) Επειδή το συχνότερο αίτιο μηνιγγίτιδας από αιμόφιλο είναι ο τύπος b, γίνεται η δοκιμασία εξοιδήσεως του ελύτρου με τον ειδικό αντιορό b.

Μία σταγόνα του ίζηματος του εγκεφαλονωτιαίου υγρού τοποθετείται σε αντικειμενοφόρο πλάκα, αναμιγνύεται με μία σταγόνα αντιορού b και μικροσκοπείται.

γ) Το ίζημα καλλιεργείται στα κατάλληλα θρεπτικά υλικά (σοκολατόχροο άγαρ και αιματούχο άγαρ). Τα υλικά επωάζονται στους 37° C σε ατμόσφαιρα 10% CO₂ επί 24 ώρες.

δ) Από τις αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

ε) Το στέλεχος που απομονώθηκε χαρακτηρίζεται σαν H. influenzae με τις δοκιμασίες εξαρτήσεως από τους παράγοντες X και V και με την παραγωγή αιμολύσεως. Αν χρειάζεται και τους δύο παράγοντες, X και V, για την ανάπτυξη του και δεν παράγει αιμόλυση, χαρακτηρίζεται σαν H. influenzae.

στ) Γίνεται η ορολογική τυποποίηση του H. influenzae με τους ειδικούς αντιορούς σύμφωνα με τη μέθοδο εξοιδήσεως τόυ ελύτρου.

Σημείωση: Σε περίπτωση κατά την οποία στο άμεσο παρασκεύασμα από το ίζημα του εγκεφαλονωτιαίου υγρού παρατηρήθουν μικρόβια που μοιάζουν με αιμόφιλο, η άμεση τυποποίησή του με τον αντιορό b προσφέρει μεγάλη βοήθεια στον κλινικό γιατρό για να αρχίσει γρήγορα τη θεραπεία.

2) Πτύελα και επιχρίσματα αναπνευστικών βλεννογόνων.

α) Γίνονται άμεσα παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram. Η εξέταση αυτή δεν προσφέρει μεγάλη βοήθεια, επειδή και άλλοι αιμόφιλοι βρίσκονται στο αναπνευστικό σύστημα.

β) Ακολουθεί η καλλιέργεια των πτυέλων ή των επιχρισμάτων στα κατάλληλα

θρεπτικά υλικά. Τα επόμενα στάδια είναι τα ίδια όπως και στην έξέταση του εγκεφαλονωτιάου υγρού.

7.3 Άλλοι Αιμόφιλοι.

1) *H. parainfluenzae*: Προκαλεί οξεία φαρυγγίτιδα και σπανιότερα υποξεία ενδοκαρδίτιδα ή μηνιγγίτιδα.

2) *H. haemolyticus*: Πολύ σπάνια προκαλεί υποξεία ενδοκαρδίτιδα.

3) *H. parahaemolyticus*: Πολύ σπάνια προκαλεί υποξεία ενδοκαρδίτιδα.

4) *H. aphrophilus*: Έχει απομονωθεί από το αίμα, το εγκεφαλονωτιάο υγρό, από αποστήματα του εγκεφάλου και από το αναπνευστικό σύστημα.

5) *H. aegyptius*: Προκαλεί οξεία και υποξεία επιπεφυκίτιδα. Με τα συνηθισμένα κριτήρια δεν διαχωρίζεται από τον *H. influenzae*. Πρόκειται για βιότυπο του *H. influenzae*.

6) *H. ducreyi*: Προκαλεί το μαλακό έλκος, αφροδίσιο νόσημα. Σήμερα οι περιπώσεις της νόσου είναι σχετικά λίγες.

Στον πίνακα 7.3.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες με τις οποίες διαχωρίζονται οι Αιμόφιλοι.

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.3.1.

Διαχωρισμός των Αιμοφίλων με βάση την εξάρτησή τους από τους παράγοντες αναπτύξεως X και V και την αιμολυτική τους ικανότητα.

Είδος	Παράγοντες X	αναπτύξεως V	Αιμόλυση
<i>H. influenzae</i>	+	+	—
<i>H. parainfluenzae</i>	—	+	—
<i>H. haemolyticus</i>	+	+	+
<i>H. parahaemolyticus</i>	—	+	+
<i>H. aphrophilus</i>	+	—	—
<i>H. aegyptius</i>	+	+	—
<i>H. ducreyi</i>	+	—	πολύ μικρή

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

ΜΠΟΡΝΤΕΤΕΛΛΑ

8.1 Γενικά.

Το γένος *Bordetella* περιλαμβάνει τρία είδη: τη *Bordetella pertussis*, τη *Bordetella parapertussis* και τη *Bordetella bronchiseptica*. Η *Bordetella pertussis* είναι το αίτιο του κοκκύτη, ενώ η *Bordetella parapertussis* προκαλεί νόσο που μοιάζει με τον κοκκύτη, αλλά τα συμπτώματα είναι ελαφρά και διαρκεί λίγο διάστημα. Η *Bordetella bronchiseptica* απομονώνεται από το αναπνευστικό σύστημα των ζώων.

8.2 *Bordetella pertussis*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι μικρό Gram-αρνητικό κοκκοβακτηρίδιο, που διατάσσεται μεμονωμένο, σε ζεύγη ή σπανιότερα σε μικρές αλυσίδες.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες και σε θερμοκρασία 35° ως 37° C. Η καλλιέργειά του γίνεται σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά. Κατάλληλο υλικό είναι το υλικό Bordet-Gengou, το οποίο περιέχει εκχύλισμα από πατάτες, γλυκερόλη και αίμα. Οι αποικίες αναπτύσσονται συνήθως μετά από 4 ημέρες. Αν δεν αναπτυχθεί μετά από 6 ημέρες, η καλλιέργεια θεωρείται αρνητική.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

Οι αποικίες του μικροβίου είναι μικρές, διαφανείς, γυαλιστερές, περιβάλλονται από μικρή ζώνη αιμολύσεως και χαρακτηριστικά περιγράφονται ότι μοιάζουν με μαργαριτάρια ή με σταγόνες υδραργύρου (σχ. 8.2).

— Ο χαρακτηρισμός ενός στελέχους σαν *B. pertussis* στο κλινικό εργαστήριο γίνεται με ειδικό αντι-*B. pertussis* ορό. Το στέλεχος αναμιγνύεται με τον αντιορό επάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Αν το στέλεχος είναι *B. pertussis*, παρατηρείται συγκόλληση.

— Το εμβόλιο για τον κοκκύτη περιέχει νεκρά κύτταρα του μικροβίου και χορηγείται μαζί με το εμβόλιο εναντίον της διφθερίτιδας και του τετάνου (τριπλό εμβόλιο). Παιδιά που έχουν εμβολιασθεί, είναι δυνατόν να εμφανίσουν ελαφρά μορφή της νόσου, που διαρκεί για μικρό διάστημα.



Σχ. 8.2.

Αποικίες της *B. pertussis* στο υλικό Bordet-Gengou με τη χαρακτηριστική εμφάνιση σταγόνων υδραργύρου ή μαργαριταριών.

δ) Παθογόνος δράση.

Είναι το αίτιο του κοκκύτη. Η νόσος χαρακτηρίζεται από έντονο παροξυσμικό βήχα και παρατηρείται στα βρέφη και στα παιδιά. Περιγράφονται τρία στάδια της νόσου: το καταρροϊκό, το παροξυσμικό και το στάδιο της αναρρώσεως.

Το πρώτο στάδιο διαρκεί 1 ως 2 εβδομάδες και χαρακτηρίζεται από ξερό βήχα, ενώ η θερμοκρασία παραμένει στα φυσιολογικά επίπεδα.

Το παροξυσμικό στάδιο διαρκεί από 2 ως 6 εβδομάδες και χαρακτηρίζεται από παροξυσμικό βήχα (10 ως 15 παροξυσμοί βήχα την ημέρα που ο καθένας διαρκεί 5 ως 10 λεπτά), πυρετό, εμετούς, κυάνωση και αύξηση των λευκών αιμοσφαιρίων (οφείλεται στην αύξηση των λεμφοκυττάρων κυρίως).

Το στάδιο της αναρρώσεως διαρκεί για μεγάλο διάστημα. Η μετάδοση της νόσου γίνεται με τα σταγονίδια στο καταρροϊκό κυρίως στάδιο της νόσου.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

1) Η απομόνωση του μικροβίου γίνεται μετά από καλλιέργεια του ρινοφαρυγγικού εκκρίματος. Το ρινοφαρυγγικό έκκριμα λαμβάνεται με λεπτό, εύκαμπτο βαμβακοφόρο στυλεό, που εισάγεται από τη μύτη. Αν δεν είναι δυνατή η δειγματοληψία από τη μύτη, ο στυλεός εισάγεται από το στόμα.

2) Το ρινοφαρυγγικό έκκριμα καλλιεργείται στο υλικό Bordet-Gengou και επωάζεται στους 35° ως 37°C . Καλό είναι στο υλικό Bordet-Gengou να έχει ενσωματωθεί πενικιλλίνη για να μην αναπτυχθούν πολύ τα σαπροφυτικά μικρόβια του ρινοφάρυγγα.

3) Μετά από 2 ως 4 ημέρες αναζητούνται οι χαρακτηριστικές αποικίες της *B. pertussis*.

- 4) Από τις αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.
- 5) Οι ύποπτες αποικίες αναμιγνύονται με 0,2 ml φυσιολογικού ορού μέσα σε ένα σωληνάριο. Μία σταγόνα του εναιωρήματος των κυττάρων στο φυσιολογικό ορό φέρεται στο ένα áκρο μιας αντικειμενοφόρου πλάκας, ενώ μία άλλη σταγόνα τοποθετείται στο άλλο áκρο της πλάκας. Η μία από τις δύο σταγόνες αναμιγνύεται με μία σταγόνα του ειδικού αντι-B. pertussis ορού. Αν εμφανισθεί συγκόλληση, το στέλεχος χαρακτηρίζεται σαν B. pertussis. Η σταγόνα του εναιωρήματος των κυττάρων, η οποία δεν αναμίχθηκε με ορό, χρησιμεύει σαν αρνητικός μάρτυρας.

Σημείωση: Επειδή η B. pertussis έχει ορισμένα αντιγόνα κοινά με την B. parapertussis, ο αντιορός πρέπει πρώτα να απορροφηθεί με κύτταρα στελέχους B. parapertussis και μετά να χρησιμοποιηθεί για τη συγκολλητινοαντίδραση. Με την απορρόφηση τα αντισώματα του θρού που είναι ειδικά για τα κοινά αντιγόνα, αντιδρούν με τα κύτταρα της B. parapertussis.

Όταν φυγοκεντρηθεί το μήγα αντιορού-κυττάρων B. parapertussis, τα κύτταρα θα καθίζοσουν μαζί με τα αντισώματα που έχουν ενωθεί με τα κοινά αντιγόνα στην επιφάνεια των κυττάρων, ενώ στο υπερκείμενο θα παραμείνουν τα αντισώματα που είναι ειδικά μόνο για τα αντιγόνα της B. pertussis. Με αυτό τον τρόπο ο ορός που έχει απορροφηθεί είναι ειδικός για την B. pertussis και δεν συγκολλά την B. parapertussis.

- 6) Εκτός από τη δοκιμασία συγκολλήσεως επάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα, η B. pertussis διαχωρίζεται από τη B. parapertussis και με άλλες δοκιμασίες, όπως την ανάπτυξη σε θρεπτικό áγαρ, που περιέχει πεπτόνη και την παραγωγή φαιάς χρωστικής στο ίδιο υλικό, και την παραγωγή ουρεάσης.

Στον πίνακα 8.2.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για τό διαχωρισμό της B. pertussis από τη B. parapertussis.

ΠΙΝΑΚΑΣ 8.2.1.
Διαχωρισμός της B. pertussis από την B. parapertussis.

	Ανάπτυξη σε πεπτονόχο áγαρ (χωρίς αίμα)	Παραγωγή χρωστικής σε πεπτονόχο áγαρ	Παραγωγή ουρεάσης
B. pertussis	—	—	—
B. parapertussis	+	+	+

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΑΤΟ

ΕΝΤΕΡΟΒΑΚΤΗΡΙΟΕΙΔΗ

9.1 Γενικά.

Η οικογένεια Enterobacteriaceae περιλαμβάνει 12 γένη, τα οποία απομονώνονται πολύ συχνά από λοιμώξεις του ανθρώπου. Η οικογένεια αποτελείται από μικρά Gram-αρνητικά βακτηρίδια, τα οποία αναπτύσσονται αεροβίως και προαιρετικά αναεροβίως, είναι άσπορα, κινητά ή ακίνητα, προκαλούν ζύμωση της γλυκόζης με ή χωρίς παραγωγή αερίου, παράγουν καταλάση, ανάγουν τα νιτρικά άλατα σε νιτρώδη και τέλος δεν παράγουν οξειδάση.

Τα εντεροβακτηριοειδή είναι δυνατόν να χωρισθούν σε δύο ομάδες με βάση τη διάσπαση της λακτόζης. Η μία περιλαμβάνει τα γένη, τα οποία διασπούν τη λακτόζη (λακτόζη - θετικά), και η άλλη ομάδα περιλαμβάνει τα γένη, τα οποία δεν διασπούν τη λακτόζη (λακτόζη - αρνητικά). Η διάκριση των εντεροβακτηριοειδών σε λακτόζη-θετικά και λακτόζη-αρνητικά γίνεται στο υλικό Mac Conkey άγαρ. Το υλικό Mac Conkey άγαρ είναι εκλεκτικό και διαχωριστικό υλικό και περιέχει χολικά άλατα, λακτόζη και ουδέτερο ερυθρό σαν δείκτη του pH (βλ. βιβλίο Μικροβιολογίας Β' τάξεως).

Τα λακτόζη-θετικά εντεροβακτηριοειδή παράγουν αποικίες κόκκινες, ενώ τα λακτόζη-αρνητικά παράγουν αποικίες άχροες (σχ. 9.1a).

Τα γένη της οικογένειας των εντεροβακτηριοειδών, τα οποία διασπούν τη λακτόζη, είναι:

Escherichia, Klebsiella, Enterobacter και βραδέως το ***Citrobacter***.

Τα γένη, τα οποία δεν διασπούν τη λακτόζη, είναι:

Shigella, Salmonella, Serratia, Hafnia και ***Proteus***.

Ένα δεύτερο στάδιο διαχωρισμού των εντεροβακτηριοειδών είναι ο έλεγχος της ζυμώσεως της γλυκόζης με ή χωρίς παραγωγή αερίου, η ζύμωση της λακτόζης και η παραγωγή H_2S . Αυτό κατορθώνεται με τη χρησιμοποίηση του υλικού Kligler, με το οποίο ελέγχονται ταυτόχρονα όλες οι παραπάνω ιδιότητες. Το υλικό Kligler περιέχει γλυκόζη, λακτόζη, θειοθεικό νάτριο, θειικό εναμμώνιο, σίδηρο και ερυ-



Σχ. 9.1α.

Αποικίες εντεροβακτηριοειδούς το οποίο διασπά τη λακτόζη στο υλικό Mac Conkey άγαρ.

Θρό της φαινόλης για δείκτη του pH. Το ποσό της λακτόζης είναι 10 φορές περισσότερο από το ποσό της γλυκόζης. Μετά την αποστέρωση, το υλικό αφήνεται να πήξει σε λοξή θέση έτσι, ώστε να σχηματισθεί μία ευθεία στήλη υλικού στη βάση του σωληναρίου που να έχει ύψος 2 ως 3 cm και μία λοξή επιφάνεια επάνω από την ευθεία στήλης.

Η ζύμωση της γλυκόζης και η παραγωγή αερίου διαπιστώνεται από την αλλαγή του χρώματος του δείκτη από κόκκινο σε κίτρινο και το σχηματισμό φυσαλλίδων, αντίστοιχα, στην ευθεία στήλη του υλικού. Η ζύμωση της λακτόζης διαπιστώνεται από την αλλαγή του χρώματος του δείκτη σε κίτρινο στη λοξή επιφάνεια του υλικού. Η παραγωγή H_2S διαπιστώνεται από την εμφάνιση μαύρου χρώματος στην ευθεία στήλη του υλικού. Το H_2S προέρχεται από την αναγωγή του θειοθεικού νατρίου. Το H_2S που παράγεται αντιδρά με το θειικό εναμμώνιο σίδηρο και σχηματίζεται θειούχος σίδηρος (FeS), ο οποίος έχει μαύρο χρώμα (σχ. 9.1β).

Με το υλικό Kligler ελέγχεται η ζύμωση της γλυκόζης και της λακτόζης που γίνεται στην ευθεία στήλη του υλικού. Αν ένα μικρόβιο ζυμώνει μόνο τη γλυκόζη, τα όξινα προϊόντα που παράγονται δεν είναι αρκετά για να διαχυθούν και να αλλάξουν το χρώμα στη λοξή επιφάνεια του υλικού. Αυτό συμβαίνει, γιατί το ποσό της γλυκόζης είναι σχετικά μικρό. Αντίθετα, στην περίπτωση της λακτόζης η ζύμωση της στην ευθεία στήλη του υλικού έχει σαν αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλου ποσού οξίνων προϊόντων, τα οποία διαχέονται σε όλο το υλικό και προκαλούν την αλλαγή του χρώματος του δείκτη ακόμα και στη λοξή επιφάνεια του υλικού. Ο πίνακας 9.1.1 δείχνει τις αντιδράσεις που εμφανίζουν τα εντεροβακτηριοειδή στο υλικό Kligler μετά 24 ωρών επώασης.



Σχ. 9.1β.

Διάφορες αντιδράσεις στο υλικό Kligler.

Το πρώτο σωληνάριο είναι υλικό Kligler που δεν έχει εμβολιασθεί (μάρτυρας). Στο δεύτερο σωληνάριο το μικρόβιο διασπά τη γλυκόζη με την παραγωγή αερίου και δεν διασπά τη λακτόζη. Στο τρίτο σωληνάριο το μικρόβιο διασπά τη γλυκόζη, με την παραγωγή αερίου, και τη λακτόζη. Στο τέταρτο σωληνάριο το μικρόβιο διασπά τη γλυκόζη, με την παραγωγή αερίου, δεν διασπά τη λακτόζη και παράγει H_2S .

9.2 *Escherichia coli* (Κολοβακτηρίδιο).

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι μικρό Gram - αρνητικό βακτηρίδιο. Μερικές φορές τα κύτταρα του παίρνουν τη μορφή κοκκοβακτηριδίου (σχ. 9.2).

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες και προαιρετικά σε αναερόβιες. Η καλλιέργεια του γίνεται με ευχέρεια σε κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους $37^\circ C$, αλλά μπορεί να αναπτυχθεί και σε όρια θερμοκρασιών από 10° ως $45^\circ C$.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνει τη γλυκόζη με την παραγωγή αερίου.
- Ζυμώνει τη λακτόζη.
- Τα πιο πολλά στελέχη είναι κινητά και φέρουν βλεφαρίδες γύρω από όλο το μικροβιακό σώμα (περίτριχα).
- Πολλά στελέχη φέρουν έλυτρο ή μια αδιαφοροποίητη στιβάδα, που περιβάλλει το κυτταρικό τοίχωμα.

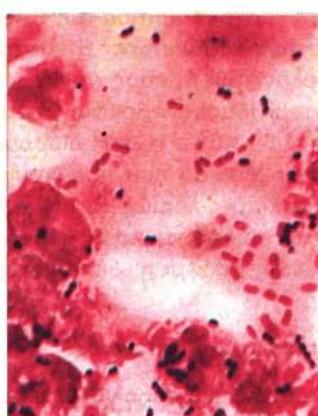
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1.1.

Αντιδράσεις των Εντεροβακτηριοειδών στο υλικό Kligler.

Γένος	Ζύμωση λακτόζης (λοξή επιφάνεια)	Ζύμωση γλυκόζης (ευθεία στήλη)	Αέριο από γλυκόζη	Παραγωγή H_2S
Escherichia	+	+	+ (-)	-
Klebsiella	+	+	++	-
Enterobacter	+	+	++	-
Shigella	-	+	-	-
Salmonella typhi	-	+	-	+ (-)
Άλλα είδη Salmonella	-	+	+	+++ (-)
Citrobacter	- ή (+) ^a	+	+	+++ (-)
Serratia	-	+	-	-
Proteus				
P. vulgaris	-	+	+	+++
P. mirabilis	-	+	+	+++
P. morganii	-	+	- (+)	-
P. rettgeri	-	+	-	-
P. inconstans	-	+	+ ή -	-
Hafnia	-	+	+	-

(+) ^a = Η αντίδραση είναι θετική μετά από 2 ως 3 ημέρες επιωάσεως.

(-) = Τα σύμβολα σε παρένθεση δηλώνουν αντιδράσεις που παρατηρούνται μερικές φορές μόνο.



Σχ. 9.2.

Παρασκεύασμα Κολοβακτηρίδιου από μία αποικία σε Mac Conkey άγαρ.

- Με βάση το σωματικό αντιγόνο (O) το βλεφαριδικό αντιγόνο (H) και το αντιγόνο του ελύτρου (K), τα στελέχη του μικροβίου διακρίνονται σε ορολογικούς τύπους. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότερα από 150 αντιγόνα O, 50 αντι-

γόνα Η και 90 αντιγόνα Κ. Ο ορολογικός τύπος ενός στελέχους δηλώνεται με την αναγραφή του αριθμού των αντιγόνων του, π.χ. 0111 : K58 : H2.

— Παράγει ινδόλη από τη διάσπαση της τρυποφάνης.

— Δίνει θετική τη δοκιμασία ερυθρού του μεθυλίου. Σε υλικό που περιέχει γλυκόζη και πεπτόνη διασπά το σάκχαρο, παράγονται όξινα προϊόντα και το pH του υλικού γίνεται 4 ως 4,5. Όταν προστεθούν σταγόνες διαλύματος ερυθρού του μεθυλίου, το σωληνάριο παίρνει ερυθρό χρώμα (αντίδραση θετική). Άλλα μικρόβια διασπούν επίσης τη γλυκόζη αλλά το pH του υλικού είναι μεγαλύτερο από 4,5. Σ' αυτή την περίπτωση η προσθήκη του ερυθρού του μεθυλίου έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση κίτρινου χρώματος μέσα στο σωληνάριο και η δοκιμασία χαρακτηρίζεται αρνητική.

— Δίνει αρνητική τη δοκιμασία *Voges - Proskauer*. Με τη δοκιμασία αυτή ελέγχεται η παραγωγή ακετυλομεθυλοκαρβινόλης από τη ζύμωση της γλυκόζης και γίνεται το ίδιο υλικό όπως και η δοκιμασία ερυθρού του μεθυλίου. Το κολοβακτηρίδιο δεν παράγει ακετυλομεθυλοκαρβινόλη.

— Δίνει αρνητική τη δοκιμασία κιτρικού νατρίου.

Με αυτή τη δοκιμασία ελέγχεται, αν ένα μικρόβιο μπορεί να αναπτυχθεί σε υλικό που έχει σαν μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο. Το κολοβακτηρίδιο δεν αναπύσσεται σε υλικά με κιτρικό νάτριο σαν μόνη πηγή άνθρακα.

Οι 4 δοκιμασίες, δηλαδή η δοκιμασία παραγωγής ινδόλης, η δοκιμασία ερυθρού του μεθυλίου (*Methyl-red*), η δοκιμασία *Voges-Proskauer* και η δοκιμασία των κιτρικών (*Citrate*) φέρονται διεθνώς σαν δοκιμασίες **IMViC** (*Indole, Methyl-red, Voges-Proskauer και Citrate*). Οι δοκιμασίες IMViC στο κολοβακτηρίδιο είναι $IMViC = + + - -$.

δ) Παθογόνος δράση.

Στον εντερικό σωλήνα του ανθρώπου δεν προκαλεί νόσο, εκτός από δύο εξαιρέσεις, τη γαστρεντερίτιδα των βρεφών και τη νόσο που είναι γνωστή με το όνομα **διάρροια των ταξιδιωτών**. Η γαστρεντερίτιδα των βρεφών οφείλεται σε ορισμένους ορολογικούς τύπους του κολοβακτηρίδιου. Ο συχνότερος ορολογικός τύπος γαστρεντερίτιδας των βρεφών, που έχει παγκόσμια γεωγραφική κατανομή, είναι ο τύπος 0111 : K58 : H2. Η διάρροια των ταξιδιωτών οφείλεται σε ορισμένα στελέχη του μικροβίου που παράγουν μία εντεροτοξίνη.

Οι συχνότερες λοιμώξεις από κολοβακτηρίδιο είναι οι ουρολοιμώξεις. Το μικρόβιο μπορεί επίσης να προκαλέσει περιτονίτιδα, χολοκυστίτιδα, αποστήματα στη σκωληκοειδή απόφυση, διαπυήσεις τραυμάτων, μικροβιαίμια και στα νεογνά μηνιγγίτιδα.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το ύποπτο υλικό εμβολιάζεται σε αιματούχο άγαρ και στο υλικό Mac Conkey άγαρ.

Από τις ύποπτες αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

Οι αποικίες εμβολιάζονται στο υλικό Kligler. Το καλλιέργημα στο υλικό Kligler χρησιμοποιείται για την εκτέλεση των άλλων δοκιμασιών (όπως π.χ. IMViC κλπ.).

Αν πρόκειται για γαστρεντερίτιδα των νεογνών, γίνεται η ορολογική τυποποίηση του στελέχους επάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα με τους ειδικούς αντιορούς.

9.3 Klebsiella pneumoniae.

Αναφέρονται τρία είδη Κλεμποσιελλών: Η *K. pneumoniae*, η *K. ozaenae* και η *K. rhinoscleromatis*. Συνηθέστερο αίτιο λοιμώξεων είναι η *K. pneumoniae*.

α) Μορφολογία και χρώση.

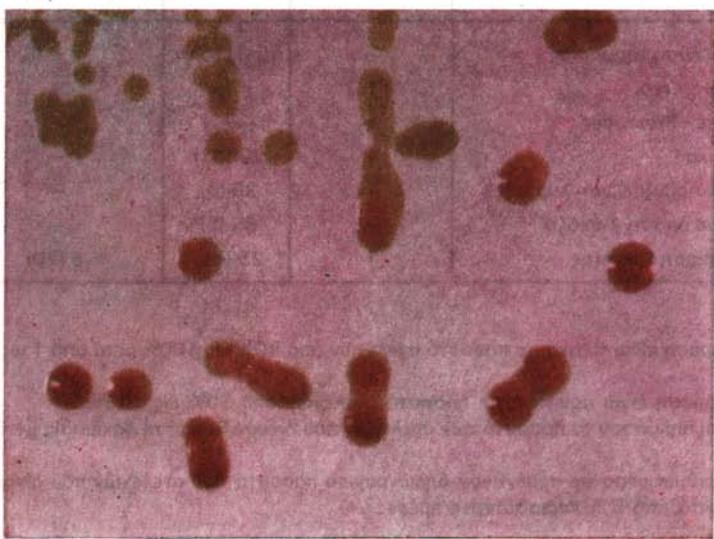
Είναι Gram-αρνητικό βακτηρίδιο.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες και προαιρετικά σε αναερόβιες. Καλλιέργειται εύκολα σε κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνει τη γλυκόζη με παραγωγή αερίου.
- Ζυμώνει τη λακτόζη.
- Είναι ακίνητο μικρόβιο.
- Φέρει έλυτρο. Οι αποικίες της είναι πολύ βλεννώδεις (ιδιαίτερο χαρακτηριστικό της κλεμποσιέλλας) (σχ. 9.3).



Σχ. 9.3.

Χαρακτηριστικές βλεννώδεις αποικίες της *K. pneumoniae* που διασπούν τη λακτόζη (κόκκινες).

- Χωρίζεται σε ορολογικούς τύπους με βάση το σωματικό αντιγόνο O και το αντιγόνο του ελύτρου K. Έχουν περιγραφεί 5 αντιγόνα O και 72 αντιγόνα K.
- Βρίσκεται στην ανώτερη αναπνευστική οδό και στον εντερικό σωλήνα των υγιών ατόμων.

— Δεν παράγει ινδόλη, δίνει αρνητική τη δοκιμασία του ερυθρού του μεθυλίου, δίνει θετική τη δοκιμασία Voges - Proskauer, και αναπτύσσεται σε υλικό που έχει σαν μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο (IMViC = — + + +).

δ) Παθογόνος δράση.

Προκαλεί το 1% ως 2% από όλες τις περιπτώσεις πνευμονίας, που οφείλονται σε βακτήρια. Είναι αίτιο ουρολοιμώξεων, μηννιγγίτιδας, διαπυήσεως τραυμάτων και περιτονίτιδας.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το ύποπτο υλικό εμβολιάζεται σε αιματούχο άγαρ και στο Mac Conkey άγαρ.

Από τις ύποπτες αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

Οι αποικίες εμβολιάζονται στο υλικό Kligler. Το καλλιέργημα στο υλικό Kligler χρησιμεύει για τη μελέτη των ιδιοτήτων του μικροβίου.

Στον πίνακα 9.3.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό του γένους Klebsiella σε είδη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.3.1.

Διαχωρισμός του γένους *Klebsiella* σε είδη.

	K. pneumoniae	K. ozaenae	K. rhinoscleromatis
Υδρόλυση της ουρίας	+	15.0 (15.0)	-
Methyl - red	11.0	+	+
Voges - Proskauer	+	-	-
Κιτρικά	+	28 (32)	-
Αποκαρβοξυλίωση λυσίνης	+	36 (6)	-
Αέριο από τή γλυκόζη	+	55 (9)	-
Διάσπαση λακτόζης	+	26 (61)	6 (70)

+ = η αντίδραση είναι θετική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% μετά από 1 ως 2 ημέρες επώασεως.

- = η αντίδραση είναι αρνητική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100%.

Οι αριθμοί δηλώνουν το ποσοστό των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 1 ως 2 ημέρες.

() = οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν το ποσοστό των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 3 ή περισσότερες ημέρες.

9.4 Enterobacter.

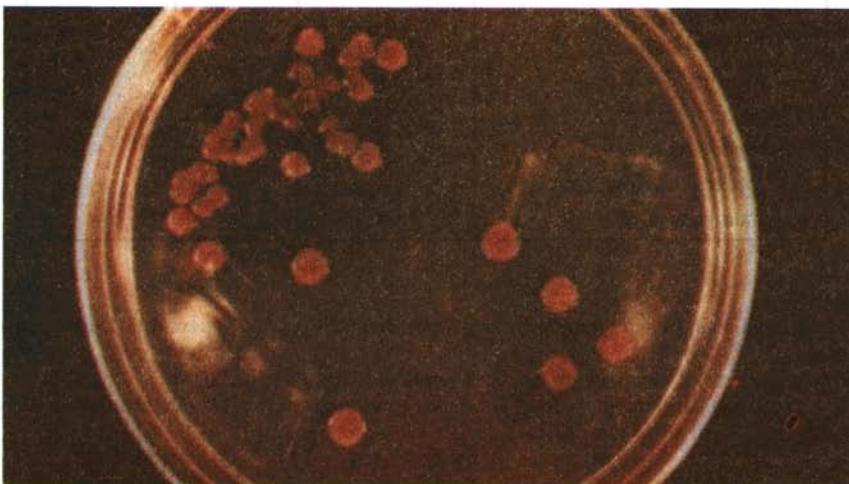
Περιγράφονται δύο είδη Enterobacter: το E. cloacae και το E. aerogenes.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram-αρνητικό βακτηρίδιο.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες και προαιρετικά σε αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργείται εύκολα σε κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37°C (σχ. 9.4).



Σχ. 9.4.
Αποικίες *Enterobacter aerogenes*.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνει τη γλυκόζη με την παραγωγή αερίου.
- Ζυμώνει τη λακτόζη. Ορισμένα στελέχη δεν ζυμώνουν το σάκχαρο.
- Είναι κινητό μικρόβιο (περίτριχο).
- Βρίσκεται στο χώμα, στο νερό, στα λύματα και στα κόπρανα του ανθρώπου και των ζώων.
- Δεν παράγει ινδόλη, δίνει τη δοκιμασία ερυθρού του μεθυλίου αρνητική, δίνει θετική τη δοκιμασία Voges - Proskauer, και αναπτύσσεται σε υλικό που σαν μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο ($\text{IMViC} = - - + +$).

δ) Παθογόνος δράση.

Είναι ευκαιριακό παθογόνο μικρόβιο. Προκαλεί ουρολοιμώξεις, πνευμονία, μηνιγγίτιδα, μικροβιαιμία και διαπυήσεις τραυμάτων.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το ύποπτο υλικό καλλιεργείται σε αιματούχο άγαρ και στο Mac Conkey άγαρ.

Από τις αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

Οι αποικίες καλλιεργούνται στο υλικό Kligler. Οι καλλιέργειες στο υλικό Kligler χρησιμοποιούνται για τις παραπέρα βιοχημικές δοκιμασίες.

Στον πίνακα 9.4.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό του γένους *Enterobacter* σε είδη και στο διαχωρισμό από την *K. pneumoniae*.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.4.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό της *K. pneumoniae* από το γένος *Enterobacter*.

Δοκιμασίες	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>
Αέριο από τη διάσπαση της ινοσιτόλης	+	—	+
Κινητικότητα	—	+	+
Υδρόλυση της ουρίας	+	+ (75)	—
Αποκαρβοξυλίωση ορνιθίνης	—	+	+
Αποκαρβοξυλίωση λυσίνης	+	—	+
Υδρόλυση αργινίνης	—	+	—

+= η δοκιμασία είναι θετική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεων.

- = η δοκιμασία είναι αρνητική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100%.

+ () = οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν το ποσοστό των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία, όταν είναι κάτω από 90%.

9.5 *Serratia marcescens*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram-αρνητικό βακτηρίδιο.

β) Καλλιέργεια.

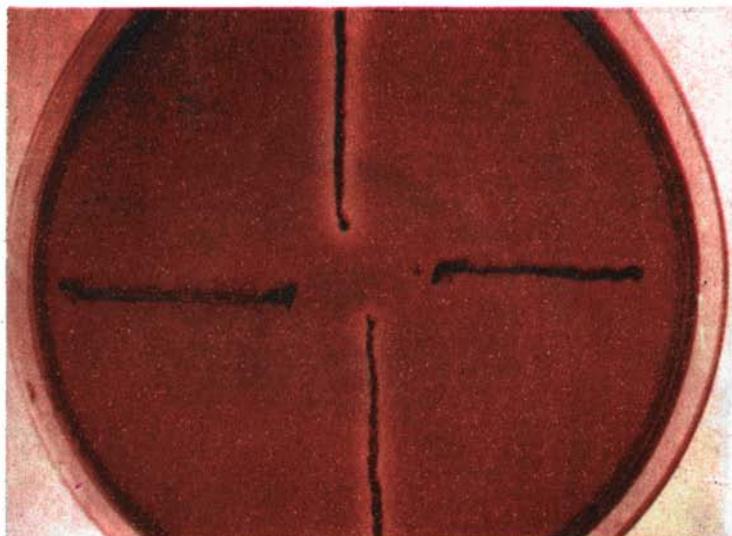
Αναπτύσσεται σε αερόβιες και προαιρετικά σε αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργείται εύκολα σε κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνει τη γλυκόζη με ή χωρίς παραγωγή αερίων.
- Δεν ζυμώνει τη λακτόζη.
- Είναι κινητό μικρόβιο (περίτριχο).
- Αρκετά στελέχη του μικροβίου παράγουν μία κόκκινη χρωστική που δεν διαχέεται.
- Παράγει δεοξυριβονουκλεάση. Η ιδιότητα αυτή χαρακτηρίζει μόνο την *S. marcescens* και δεν παρατηρείται στα άλλα εντεροβακτηριοειδή (σχ. 9.5).
- Δεν παράγει ινδόλη, η δοκιμασία ερυθρού του μεθυλίου είναι αρνητική, δίνει θετική τη δοκιμασία Voges - Proskauer, και αναπτύσσεται σε υλικό που έχει σαν μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο.

δ) Παθογόνος δράση.

Προκαλεί ουρολοιμώξεις, πνευμονία, μηνιγγίτιδα, μικροβιαιμία και διαπυήσεις τραυμάτων.



Σχ. 9.5.

H *S. marcescens* παράγει δεοξυριβονουκλεάση που υδρολύει το DNA. Σε υλικό με DNA γύρω από την ανάπτυξη της *S. marcescens* παρατηρείται διαύγαση όταν προστεθεί HCl.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το υποπότο υλικό καλλιεργείται σε αιματούχο άγαρ και στο Mac Conkey άγαρ.

Από τις αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

Οι αποικίες καλλιεργούνται στο υλικό Kligler. Από την καλλιέργεια στο υλικό Kligler γίνονται οι βιοχημικές δοκιμασίες για την τυποποίηση του μικροβίου.

9.6 Proteus.

Διακρίνονται 5 είδη πρωτέα: o *P. mirabilis*, o *P. vulgaris*, o *P. morganii*, o *P. rettgeri* και o *P. inconstans*.

α) Μορφολογία και χρώση.

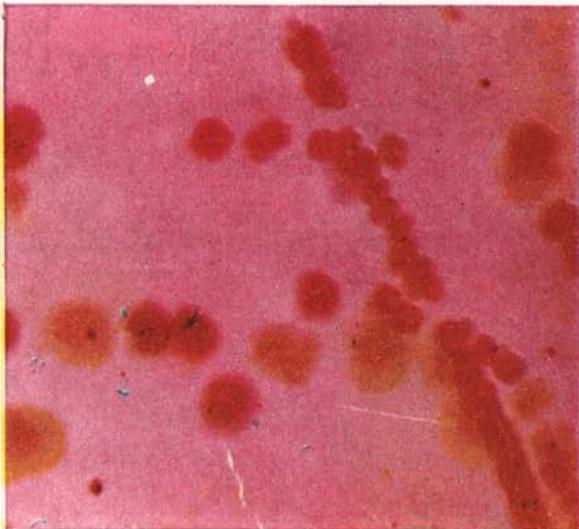
Είναι Gram - αρνητικό βακτηρίδιο, και τα κύτταρα του διατάσσονται μερικές φορές σε ζεύγη ή αλυσίδες.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες και προαιρετικά σε αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργείται εύκολα στα κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

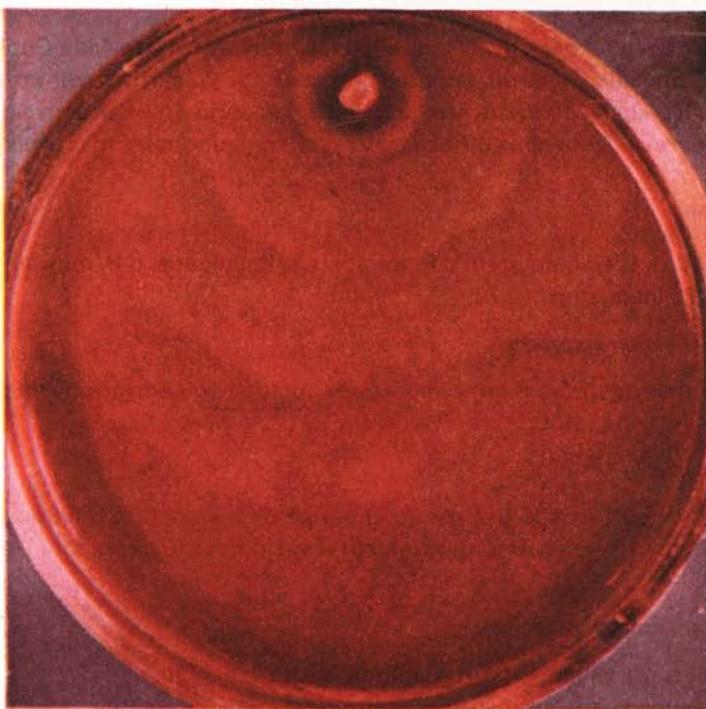
γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνει τη γλυκόζη με ή χωρίς παραγωγή αερίου.
- Δεν ζυμώνει τη λακτόζη (σχ. 9.6α).
- Είναι κινητό μικρόβιο (περίτριχο).
- Ο *P. mirabilis* και ο *P. vulgaris* παράγουν αποικίες που εμφανίζουν ερπυσμό, δηλαδή τείνουν να καταλάβουν ολόκληρη την επιφάνεια του υλικού (σχ. 9.6β).



Σχ. 9.6α.

Αποικίες Κολοβακτηρίδιου στο υλικό Mac Conkey άγαρ (διασπά τη λακτόζη = κόκκινες αποικίες) και αποικίες *P. mirabilis* (δεν διασπά τη λακτόζη = άχροες αποικίες).



Σχ. 9.6β.

Μία αποικία *P. vulgaris* στην κορυφή τρυβλίου με αιματούχο άγαρ. Το μικρόβιο ερπύζει και καταλαμβάνει ολόκληρη την επιφάνεια του τρυβλίου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.6.1.

Δοκυματίες για το δισχωρισμό του Πρωτέα σε είδη.

Δοκυματίες	P. mirabilis	P. vulgaris	P. morganii	P. rettgeri	P. inconstans (Providencia) ¹	
					P. alcalifaciens	P. stuartii
Παραγνή φαινολαλανίνης	+	+	+	+	+	+
Υδρολύση ουρίας	+	+	+	+	-	-
Παραγνή ινδόλης	-	+	+	-	-	-
Παραγνή H ₂ S (Kligler)	+	-	+	-	-	-
Αποκαρβοξυλίωση ορνιθίνης	+	-	+	-	-	-
Ρευστοτύχηση της ρηκτής	+	+	+	-	-	-
Διάσπαση γάλυκόζης	+	+	+	+	+	+
αέριο από γλυκόζη	+	-	-	+ (85)	-	+ (85)
Διάσπαση λακτόζης	-	-	-	-	-	-
Διάσπαση αδονιτόλης	-	-	-	-	+ (86)	+
Διάσπαση νοστρόλης	-	-	-	-	+ (89)	-
Διάσπαση μαννιτόλης	-	-	-	-	-	-
Διάσπαση μαλτόζης	-	-	-	-	-	-

+ = η δοκυματία είναι θετική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% σε 1 ως 2 ημέρες.

- = η δοκυματία είναι αρνητική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100%.

+ () = Οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν το ποσοστό των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκυματία όταν είναι κάτω από 90%.

1 = Ο P. inconstans φέρεται και με το όνομα Providencia και χωρίζεται σε δύο υποομάδες: την Providencia alcalifaciens και την Providencia stuartii.

— Παράγει φαινυλοπυροσταφυλικό οξύ από τη φαινυλαλανίνη. Η ιδιότητα αυτή είναι χαρακτηριστική μόνο για τους Πρωτείς και δεν παρατηρείται στα άλλα εντεροβακτηριοειδή.

— Παράγει ουρέαση και υδρολύει την ουρία. Ο *P. inconstans* δεν υδρολύει την ουρία.

— Παράγει ινδόλη από την τρυπτοφάνη. Ο *P. mirabilis* δεν παράγει ινδόλη.

δ) Παθογόνος δράση.

Συχνότερο αίτιο λοιμώξεων του ανθρώπου από Πρωτείς είναι ο *P. mirabilis*.

Οι Πρωτείς προκαλούν ουρολοιμώξεις, ωτίτιδα, μικροβιαιμία και διαπυήσεις τραυμάτων.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το ύποπτο υλικό καλλιεργείται σε αιματούχο'άγαρ και στο Mac Conkey άγαρ.

Από τις αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram.

Οι αποικίες καλλιεργούνται στο υλικό Kligler. Από την ανάπτυξη στο υλικό Kligler γίνονται οι βιοχημικές δοκιμασίες.

Σημείωση: Η παραγωγή φαινυλοπυροσταφυλικού οξέος από τη φαινυλαλανίνη είναι αρκετή για το χαρακτηρισμό ενός στελέχους σαν Πρωτέα. Η δοκιμασία είναι γνωστή ως APP, που είναι τα αρχικά των λέξεων Acid Phenyl - Pyruvique που είναι η ονομασία του φαινυλοπυροσταφυλικού οξέος.

Στον πίνακα 9.6.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό του γένους *Proteus* σε είδη.

9.7 *Salmonella*.

Το γένος *Salmonella* χαρακτηρίζεται από σχετικά μεγάλη ομοιογένεια στους βιοχημικούς χαρακτήρες, αλλά από εξαιρετικά μεγάλη ποικιλία στην ειδικότητα του σωματικού αντιγόνου O και του βλεφαριδικού αντιγόνου H. Μέχρι σήμερα έχουν περιγραφεί περισσότεροι από 1500 ορολογικοί τύποι σαλμονελών. Η διάκριση των σαλμονελών σε ορολογικούς τύπους βασίζεται στο σωματικό αντιγόνο O, το βλεφαριδικό αντιγόνο H και το επιφανειακό αντιγόνο Vi, το οποίο όμως βρίσκεται σε ορισμένους μόνον ορολογικούς τύπους. Τα σωματικά αντιγόνα O αναγράφονται με αραβικούς αριθμούς (π.χ. 1, 2, 3, 4, 5...). Τα βλεφαριδικά αντιγόνα H διακρίνονται στα ειδικά ή αντιγόνα της φάσεως 1 και στα μη ειδικά ή αντιγόνα της φάσεως 2. Τα ειδικά αντιγόνα γράφονται με τα μικρά γράμματα του λατινικού αλφαριθμού (π.χ. a, b, c, d), ενώ τα μη ειδικά αναγράφονται με τους αραβικούς αριθμούς (π.χ. 1, 2, 3...). Με βάση τα σωματικά αντιγόνα O οι σαλμονέλλες χωρίζονται σε ομάδες, που η κάθε μια χαρακτηρίζεται από ορισμένα σωματικά αντιγόνα O, π.χ. η ομάδα A έχει τα αντιγόνα 2 και 12, η ομάδα B έχει τα αντιγόνα 1, 4, 5 και 12, η ομάδα C₁ έχει τα αντιγόνα 6, 7, η ομάδα C₂ τα αντιγόνα 6, 8. Μέχρι την ομάδα Z έχουν περιγραφεί 50 σωματικά αντιγόνα O, ενώ τώρα οι νέοι αντιγονικοί τύποι σαλμονελών, οι οποίοι απομονώνονται, χαρακτηρίζονται σαν ομάδα 51 (έχει το αντιγόνο 51), ομάδα 52 (έχει το αντιγόνο 52), μέχρι την ομάδα 65, η οποία έχει το σωματικό αντιγόνο 65.

Όταν αναγράφεται ο ορολογικός τύπος μιας σαλμονέλλας, πρώτα αναφέρεται το σωματικό αντιγόνο Ο, μετά το ειδικό βλεφαριδικό αντιγόνο Η και τέλος το μη ειδικό βλεφαριδικό αντιγόνο Η, αν φυσικά υπάρχει, π.χ. 6.7:d:1,6 η 9.46: f, g.

Η ονοματολογία των διαφόρων σαλμονέλλων, οι οποίες απομονώνονται από τον άνθρωπο και τα ζώα, δεν ακολουθεί τους συνηθισμένους κανόνες της ονοματολογίας των βακτηρίων. Αρχικά οι σαλμονέλλες έπαιρναν το όνομα της νόσου και του ζώου από το οποίο γινόταν η απομόνωση (π.χ. *S. cholerae-suis*, *S. typhi*, *S. typhimurium*). Μετά οι νέοι ορολογικοί τύποι σαλμονέλλων έπαιρναν το όνομα της πόλεως, της περιοχής ή της χώρας στην οποία γινόταν για πρώτη φορά η απομόνωσή τους (*S. london*, *S. colorado*, *S. uganda*). Σήμερα κάθε νέος ορολογικός τύπος χαρακτηρίζεται με το σωματικό αντιγόνο Ο και τα βλεφαριδικά, ειδικά η μη ειδικά αντιγόνα, τα οποία έχει, π.χ. 64:u:1, 5, 7.

Η πρώτη και βασική εργασία του κλινικού έργαστρου είναι ο χαρακτηρισμός ενός στελέχους σαν σαλμονέλλα με βάση τις βιοχημικές δοκιμασίες. Από άποψη βιοχημικών δοκιμασιών του γένους *Salmonella* είναι δυνατόν να διακριθεί σε τρία είδη: τη *S. cholerae-suis*, τη *S. typhi* και τη *S. enteritidis* (πίνακας 9.7.1). Στα είδη *S. cholerae-suis* και *S. typhi* αντιστοιχεί από ένας μόνο ορολογικός τύπος, ενώ το είδος *S. enteritidis* περιλαμβάνει όλους τους άλλους ορολογικούς τύπους. Ένας ορολογικός τύπος, η *S. paratyphi*-Α, είναι δυνατόν να διαχωρισθεί με βιοχημικές δοκιμασίες από όλους τους άλλους ορολογικούς τύπους της *S. enteritidis*, που έχουν τους ίδιους βιοχημικούς χαρακτήρες (πίνακας 9.7.2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.7.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό του γένους *Salmonella* σε είδη.

Δοκιμασίες	<i>S. cholerae-suis</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. enteritidis</i>
Αέριο από τη γλυκόζη	+	—	+
Διάσπαση της τρεαλόζης	—	+	+
Διάσπαση της αραβινόζης	—	—	+
Διάσπαση της ραμνόζης	+	—	+
Αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης	+	—	+
Κιτρικά	+ (90)	—	+
Παραγωγή H_2S (Kligler)	+ (60)	+ ^a	+

+ = η αντίδραση είναι θετική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεως.

— = η αντίδραση είναι αρνητική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100%.

(+) = οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν το ποσοστό των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 3 ως 4 ημέρες επωάσεως.

+^a = ασθενώς θετική αντίδραση σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεως.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram-αρνητικά βακτηρίδια.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.7.2.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό της *S. enteritidis*, ορότυπος *Paratyphi - A*, από τους άλλους ορότυπους της *S. enteritidis*.

Δοκιμασίες	Ορότυπος <i>Paratyphi - A</i>	<i>S. enteritidis</i>
Διάσπαση της ξυλόζης	—	+
Αποκαρβοξυλίωση της λυσίνης	—	+
Κιτρικά	(25)	+
Παραγωγή H_2S (Kligler)	12.5 ^a	+

+ = η αντίδραση είναι θετική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100% μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεως.

— = η αντίδραση είναι αρνητική σε ποσοστό στελεχών από 90% ως 100%.

() = Οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν την έκατοστιαία αναλογία των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 3 ως 4 ημέρες επωάσεως.

+^a = η εκατοστιαία αναλογία των στελεχών που δίνουν ασθενώς θετική τη δοκιμασία μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεως.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσονται σε αερόβιες και προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργούνται εύκολα σε κοινά θρεπτικά υλικά και έχουν άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37°C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

— Ζυμώνουν τη γλυκόζη με την παραγωγή αερίου. Η *S. typhi* και ορισμένοι ορότυποι δεν παράγουν αέριο από τη ζύμωση της γλυκόζης.

— Δεν ζυμώνουν τη λακτόζη.

— Είναι κινητά μικρόβια (περίτριχα).

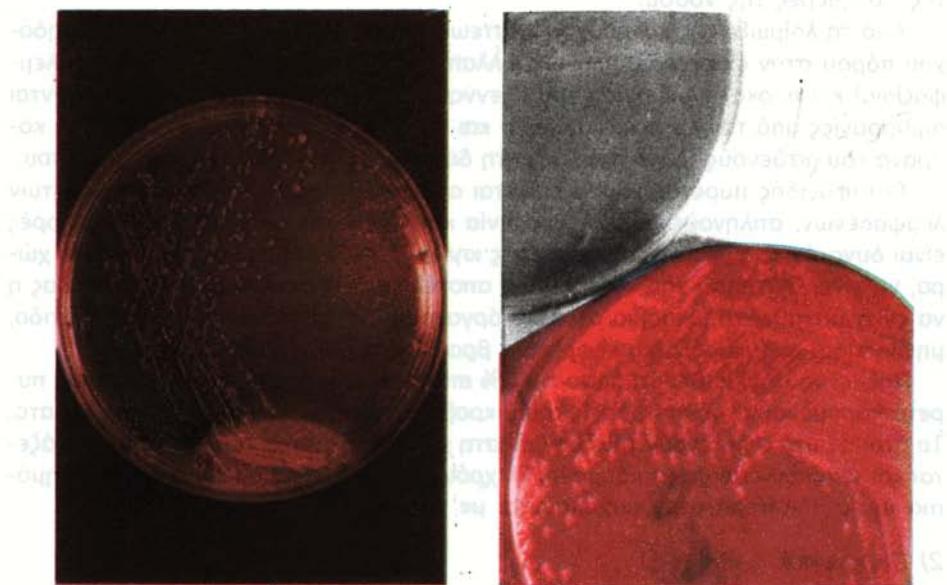
— Αναπτύσσονται σε υλικό που περιέχει κιτρικό νάτριο σαν μόνη πηγή άνθρακα. Η *S. typhi* αποτελεί εξαίρεση και δεν αναπτύσσεται σε υλικό με κιτρικό νάτριο σαν μόνη πηγή άνθρακα.

— Από τις λοιμώξεις με σαλμονέλλες, το 95% οφείλεται σε ορολογικούς τύπους σαλμονελλών οι οποίοι ανήκουν στην ομάδα A, B, C, D και E.

— Τα δείγματα τα οποία εξετάζονται για την απομόνωση σαλμονελλών, ιδιαίτερα αν πρόκειται για κόπρανα, εμβολιάζονται πρώτα και επωάζονται επί 24 ώρες σε εμπλουτιστικά υγρά θρεπτικά υλικά. Οι σαλμονέλλες πολλαπλασιάζονται και αυξάνει ο αριθμός τους (εμπλουτισμός) σε αυτά τα υλικά, ενώ αναστέλλεται η ανάπτυξη άλλων εντεροβακτηριοειδών. Τέτοια υλικά είναι ο ζωμός με τετραθειονικό νάτριο και ο ζωμός με σεληνιώδες νάτριο. Το τετραθειονικό νάτριο και το σεληνιώδες νάτριο επιτρέπουν την ανάπτυξη των σαλμονελλών, αλλά αναστέλλουν την ανάπτυξη άλλων εντεροβακτηριοειδών.

Από τα εμπλουτιστικά θρεπτικά υλικά γίνεται ανακαλλιέργεια σε στερεά εκλε-

κτικά Θρεπτικά υλικά. Τέτοια υλικά είναι το Mac Conkey άγαρ, το Deoxycholate Citrate άγαρ, DCA (περιέχει δεοξυχολικό νάτριο, κιτρικό νάτριο και θειοθεικό νάτριο σε ποσότητες που αναστέλλουν τα Gram-Θετικά βακτήρια και ορισμένα εντεροβακτηριοειδή) και το Brilliant Green άγαρ (περιέχει Brilliant green = στίλβον πράσινο, χρωστική ουσία η οποία σε πολύ μικρές ποσότητες αναστέλλει όλα τα εντεροβακτηριοειδή και την *S. typhi*, αλλά δεν αναστέλλει την ανάπτυξη των άλλων σαλμονέλλων) (σχ. 9.7a).



Σύγκλιση Η πολιτική που απορθεί την ανάπτυξη στην αγορά είναι η σταθερότητα των τιμών.

Αποκίνητες πλανουγέλλιες στο μαλάχιτο DCA (a) και το μαλάχιτο Brilliant green έγχρωμο (B).

δ) Παθογόνος δράση.

Οι νόσοι από σαλμονέλλες καλούνται **σαλμονελλώσεις**. Από σαλμονελλώσεις πάσχει ο άνθρωπος και τα ζώα. Ορισμένες σαλμονέλλες προσβάλλουν μόνο τον άνθρωπο, π.χ. η *S. typhi*, άλλες προσβάλλουν μόνο τα ζώα, ενώ οι περισσότερες προκαλούν νόσο στον άνθρωπο και τα ζώα, όπως π.χ. η *S. typhimurium*.

Στον άνθρωπο οι σαλμονέλλες προκαλούν εντερικό πυρετό (τυφοειδής πυρετός, παράτυφοι) και οξεία διαρροϊκή νόσο.

1) Τυφοειδής πυρετός.

Αίτιο του τυφοειδούς πυρετού είναι η *S. typhi*. Πρόκειται για συστηματική, σηψαιμική νόσο με δευτεροπαθή εντόπιση στο έντερο. Το μικρόβιο εισχωρεί στον οργανισμό από το στόμα, έρχεται στον εντερικό σωλήνα, περνά τον εντερικό

βλεννογόνο και φθάνει στους μεσεντέριους λεμφαδένες. Εκεί πολλαπλασιάζεται, και δια του θωρακικού πόρου φθάνει στην κυκλοφορία (πρωτοπαθής μικροβιαιμία). Η μικροβιαιμία αυτή είναι παροδική, επειδή τα φαγοκύτταρα του δικτυενδοθηλιακού συστήματος απομακρύνουν γρήγορα το μικροοργανισμό από την κυκλοφορία. Μέσα στα φαγοκύτταρα το μικρόβιο πολλαπλασιάζεται με αποτέλεσμα την καταστροφή των φαγοκυττάρων, την είσοδο του μικροβίου στο αίμα (δευτεροπαθής μικροβιαιμία) και την εξάπλωση της λοιμώξεως σε άλλους ιστούς. Στη φάση αυτή η *S. typhi* απομονώνεται από το αίμα του ασθενούς. Αυτό συμβαίνει τις πρώτες 10 ημέρες της νόσου.

Από τη λοιμώξη της χοληδόχου κύστεως το μικρόβιο έρχεται δια του χοληδόχου πόρου στον εντερικό σωλήνα. Πολλαπλασιάζεται στις παύέριες πλάκες (λεμφοζίδια) και προκαλεί νέκρωση του βλεννογόνου. Στη φάση αυτή παρατηρούνται αιμορραγίες από τον εντερικό σωλήνα και το μικρόβιο απομονώνεται από τα κόπρανα του ασθενούς. Αυτό συμβαίνει τη δεύτερη και τρίτη εβδομάδα της νόσου.

Ο τυφοειδής πυρετός χαρακτηρίζεται από ψηλό πυρετό, ρίγη, διόγκωση των λεμφαδένων, σπληνομεγαλία, λευκοπενία και κοιλιακούς πόνους. Μερικές φορές είναι δυνατόν να εμφανισθούν ερυθρές κηλίδες στο θώρακα και την κοιλιακή χώρα, να γίνει διάτρηση του εντέρου, με αποτέλεσμα την ανάπτυξη περιτονίτιδας ή να εγκατασταθεί το μικρόβιο σε άλλα όργανα και να προκαλέσει οστεομυελίτιδα, μηνιγγίτιδα, ενδοκαρδίτιδα, νεφρίτιδα, βρογχίτιδα και πνευμονία.

Πρέπει να σημειωθεί ότι ποσοστό 3% από τα άτομα που πέρασαν τυφοειδή πυρετό παραμένουν χρόνιοι φορείς του μικροβίου, χωρίς να εμφανίζουν ενοχλήματα. Τα άτομα αυτά φιλοξενούν την *S. typhi* στη χοληδόχο κύστη, όπου πολλαπλασιάζεται και αποβάλλεται με τα κόπρανα. Οι χρόνιοι φορείς είναι επικίνδυνοι στη δημόσια υγεία, ιδιαίτερα όταν ασχολούνται με τα τρόφιμα (μάγειροι).

2) Παράτυφοι.

Άλλες σαλμονέλλες, ιδιαίτερα η *S. paratyphi-A* και η *S. paratyphi-B*, εισέρχονται στην κυκλοφορία και προκαλούν νόσο, που μοιάζει κλινικά με τον τυφοειδή πυρετό, αλλά τα συμπτώματα της είναι σχετικά ελαφρότερα. Η *S. cholerae-suís* προκαλεί εντερικό πυρετό κυρίως στα παιδιά.

3) Οξεία διαρροϊκή νόσος.

Όλες οι σαλμονέλλες, εκτός από τη *S. typhi*, είναι δυνατόν να προκαλέσουν οξεία διαρροϊκή νόσο. Στην περίπτωση αυτή οι σαλμονέλλες παραμένουν στο έντερο, δεν εισχωρούν στο αίμα και δεν παρατηρείται μικροβιαιμία. Τα μικρόβια απομονώνονται μόνο από τα κόπρανα.

Η νόσος χαρακτηρίζεται από κοιλιακούς πόνους, ναυτία, εμμετούς και διαρροϊκές κενώσεις και συνοδεύεται από πυρετό που διαρκεί 1 ως 4 ημέρες.

Η διαρροϊκή νόσος αρχίζει μετά από 8 ως 48 ώρες από την κατανάλωση τροφίμων ζωικής προελεύσεως, κυρίως κρέατος, που έχουν μολυνθεί με σαλμονέλλες.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Αν υπάρχει υποψία εντερικού πυρετού, οι σαλμονέλλες αναζητούνται στο αίμα

τις πρώτες 10 ημέρες της νόσου, ενώ τη δεύτερη και τρίτη εβδομάδα αναζητούνται στα κόπρανα του ασθενούς.

Στην οξεία διαρροϊκή νόσο οι σαλμονέλλες αναζητούνται πάντοτε στα κόπρανα του ασθενούς.

1) Καλλιέργεια αίματος.

α) Λαμβάνονται 5 ml και εμβολιάζονται σε φιάλη, η οποία περιέχει 100 ml εμπλούτισμένου θρεπτικού ζωμού. Η φιάλη επωάζεται στους 37°C επί 24 ώρες.

β) Την επομένη γίνεται από το ζωμό ανακαλλιέργεια σε τρυβλία με Mac Conkey άγαρ και αιματούχο άγαρ.

γ) Αν παρατηρθεί ανάπτυξη στα στερεά θρεπτικά υλικά, γίνονται παρασκευάσματα από τις ύποπτες αποικίες και χρωματίζονται κατά Gram.

δ) Οι ύποπτες αποικίες εμβολιάζονται στο υλικό Kligler. Από τη καλλιέργεια στο υλικό Kligler γίνονται οι βιοχημικές δοκιμασίες για το χαρακτηρισμό του στελέχους, το οποίο έχει απομονωθεί.

ε) Από το Kligler γίνεται ανακαλλιέργεια σε θρεπτικό άγαρ. Η καλλιέργεια στο θρεπτικό άγαρ χρησιμεύει για την ορολογική τυποποίηση του στελέχους.

2) Καλλιέργεια κοπράνων.

α) Με ένα στυλεό λαμβάνεται δείγμα κοπράνων από πρόσφατη κένωση.

β) Το δείγμα των κοπράνων εμβολιάζεται αρχικά σε στερεά θρεπτικά υλικά και μετά σε δύο εμπλουτιστικούς ζωμούς. Τα στερεά θρεπτικά υλικά, τα οποία χρησιμοποιούνται, είναι: αιματούχο άγαρ, Mac Conkey άγαρ, Deoxycholate Citrate άγαρ και Brilliant green άγαρ. Οι εμπλουτιστικοί ζωμοί που χρησιμοποιούνται είναι ο ζωμός με σεληνιώδες νάτριο και ο ζωμός με τετραθειονικό νάτριο.

γ) Τα θρεπτικά υλικά επωάζονται στους 37°C επί 24 ώρες, ενώ ο ζωμός με το σεληνιώδες νάτριο επωάζεται επί 12 ως 16 ώρες.

δ) Την επομένη οι ύποπτες αποικίες καλλιεργούνται στο υλικό Kligler.

ε) Από τους εμπλουτιστικούς ζωμούς γίνεται ανακαλλιέργεια στα υλικά Mac-Conkey άγαρ, Deoxycholate Citrate άγαρ και Brilliant Green άγαρ.

στ) Οι ύποπτες αποικίες, οι οποίες αναπτύσσονται στα παραπάνω υλικά, μετά τον εμπλουτισμό, καλλιεργούνται επίσης στο υλικό Kligler.

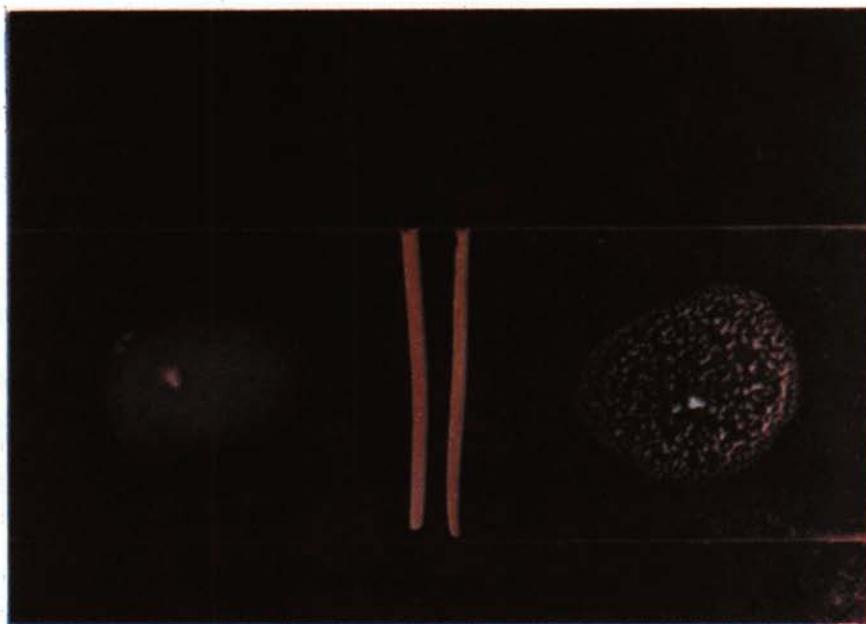
ζ) Η καλλιέργεια στο υλικό Kligler χρησιμεύει για τις παραπέρα βιοχημικές δοκιμασίες.

Σημείωση: Πρέπει πρώτα να γίνεται η δοκιμασία της παραγωγής φαινυλοπυροσταφιλικού οξέος από τη φαινυλαλανίνη (APP) για να αποκλεισθεί ότι το στέλεχος είναι Πρωτέας. Αν η δοκιμασία APP είναι αρνητική, γίνονται οι άλλες βιοχημικές δοκιμασίες, οι οποίες χρησιμεύουν για να χαρακτηρισθεί το στέλεχος ως Salmonella.

η) Από το υλικό Kligler το στέλεχος ανακαλλιεργείται σε θρεπτικό άγαρ. Η καλλιέργεια στο θρεπτικό άγαρ χρησιμεύει για την ορολογική τυποποίηση του στελέχους με τους ειδικούς αντι-O και αντι-H αρούς (σχ. 9.7β).

3) Ορολογική διάγνωση των τυφοπαρατυφικών λοιμώξεων.

'Όταν υπάρχει υποψία τυφοπαρατυφικής λοιμώξεως, είναι δυνατόν να αναζητη-



Σχ. 9.7β.

Η ορολογική τυποποίηση των σαλμονέλλων γίνεται επάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Εναιώρημα του στελέχους που εξετάζεται αναμιγνύεται με μία σταγόνα ειδικού αντι-O ορού για την ανεύρεση πρώτα της ομάδας. Η ίδια εργασία επαναλαμβάνεται με τους ειδικούς αντι-H ορούς για την ανεύρεση του ορολογικού τύπου. Παρατηρήσετε τη συγκόλληση της σαλμονέλλας με τον ειδικό αντι-O ορό στο δεξιό μέρος της αντικειμενοφόρου πλάκας. Στο αριστερό μέρος της πλάκας είναι μόνο το εναιώρημα του μικροβίου χωρίς την προσθήκη του ειδικού αντι-O ορού.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.7.3.

Η αντιγονική σύσταση ορισμένων σαλμονέλλών που απομονώνονται από λοιμώξεις του ανθρώπου.

Είδος	Ορότυπος	Ομάδα	Αντιγόνο - O	Αντιγόνο H	
				Φάση 1	Φάση 2
S. enteritidis	Paratyphi - A.	A	1, 2, 12	a	—
	Paratyphi - B	B	1, 4, 5, 12	b	1, 2
	Stanley	B	4, 5, 12	d	1, 2
	Derby	B	1, 4, 5, 12	f, g	—
	Reading	B	4, 5, 12	e, h	1, 5
	Typhimurium	B	1, 4, 5, 12	i	1, 2
	Heidelberg	B	1, 4, 5, 12	r	1, 2
S. choleraesuis	Thomson	C ₁	6, 7	c	1, 5
S. enteritidis	Infantis	C ₁	6, 7	k	1, 5
	Newport	C ₁	6, 7	r	1, 5
		C ₂	6, 8	e, h	1, 2
S. typhi	Dublin	D	9, 12, Vi	d	—
S. enteritidis	Anatum	D	1, 9, 12	g, p	—
S. enteritidis	Newington	E ₁	3, 10	e, h	1, 6
		E ₂	3, 15	e, h	1, 6

θούν αντισώματα στον ορό του αίματος των ασθενών. Τα αντισώματα είναι ειδικά για το σωματικό αντιγόνο Ο και το βλεφαριδικό αντιγόνο Η και αναζητούνται μετά την ενάτη ημέρα της νόσου, όταν ο τίτλος τους έχει ανεβεί σημαντικά και είναι δυνατή η ανίχνευση τους. Η δοκιμασία, με την οποία αναζητούνται τα αντισώματα εναντίον των σαλμονελλών, καλείται **αντίδραση Widal**. Η αντίδραση Widal είναι μία συγκολλητινοαντίδραση (βλ. βιβλίο Ανοσολογίας).

Στον πίνακα 9.7.3 αναφέρεται η αντιγονική σύσταση ορισμένων σαλμονελλών που απομονώνονται από λοιμώξεις του ανθρώπου.

9.8 Shigella.

Το γένος *Shigella* περιλαμβάνει 4 είδη: τη *S. dysenteriae*, τη *S. flexneri*, τη *S. boydii* και τη *S. sonnei*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram -αρνητικά βακτηρίδια.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσονται σε αερόβιες και προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργούνται με ευχέρεια στα κοινά θρεπτικά υλικά. Έχουν άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Ζυμώνουν τη γλυκόζη χωρίς την παραγωγή αερίου. Ορισμένα στελέχη της *S. flexneri* παράγουν αέριο από τη ζύμωση της γλυκόζης.
- Δεν ζυμώνουν τη λακτόζη. Περίπου 90% από τα στελέχη της *S. sonnei* διασπούν τη λακτόζη (βραδέως, μετά από 3 ως 4 ημέρες).
- Είναι ακίνητα μικρόβια.
- Δεν αναπτύσσονται σε υλικό που περιέχει σαν μόνη πηγή άνθρακα το κιτρικό νάτριο.
- Με βάση το σωματικό αντιγόνο Ο το κάθε είδος σιγκέλλας διακρίνεται σε ορολογικούς τύπους. Η *S. dysenteriae* έχει 10 ορολογικούς τύπους, η *S. flexneri* έχει 6 ορότυπους, η *S. boydii* έχει 15 ορότυπους και η *S. sonnei* έχει 1 μόνο ορολογικό τύπο.
- Οι σιγκέλλες διακρίνονται σε δύο ομάδες με βάση τη διάσπαση της μαννιτόλης. Η μία ομάδα διασπά τη μαννιτόλη (*S. flexneri*, *S. boydii* και *S. sonnei*) και η άλλη δεν διασπά την μαννιτόλη (*S. dysenteriae*).
- Οι σιγκέλλες και ιδιαίτερα η *S. sonnei* μοιάζουν πολύ με το γένος *Escherichia*, όσον αφορά την ειδικότητα του σωματικού αντιγόνου Ο. Η ομοιότητα αυτή επιβεβαιώνεται και από πειράματα γενετικής αναλύσεως που έχουν γίνει στα δύο γένη. Πολλοί προτείνουν η *E. coli* και η *Shigella* να θεωρηθούν σαν είδη ενός γένους (πίνακας 9.8.1)
- Οι σιγκέλλες δεν εισέρχονται στην κυκλοφορία και δεν προκαλούν μικροβιαιότητα.
- Η *S. dysenteriae* παράγει μία εντεροτοξίνη που προκαλεί την έκκριση ηλεκτρίσεων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.8.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό της *Escherichia* από τη *Shigella*.

Δοκιμασίες	Escherichia	Shigella
Αέριο από τη γλυκόζη	91	2.0
Διάσπαση της λακτόζης	91 (5)	0.3 (11)
Κινητικότητα	69	0
Παραγωγή ινδόλης	99	38
Αποκαρβοξυλίωση της λυσίνης	88 (1)	0
Αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης	63 (7)	20
Υδρόλυση της αργινίνης	17 (45)	7 (6)

Οι αριθμοί δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών, τα οποία δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 1 ως 2 ημέρες επιωάσεως.

() = οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών, τα οποία δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 3 ως 4 ημέρες επιωάσεως.

κτρολυτών από τα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου. Επίσης η *S. dysenteriae* εισδύει στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και τα καταστρέφει, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ελκών.

— Αναπτύσσονται στα στερεά θρεπτικά υλικά, τα οποία χρησιμοποιούνται για την απομόνωση των σαλμονελών, αλλά δεν αναπτύσσονται στο υλικό Brilliant green αγαρ (σχ. 9.8).

δ) Παθογόνος δράση.

Οι νόσοι από τις σιγκέλλες καλούνται **σιγκελλώσεις**. Χαρακτηρίζονται από πυρετό, κοιλιακούς πόνους και διάρροιες. Οι κενώσεις του ασθενός περιέχουν βλέννα και αίμα. Βαριά μορφή σιγκελλώσεως είναι εκείνη που προκαλεί η *S. dysenteriae*. Η *S. dysenteriae* εισχωρεί στον εντερικό βλεννογόνο και δημιουργεί έλκη στο τελικό τμήμα του ειλεού και σε ολόκληρο το παχύ έντερο. Ελαφρά μορφή σιγκελλώσεως είναι αυτή που προκαλεί η *S. sonnei*.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Οι σιγκέλλες αναζητούνται στα κόπρανα του ασθενούς.

α) Τα κόπρανα εμβολιάζονται στα στερεά θρεπτικά υλικά Mac Conkey άγαρ και Deoxycholate Citrate άγαρ.

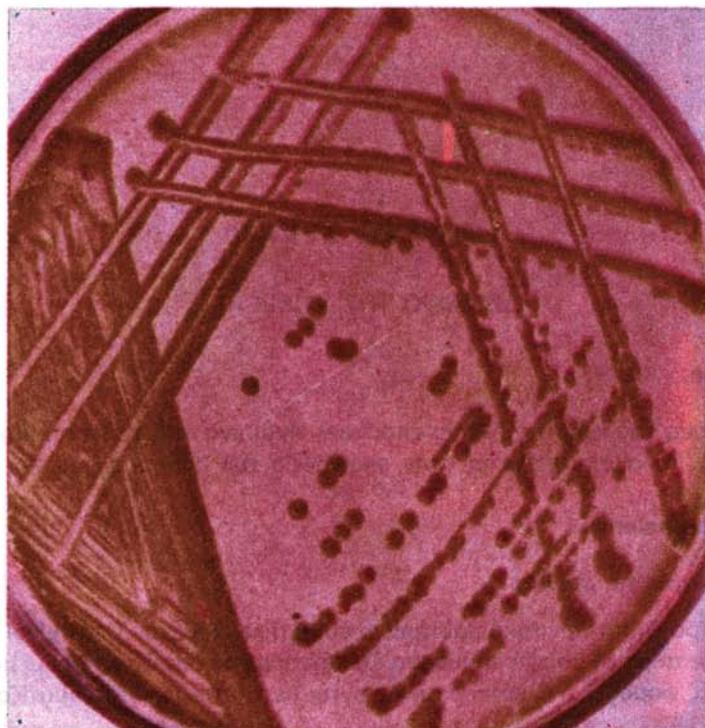
β) Οι ύποπτες αποικίες ανακαλλιεργούνται στο υλικό Kligler.

γ) Από το υλικό Kligler γίνονται οι βιοχημικές δοκιμασίες για την τυποποίηση του στελέχους.

δ) Από το υλικό Kligler γίνεται επίσης ανακαλλιέργεια σε θρεπτικό άγαρ.

ε) Η καλλιέργεια στο θρεπτικό άγαρ χρησιμεύει για την ορολογική τυποποίηση του στελέχους με τους ειδικούς αντι-Ο ορούς.

Στον πίνακα 9.8.2 αναφέρονται οι βιοχημικές ιδιότητες των ειδών του γένους *Shigella*.

**Σχ. 9.8.**

Πολλές άχροες αποικίες Σιγκέλλας (δεν διασπά τη λακτόζη) και λίγες κόκκινες αποικίες Κολοβακτηρίδιου (διασπά τη λακτόζη) στο υλικό Mac Conkey άγαρ.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.8.2.**Βιοχημικές ιδιότητες των ειδών του γένους *Shigella*.**

Ιδιότητες	<i>S. dysenteriae</i>	<i>S. flexneri</i> (ορότυποι 1 - 5)	<i>S. flexneri</i> (ορότυπος 6)	<i>S. boydii</i>	<i>S. sonnei</i>
Παραγωγή ινδόλης	44	61	0	29	0
Αποκαρβοξυλίωση της ορνιθίνης	0	0	0	0	99
Αέριο από τη γλυκόζη	0	0	18	0	0
Διάσπαση της λακτόζης	0 (1.6)	0	0	1	1.8(88)
Διάσπαση της μαννιτόλης	0	94	82.5	98	99
Διάσπαση της δουλμιτόλης	4.5	0	9 (73)	7 (10)	0(1)

Οι αριθμοί δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών, τα οποία δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 1 ως 2 ημέρες επωάσεως.

Οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών, τα οποία δίνουν θετική τη δοκιμασία μετά από 3 ως 4 ημέρες επωάσεως.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ

ΔΟΝΑΚΙΟ ΤΗΣ ΧΟΛΕΡΑΣ

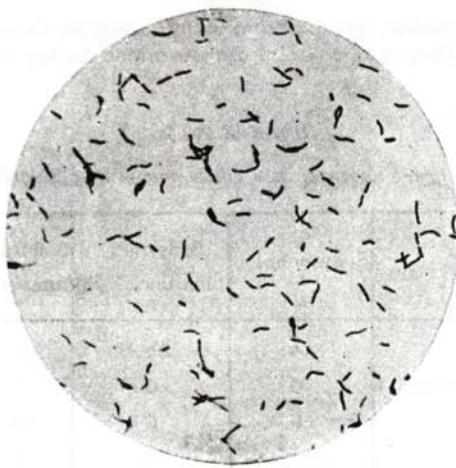
10.1 Γενικά.

Το Δονάκιο της χολέρας (*Vibrio cholerae*) είναι ένα από τα πέντε είδη του γένους *Vibrio*, το οποίο υπάγεται στην οικογένεια των *Vibrionaceae*.

10.2 *Vibrio cholerae*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι μικρό Gram-αρνητικό βακτηρίδιο ευθύ ή κεκαμμένο. Όταν είναι κεκαμμένο εμφανίζεται με τη μορφή κόμματος. Τα κύτταρα του διατάσσονται μεμονωμένα, ενώ μερικές φορές 2 ή 3 κύτταρα ενώνονται μεταξύ τους και σχηματίζουν ένα S (σχ. 10.1).



Σχ. 10.2.

Παρασκεύασμα δονακίου της χολέρας από αποικία σε κοινό θρεπτικό άγαρ.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες και προαιρετικά αναερόβιες συνθήκες. Καλλιεργείται με ευχέρεια στα κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως

τους 37°C, αλλά αναπτύσσεται εύκολα και σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 18° ως 37° C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

- Παράγει οξειδάση.
- Παράγει καταλάση.
- Διασπά τη γλυκόζη χωρίς την παραγωγή αερίου.
- Διασπά τη σουκρόζη.
- Διασπά βραδέως τη λακτόζη (μετά από 3 ή περισσότερες ημέρες επωάσεως).
- Παράγει ινδόλη από την τρυπτοφάνη.
- Είναι κινητό μικρόβιο. Φέρει μία βλεφαρίδα στον κάθε πόλο.
- Αναπτύσσεται σε θρεπτικά υλικά με αλκαλικό pH, από 8 ως 9. Η ιδιότητα αυτή του δονακίου χρησιμεύει για την απομόνωση του από τα κόπρανα, επειδή σ' αυτό το pH παρεμποδίζεται η ανάπτυξη του κολιοβακτηριδίου.
- Με βάση το σωματικό αντιγόνο O τα στελέχη του δονακίου της χολέρας κατατάσσονται σε 6 ομάδες. Τα στελέχη που προκαλούν χολέρα ανήκουν στην ομάδα 0:1. Τα στελέχη των άλλων ομάδων είναι δυνατόν να προκαλέσουν σποραδικά κρούσματα ελαφρού διαρροϊκού συνδρόμου, που μοιάζει με χολέρα.
- Τα στελέχη της ομάδας 0:1 διακρίνονται παραπέρα σε 3 υποομάδες ή ορότυπους με βάση την περιεκτικότητα τους στα τρία σωματικά αντιγόνα A, B και C. Η μία υποομάδα ή ορότυπος καλείται *Ogawa* και έχει τα αντιγόνα A και B, η δεύτερη υποομάδα ή ορότυπος καλείται *Inaba* και έχει τα αντιγόνα A και C, ενώ η τρίτη υποομάδα ή ορότυπος καλείται *Hikojima* και έχει και τα τρία αντιγόνα A, B και C.
- Εκτός από το κλασικό δονάκιο της χολέρας υπάρχει και ένας βιότυπος, το δονάκιο της χολέρας, βιότυπος El Tor. Ο βιότυπος El Tor απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1905 στο λοιμοκαθαρτήριο του El Tor στον κόλπο του Σουέζ. Η απομόνωσή του έγινε από τα κόπρανα των προσκυνητών που επέστρεφαν από τη Μέκκα. Ο βιότυπος El Tor έχει την ιδιότητα να παράγει μία διαλυτή αιμολυσίνη που προκαλεί λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων της αίγας και των προβάτων. Το κλασικό δονάκιο της χολέρας δεν παράγει διαλυτή αιμολυσίνη.
- Παράγει μία εξωτοξίνη, εντεροτοξίνη, που προκαλεί την έκκριση ηλεκτρολυτών και νερού στον αυλό του εντέρου, αλλά δεν προκαλεί βλάβες στον εντερικό βλεννογόνο. Η εντεροτοξίνη είναι υπεύθυνη για τη μεγάλη απώλεια υγρών που χαρακτηρίζει τη νόσο.
- Για την απομόνωση του μικροβίου χρησιμοποιούνται εμπλοουτιστικά υγρά θρεπτικά υλικά και εκλεκτικά στερεά θρεπτικά υλικά. Τα υλικά αυτά έχουν pH 8,5 ως 9. Σαν υγρά εμπλοουτιστικά θρεπτικά υλικά χρησιμοποιούνται το αλκαλικό πεπτονούχο ύδωρ (περιέχει πεπτόνη και NaCl) και ο αλκαλικός τελλοουριώδης - ταυροχολικός ζωμός (περιέχει ταυροχολικό νάτριο και τελλοουριώδες κάλιο): Ως στερεά εκλεκτικά θρεπτικά υλικά χρησιμοποιούνται το TCBS άγαρ (περιέχει θειοθεικό νάτριο, κιτρικό νάτριο, χολικά άλατα, σουκρόζη, και σαν δείκτη του pH κυανού της βρωμοθυμόλης) και το TTGA η Monsar άγαρ (περιέχει ταυροχολικό νάτριο, τελλοουριώδες κάλιο και πηκτή). Στο υλικό TCBS οι αποκίες του δονακίου της χολέρας έχουν κίτρινο χρώμα (διασπούν τη σουκρόζη, ενώ το υλικό έχει κυανοπράσινο

χρώμα). Στο υλικό TTGA η Monsur άγαρ οι αποικίες έχουν φαιομελανωπό κέντρο (αναγωγή του τελλουριώδους καλίου) και περιβάλλονται από ζώνη θολερότητας (ρευστοποίηση της πηκτής).

— Μετά από επώαση επί 18 ως 24 ώρες το δονάκιο της χολέρας δίνει τις ακόλουθες αντιδράσεις στο υλικό Kligler: Ζυμώνει τη γλυκόζη, χωρίς την παραγωγή αερίου· δεν ζυμώνει τη λακτόζη και δεν παράγει H_2S .

δ) Παθογόνος δράση.

Προκαλεί τη νόσο χολέρα. Η νόσος χαρακτηρίζεται από επώδυνες μυικές συσπάσεις στη κοιλιακή χώρα, εμετούς και πολλές διαρροϊκές κενώσεις που μοιάζουν με ριζόνερο. Ο ασθενής μπορεί να χάσει 10 ως 15 λίτρα υγρών την ημέρα, να φθάσει σε πλήρη αφυδάτωση και να καταλήξει στο θάνατο μέσα σε λίγες ώρες. Εκτός από τη βαριά μορφή χολέρας είναι δυνατόν να παρατηρηθούν και ελαφρές μορφές της νόσου, που χαρακτηρίζονται από μικρό αριθμό διαρροϊκών κενώσεων και διαρκούν από 1 ως 4 ημέρες.

Ο άνθρωπος μολύνεται με το μολυσμένο νερό, τα μολυσμένα τρόφιμα ή με άμεσο επαφή. Οι μεγάλες επιδημίες χολέρας οφείλονται στο μολυσμένο νερό.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το μικρόβιο απομονώνεται από τις υδαρείς κενώσεις:

α) Μέρος της κενώσεως εμβολιάζεται στα εμπλουτιστικά υγρά θρεπτικά υλικά, ενώ ένα άλλο μέρος εμβολιάζεται απευθείας στα στερεά εκλεκτικά θρεπτικά υλικά.

β) Μετά από 6 ως 8 ώρες επωάσεως γίνεται ανακαλλιέργεια από τα υγρά εμπλουτιστικά υλικά σε στερεά θρεπτικά υλικά.

Την επομένη οι ύποπτες αποικίες εμβολιάζονται στο υλικό Kligler.

δ) Από την καλλιέργεια σε υλικό Kligler γίνεται η δοκιμασία συγκολλήσεως με τον ειδικό πολυδύναμο αντί - O:1 ορό επάνω σε αντικειμενοφόρο πλάκα.

Εφόσον το στέλεχος συγκολλάται από τον ειδικό αντί - O:1 ορό, χαρακτηρίζεται ως *V. cholerae*.

Οι ιδιότητες του στελέχους που απομονώθηκε, ο διαχωρισμός μεταξύ *V. cholerae* και βιοτύπου *El Tor*, και ο ορότυπος η υποομάδα στην οποία ανήκει, αποτελούν εργασία που αναλαμβάνουν τα ειδικά Κεντρικά Εργαστήρια κάθε χώρας.

Στον πίνακα 10.2.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό κλασικού *V. cholerae* από το βιότυπο *V. cholerae*, *El Tor*.

10.3 *Vibrio parahaemolyticus*.

Το είδος αυτό βρίσκεται φυσιολογικά στο θαλάσσιο περιβάλλον. Είναι αίτιο οξείας διαρροϊκής νόσου και εμφανίζεται μετά την κατανάλωση ψαριών που είναι μολυσμένα με το μικρόβιο. Αποτελεί το συχνότερο αίτιο οξείας διαρροϊκής νόσου στην Ιαπωνία, όπου γίνεται μεγάλη κατανάλωση ψαριών. Κρούσματα της νόσου αναφέρονται και σε άλλες χώρες υπό την κατανάλωση μολυσμένων ψαριών και θαλασσινών.

Το *V. parahaemolyticus* διαφέρει από το *V. cholerae* στις ακόλουθες ιδιότητες:

ΠΙΝΑΚΑΣ 10.2.1.

Δοκιμασίες για το διάχωρισμό του κλασπού Vibrio cholerae από τον βιότυπο El Tor.

Δοκιμασίες	Vibrio cholerae	Vibrio cholerae, βιότυπος El Tor
Αιμολυσίη	0,0	72,0
Ευαισθησία στην Πολυμεξήνη	100,0	0,0
Voges Proskauer στη θερμοκρασία 22°C	8,6	94,0
Συγκάλληση των ερυθρών αιμοσφαιρίων της όρνιθας ¹	18,0	88,0

Οι αριθμοί δηλώνουν την εκαποσπαίδα αναλογία των στελεχών που δίνουν θετική τη δοκιμασία.
¹ = μία σταγόνα εναιωρήματος ερυθρών αιμοσφαιρίων όρνιθας αναμιγνύεται με μία σταγόνα πυκνού εναιωρήματος του μικροβίου επάνω σε αντικείμενοφόρο πλάκα.

Όταν το αποτέλεσμα είναι θετικό, τα ερυθρά αιμοσφαιρία συγκολλούνται μέσα σε 10 λεπτά.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΔΕΚΑΤΟ

ΨΕΥΔΟΜΟΝΑΔΑ

11.1 Γενικά.

Το γένος *Pseudomonas* ανήκει στην οικογένεια *Pseudomonadaceae* και περιλαμβάνει πολλά είδη. Τα περισσότερα είδη ζουν ελεύθερα στο φυσικό περιβάλλον (χώμα, νερό, θάλασσα κλπ.). Ορισμένα είδη προκαλούν νόσους στα φυτά, ενώ άλλα είδη είναι ευκαιριακά παθογόνα μικρόβια για τον άνθρωπο και τα ζώα.

Το συχνότερο αίτιο λοιμώξεων από ψευδομονάδες στον άνθρωπο είναι η *Pseudomonas aeruginosa*. Άλλες ψευδομονάδες που είναι δυνατόν να απομονωθούν από λοιμώξεις του ανθρώπου αλλά σε πολύ μικρότερη αναλογία από την *P. aeruginosa* είναι τα είδη: *P. fluorescens*, *P. maltophilia*, *P. cepacia*, *P. stutzeri*, *P. mallei* και *P. pseudomallei*.

11.2 *Pseudomonas aeruginosa*.

a) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram-αρνητικό βακτηρίδιο και τα κύτταρα του διατάσσονται μεμονωμένα, σε ζεύγη ή σε μικρές αλυσίδες.

β) Καλλιέργεια.

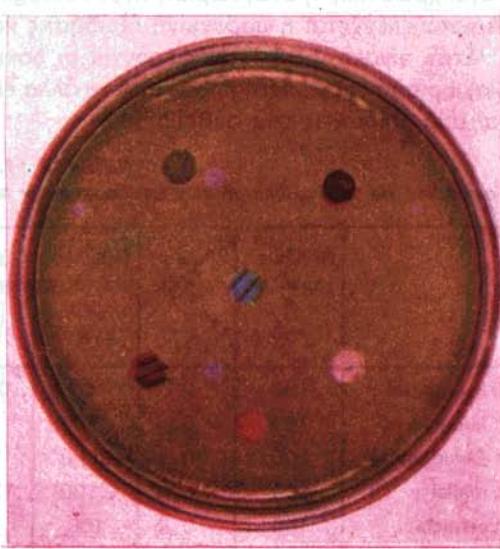
Αναπτύσσεται μόνο σε αερόβιες συνθήκες. Καλλιεργείται με ευχέρεια στα κοινά θρεπτικά υλικά. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37°C.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

Η *P. aeruginosa* έχει τις ακόλουθες ιδιότητες, που απαντούν σε όλα τα στελέχη του είδους:

- Παράγει καταλάση.
- Παράγει οξειδάση.
- Διασπά οξειδωτικώς τη γλυκόζη χωρίς την παραγωγή αερίου.
- Δεν ζυμώνει τη γλυκόζη.
- Προκαλεί οξειδωτική διάσπαση του γλυκονικού καλίου και παράγεται 2 - κετογλυκονικό κάλιο.
- Δεν διασπά τη μαλτόζη.
- Δεν διασπά τη λακτόζη.

- Δεν παράγει H_2S .
- Αναπτύσσεται στους $42^{\circ}C$.
- Η *P. aeruginosa* έχει τις ακόλουθες ιδιότητες, που όμως δεν υπάρχουν σε όλα τα στελέχη αλλά σε ένα μεγάλο αριθμό στελεχών του είδους:
 - Είναι κινητό μικρόβιο (περισσότερα από 90% από τα στελέχη), και έχει μία μόνο βλεφαρίδα στον κάθε πόλο.
 - Προκαλεί υδρόλυση της αργινίνης (περίπου 96% ως 98% από τα στελέχη).
 - Παράγει μία κυανοπράσινη χρωστική, την **πιοκυανίνη**, η οποία είναι διαλυτή στο νερό και το χλωροφόριμο. **Από όλα τα είδη φευδομονάδας μόνο η *P. aeruginosa* παράγει πιοκυανίνη.** Στελέχη που παράγουν πιοκυανίνη χαρακτηρίζονται εύκολα ως *P. aeruginosa* και δεν χρειάζονται άλλες δοκιμασίες για την τυποποίηση του μικροβίου. Τα μισά περίπου από τα στελέχη *P. aeruginosa* παράγουν τη χρωστική (σχ. 11.2).



Σχ. 11.2.

Καλλιέργημα στελέχους *P. aeruginosa* που παράγει πιοκυανίνη.

- Ορισμένα στελέχη παράγουν και άλλες χρωστικές, όπως τη φθορεσείνη, την πυορουμπίνη και την πυομελανίνη. Η φθορεσείνη είναι πρασινοκίτρινη χρωστική διαλυτή στο νερό αλλά όχι διαλυτή στο χλωροφόριμο. Καλλιέργειες του μικροβίου που παράγουν φθορεσείνη φθορίζουν, όταν προστέσει υπεριώδης ακτινοβολία. Η πυορουμπίνη είναι κόκκινη χρωστική και η πυομελανίνη έχει χρώμα καστανόμαυρο.

δ) Παθογόνος δράση.

Η *P. aeruginosa* είναι ευκαιριακό παθογόνο μικρόβιο για τον άνθρωπο. Οι λοιμώξεις από *P. aeruginosa* αφορούν κυρίως άτομα που νοσηλεύονται σε νοσοκομεία (νοσοκομειακές λοιμώξεις). Λοιμώξεις από *P. aeruginosa* παρατηρούνται κυρίως σε ασθενείς που πάσχουν από λευχαιμία ή άλλες νεοπλασίες, σε εγκαυματίες,

σε άτομα που έχουν υποστεί μεγάλες χειρουργικές επεμβάσεις και σε ασθενείς που θεραπεύονται με ακτινοθεραπεία, αντιβιοτικά και ανοσοκαταστατικά φάρμακα.

H. P. aeruginosa είναι δυνατόν να προκαλέσει ουρολοιμώξεις, μηνιγγίτιδα, στηφαιμία, πνευμονία, μέση πυρετό, ωτίτιδα, διαπυήσεις τραυμάτων και βαριά γαστρεντερίτιδα.

Χαρακτηριστικό της *P. aeruginosa* είναι η ανθεκτικότητα της στα περισσότερα από τα συνηθισμένα αντιβιοτικά. Η ιδιότητα αυτή κάνει τις λοιμώξεις από *P. aeruginosa* επικίνδυνες ιδιαίτερα για τα άτομα που είναι επιβαρυμένα από άλλη νόσο.

ε) *Μικροβιολογική διάγνωση.*

Η αναγνώριση της *P. aeruginosa* είναι εύκολη, αν το στέλεχος που απομονώνεται, παράγει τη χρωστική πιοκουανίνη. Η πιοκουανίνη διαχέεται στο υλικό καλλιέργειας και το χρωματίζει κυανοπράσινο. Αν το στέλεχος που απομονώνεται δεν παράγει χρωστική, η αναγνώριση της *P. aeruginosa* γίνεται με μία σειρά δοκιμασιών. Αρχικά ελέγχεται η παραγωγή οξειδάσης και ακολουθούν οι άλλες δοκιμασίες.

Στον πίνακα 11.2.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες που χρησιμοποιούνται για το διαχωρισμό της *P. aeruginosa* από τα άλλα είδη ψευδομονάδων που απομονώνονται από λοιμώξεις του ανθρώπου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 11.2.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό των ψευδομονάδων που απομονώνονται στο κλινικό εργαστήριο.

	Οξείδωση γλυκόζης	Ζύμωση γλυκόζης	Οξείδωση μαλτόζης	Οξείδωση λακτόζης	Οξειδάση	Οξειδωση κετογλυκόνικού καλίου	Πιοκυανίνη	Ανάπτυξη στους 42°C
<i>P. aeruginosa</i>	100	0	0	0(35)	100	100	58	100
<i>P. fluorescens</i>	100	0	70	26	100	70	0	0
<i>P. pseudomallei</i>	100	0	96(4)	100	100	0	0	100
<i>P. mallei</i>	100	0	0(100)	17(83)	67	0	0	0
<i>P. cepacia</i>	100	0	100	100	90	12	0	71
<i>P. stutzeri</i>	100	0	100	0	100	2	0	100
<i>P. maltophilia</i>	56(44)	0	100	0	0	0	0	10

Οι αριθμοί δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών που δίνουν τη δοκιμασία θετική. () = οι αριθμοί μέσα σε παρένθεση δηλώνουν την εκατοστιαία αναλογία των στελεχών, τα οποία δίνουν τη δοκιμασία θετική μετά από 3 ημέρες επωάσεως ή και αργότερα.

πολύ πολύ περισσότερο. Η απόσταση μεταξύ των γενετικών γεγονότων είναι σημαντική για την απόδοση των γενετικών διαδικασιών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΩΔΕΚΑΤΟ

ΚΟΡΥΝΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ

12.1 Γενικά.

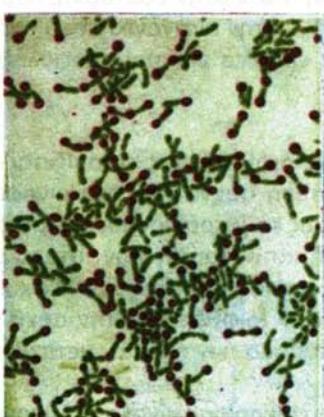
Το γένος *Corynebacterium* περιλαμβάνει πολλά είδη. Ορισμένα είδη είναι παθογόνα για τα ζώα και τα φυτά, ενώ άλλα είδη αποτελούν μέρος της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας του ανθρώπου. Παθογόνο για τον άνθρωπο είναι το *Corynebacterium diphtheriae*.

12.2 *Corynebacterium diphtheriae* (Κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας).

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι Gram-θετικό βακτηρίδιο. Το μέγεθος και το σχήμα των κυττάρων του ποικίλουν. Συνήθως τα κύτταρα είναι διογκωμένα στο ένα άκρο και παίρνουν το σχήμα κορύνας, και διατάσσονται σε ζεύγη και σε σχηματισμούς που μοιάζουν με τα γράμματα L και V ή με κινέζικα γράμματα.

Χαρακτηριστικό γνώρισμα της μορφολογίας των κυττάρων του μικροβίου είναι η παρουσία στο κυτταρόπλασμα κοκκίνων (κοκκία βολουτίνης), τα οποία χρωματίζονται διαφορετικά από το υπόλοιπο κύτταρο, όταν χρησιμοποιούνται διάφορες ειδικές χρώσεις (π.χ. χρώση Neisser, Loeffler ή Albert). Τα κοκκία αυτά καλούνται **αλλόχρωμα ή μεταχρωματικά κοκκία** και βρίσκονται κυρίως στους πόλους του κυττάρου (σχ. 12.1).



Σχ. 12.1.

Παρασκεύασμα Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας που έχει χρωματισθεί με τη χρώση Albert. Παρατηρήστε τα αλλόχρωμα κοκκία.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες στους 37°C. Η καλλιέργειά του γίνεται σε κοινά θρεπτικά υλικά, αλλά η παρουσία ορού αίματος ευνοεί τη γρήγορη και άφθονη ανάπτυξη του μικροβίου. Κατάλληλο θρεπτικό υλικό για την καλλιέργεια του μικροβίου είναι το υλικό Loeffler, που περιέχει ορό αίματος ζώου (αλόγου ή βοδιού ή προβάτου) 750 ml, θρεπτικό ζωμό 250 ml και γλυκόζη 2,5 g. Το υλικό αποστειρώνεται αφού πρώτα διανεμηθεί σε αποστειρωμένους σωλήνες (2,5 ml) και τοποθετηθούν οι σωλήνες σε λοξή θέση. Η αποστείρωση γίνεται στους 75° C επί 2 ώρες κάθε ημέρα και επί 3 διαδοχικά ημέρες. Σ' αυτή τη θερμοκρασία ο ορός πήζει με αποτέλεσμα το υλικό να στερεοποιείται σε λοξή θέση.

Σαν εκλεκτικά θρεπτικά υλικά για την καλλιέργεια του μικροβίου χρησιμοποιούνται εκείνα που περιέχουν θρεπτικό άγαρ, τίμα και τελλουριώδες κάλιο σε αναλογία 0,04%. Το τελλουριώδες κάλιο αναστέλλει την ανάπτυξη των περισσοτέρων ειδών βακτηρίων, τα οποία αποτελούν τη φυσιολογική χλωρίδα της ανώτερης αναπνευστικής οδού. Στα υλικά αυτά οι αποικίες του Κορυνοβακτηριδίου της διφθερίτιδας έχουν χρώμα φαιό μέχρι μαύρο, επειδή το μικρόβιο ανάγει το τελλουριώδες κάλιο.

γ) Τοξικές ουσίες.

Παράγει μία εξωτοξίνη που είναι υπεύθυνη για τη νόσο διφθερίτιδα. Η τοξίνη αυτή είναι πολύ τοξική ουσία. Αναφέρεται χαρακτηριστικά ότι 30 περίπου γραμμάρια τοξίνης Κορυνοβακτηριδίου της διφθερίτιδας είναι αρκετά για να φονεύσουν πληθυσμό 10.000 000 ανθρώπων. Η εξωτοξίνη είναι θερμοευαίσθητη, έχει μ.β. 62 000 και αποτελείται από 2 πολυπεπτιδικά κλάσματα, το A (μ.β. 24 000) και το B (μ.β. 38 000), που συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό. Το κλάσμα B χρησιμεύει για την προσκόλληση της τοξίνης στη μεμβράνη των κυττάρων, ενώ το κλάσμα A εισχωρεί μέσα στα κύτταρα και αναστέλλει την πρωτεΐνοσύνθεση.

Όταν επιδράσει φορμόλη 4,5% στην εξωτοξίνη, λαμβάνεται η ατοξίνη που ενώ δεν έχει τοξική δράση, διατηρεί την αντιγονική ισχύ και ειδικότητα της εξωτοξίνης. Η ατοξίνη χρησιμεύει σαν εμβόλιο για την προφύλαξη από τη νόσο.

δ) Παθογόνος δράση.

Το Κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας εντοπίζεται αρχικά στις αρμυγδαλές και τα παρίσθιμια και σε μικρότερη συχνότητα στο ρινοφάρυγγα ή το λάρυγγα.

Στο σημείο της εντοπίσεως το μικρόβιο πολλαπλασιάζεται και παράγει την εξωτοξίνη που προκαλεί τοπική καταστροφή των ιστών, με αποτέλεσμα τη συρροή λευκών αιμοσφαιρίων, την εναπόθεση εξιδρώματος και το σχηματισμό των χαρακτηριστικών ψευδομεμβρανών (διφθέρες). Στην αρχή οι ψευδομεμβράνες έχουν άσπρο χρώμα, που με την πάροδο των ημερών μετατρέπεται σε φαιό μέχρι καστανό ρυθμό.

Αν η αρχική εντόπιση του μικροβίου είναι στο λάρυγγα, η ψευδομεμβράνη μπορεί να αποκλείσει την αεροφόρο οδό και να προκαλέσει το θάνατο από ασφυξία.

Από το σημείο της εντοπίσεως του μικροβίου, η εξωτοξίνη έρχεται στην κυκλοφορία (τοξιναιμία) και προσβάλλει διάφορα όργανα. Η παραγωγή μεγάλου πο-

σου τοξίνης προκαλεί εκφύλιση των κυττάρων του καρδιακού μυός με συνέπεια την εμφάνιση καρδιακής ανεπάρκειας και το θάνατο του ασθενή 3 ημέρες μετά την έναρξη της νόσου. Η παραγωγή μικρών ποσών τοξίνης προκαλεί παράλυση της μαλθακής υπερώας, των μυών του οφθαλμού και των άκρων.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το υλικό που εξετάζεται για την απομόνωση του Κορυνοβακτηριδίου της διφθερίτιδας είναι επίχρισμα του φάρυγγα, που το παίρνομε με αποστειρωμένο βαμβακοφόρο στυλεό.

Λαμβάνονται δύο δείγματα επιχρίσματος: Το ένα χρησιμοποιείται για να γίνουν άμεσα παρασκευάσματα και το δεύτερο εμβολιάζεται στα κατάλληλα θρεπτικά υλικά.

1) Άμεσα παρασκευάσματα.

Γίνονται δύο άμεσα παρασκευάσματα. Το ένα χρωματίζεται κατά Gram και το άλλο με μία από τις ειδικές χρώσεις για τη διαπίστωση της παρουσίας μεταχρωματικών κοκκίων.

Η ανεύρεση βακτηριδίων, που έχουν τη μορφολογία του Κορυνοβακτηριδίου της διφθερίτιδας, δεν προσφέρει μεγάλη βοήθεια, επειδή και άλλα σαπροφυτικά βακτηρίδια του φάρυγγα εμφανίζουν την ίδια μορφολογία και έχουν μεταχρωματικά κοκκία. Το αποτέλεσμα αυτής της εξετάσεως χρησιμεύει μόνο σαν ένδειξη για το Εργαστήριο και δεν έχει αξία να ανακοινωθεί στην Κλινική.

2) Καλλιέργεια.

Το επίχρισμα του φάρυγγα καλλιεργείται στο υλικό Loeffler, σε υλικό με τελλουριώδες κάλιο και σε ένα αιματούχο άγαρ. Το αιματούχο χρειάζεται για τη διαπίστωση β-αιμολυτικών στρεπτοκόκκων ομάδας A, που δυνατόν να είναι υπεύθυνοι για τη φλεγμονή των αιμυγδαλών.

— Από τις ύποπτες αποικίες γίνονται παρασκευάσματα και χρωματίζονται κατά Gram και με μία από τις ειδικές χρώσεις για τη διαπίστωση της παρουσίας των μεταχρωματικών κοκκίων.

— Οι ύποπτες αποικίες, που τα κύπταρά τους έχουν τη μορφολογία του κορυνοβακτηριδίου, ανακαλλιεργούνται στο υλικό Loeffler και μετά την ανάπτυξή τους ελέγχονται με διάφορες βιοχημικές δοκιμασίες για να διαπιστωθεί αν πρόκειται για Κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας ή για άλλο είδος σαπροφυτικού Κορυνοβακτηριδίου.

— Αν το στέλεχος, που έχει απομονωθεί, είναι Κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας, ελέγχεται για την παραγωγή τοξίνης. Σε ένα τρυβλίο με θρεπτικό άγαρ, ορό κουνελιού και τελλουριώδες κάλιο τοποθετείται τεμάχιο διηθητικού χαρτιού που έχει εμποτισθεί σε αντιτοξικό ορό (περιέχει αντισώματα-αντιτοξίνες - εναντίον της εξωτοξίνης. Παράγεται αν χορηγήσομε αποξίνη σε ζώο). Κάθετα στο διηθητικό χαρτί εμβολιάζεται το στέλεχος και το τρυβλίο επωάζεται επί 18 ως 24 ώρες στους 37° C. Αν το στέλεχος είναι τοξινογόνο, η τοξίνη του θα αντιδράσει με τα αντισώματα του αντιτοξικού ορού και θα σχηματισθεί μία γραμμή καθιζήσεως ε-

πάνω στο θρεπτικό υλικό και σε απόσταση 2 ως 5 mm άπό το διηθητικό χαρτί. Η γραμμή καθίζησεως είναι ορατή με γυμνό μάτι.

Σημείωση: Εξωτοξίνη δεν παράγεται από όλα τα στελέχη Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας, ενώ ένα άλλο είδος, το *C. ulcerans*, παράγει σπανίως εξωτοξίνη που σχηματίζει γραμμή καθίζησεως με αντιοξικό όρο ειδικό για την εξωτοξίνη του Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας. Τα μη ταξινογόνα στελέχη Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας δεν είναι παθογόνα.

Στο πίνακα 12.2.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό του Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας από άλλα είδη κορυνοβακτηρίδιων, που αποτελούν μέρος της φυσιολογικής χλωρίδας του ανθρώπου.

ΠΙΝΑΚΑΣ 12.2.1.

Δοκιμασίες για το διαχωρισμό του Κορυνοβακτηρίδιου της διφθερίτιδας από τα άλλα είδη Κορυνοβακτηρίδιου που απομονώνονται από τον άνθρωπο.

Είδος	Δοκιμασίες					
	Γλυκόζης	Μαλτόζης	Σουκρόζης	Τρεαλόζης	Παραγωγής Ουρεάσης	Καταλάσης
<i>C. diphtheriae</i>	+	+	-	-	-	+
<i>C. ulcerans</i>	+	+	-	+	+	+
<i>C. haemolyticum</i>	+	+	+ ή -	-	-	-
<i>C. hoffmannii</i>	-	-	-	-	+	+
<i>C. xerosis</i>	+	+	+	-	-	+

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΡΙΤΟ

ΜΥΚΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΑ

13.1 Γενικά.

Το γένος *Mycobacterium* ανήκει στην οικογένεια *Mycobacteriaceae* και περιλαμβάνει πολλά είδη. Από τα διάφορα είδη ορισμένα είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και διάφορα ζώα (βοοειδή, πτηνά, ποντίκια και ψυχρόδαιμα ζώα), ενώ άλλα είδη ζουν ελεύθερα στο περιβάλλον (χώμα, νερό) και δεν προκαλούν νόσο.

Το μεγαλύτερο ποσοστό λοιμώξεων από μυκοβακτηρίδια στον άνθρωπο οφείλεται στο *Mycobacterium tuberculosis* (Μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως) και σε πολύ μικρότερη συχνότητα ακολουθούν οι λοιμώξεις από το *Mycobacterium bovis* (Μυκοβακτηρίδιο του βοδιού). Τα τελευταία χρόνια έχει βρεθεί ότι και ορισμένα άλλα είδη μυκοβακτηρίδιου ασκούν παθογόνο δράση στον άνθρωπο. Οι λοιμώξεις από αυτά τα είδη μυκοβακτηρίδιου εντοπίζονται στους πνεύμονες, λεμφαδένες, δέρμα και ουροποιητικό σύστημα, και το ποσοστό τους είναι περίπου 5% ως 10% από όλες τις λοιμώξεις που οφείλονται γενικά σε μυκοβακτηρίδια.

Εκτός από το *M. tuberculosis* και το *M. bovis* τα άλλα μυκοβακτηρίδια, που απομονώνονται στο κλινικό εργαστήριο, κατατάσσονται σε 4 ομάδες. Οι ομάδες αυτές περιλαμβάνουν διάφορα είδη, από τα οποία άλλα είναι παθογόνα και άλλα δεν είναι παθογόνα για τον άνθρωπο.

Η κατάταξη των μυκοβακτηρίδιων σε ομάδες βασίζεται στην παραγωγή χρωστικής, και στην ταχύτητα με την οποία αναπτύσσονται στα θρεπτικά υλικά.

Η ομάδα I περιλαμβάνει μυκοβακτηρίδια που είναι φωτοχρωμογόνα (παράγουν χρωστική στο φως) και αναπτύσσονται βραδέως (3. ως 4 εβδομάδες).

Η ομάδα II περιλαμβάνει μυκοβακτηρίδια που είναι σκοτοχρωμογόνα (παράγουν χρωστική στο σκοτάδι ή στο φως) και αναπτύσσονται βραδέως.

Η ομάδα III περιλαμβάνει μυκοβακτηρίδια τα οποία δεν είναι χρωμογόνα και αναπτύσσονται ταχέως (σε διάστημα λιγότερο από μία εβδομάδα).

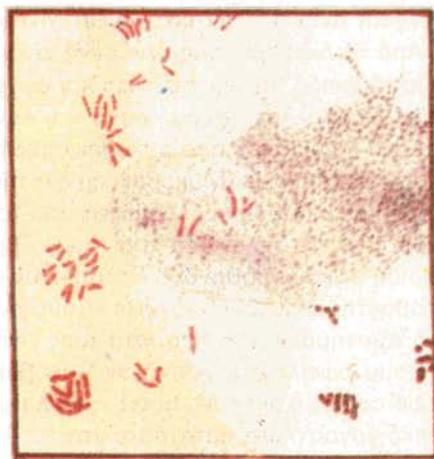
Στο κεφάλαιο αυτό θα αναπτύξουμε το Μύκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως και θα αναφέρουμε λίγα για τους χαρακτήρες των άλλων μυκοβακτηρίδιων, που απομονώνονται στο κλινικό εργαστήριο. Το κεφάλαιο θα κλείσει με το αίτιο της λέπρας, το *M. leprae*.

13.2 *Mycobacterium tuberculosis* (Μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως).

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι βακτηρίδιο ευθύ, ενώ μερικές φορές εμφανίζει μικρή κάμψη. Τα κύτταρα του διατάσσονται σε ζεύγη, παράλληλες σειρές ή σωρούς. Είναι Gram-θετικό βακτηρίδιο, αλλά η χρώση του είναι πολύ δύσκολη.

Είναι οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο, δηλαδή, αν μετά από ειδική επεξεργασία χρωματίσθει με μία βασική χρωστική, δεν αποχρωματίζεται όταν προστεθεί στο παρασκεύασμα αιθυλική αλκοόλη, που περιέχει 3% HCl. Η ιδιότητα αυτή οφείλεται στην παρουσία ενός λιπαρού οξέος, του μυκολικού οξέος, στο κυτταρικό τοίχωμα του μικροβίου. Η ειδική χρώση που χρησιμοποιείται για το Μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως καλείται **χρώση Ziehl - Neelsen**. Με τη χρώση Ziehl - Neelsen το μυκοβακτηρίδιο χρωματίζεται κόκκινο, ενώ τα άλλα βακτήρια χρωματίζονται κυανά (σχ. 13.2a).



Σχ. 13.2a.

Παρασκεύασμα πτυέλων που εχει χρωματισθει με τη χρώση Ziehl-Neelsen. Παρατηρήσατε τα κύτταρα του Μυκοβακτηρίδιου της φυματιώσεως τα οποία έχουν κόκκινο χρώμα, σε αντίθεση με το κυανό χρώμα που έχουν τα άλλα μικρόβια.

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες, αλλά καλύτερη ανάπτυξη παρατηρείται σε ατμόσφαιρα CO_2 10%. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 37°C . Η καλλιέργειά του γίνεται σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά που περιέχουν ζωικό λεύκωμα. Το υλικό που χρησιμοποιείται στην καθημερινή πράξη είναι το Löwenstein - Jensen. Το υλικό Löwenstein - Jensen περιέχει αυγά, πατατάλευρο, γλυκερίνη, ασπαραγίνη, δισοξινο-φωσφορικό κάλιο, θειικό μαγνήσιο, κιτρικό μαγνήσιο και μια χρωστική, το πράσινο του μαλαχίτη. Το υλικό φέρεται σε λοξή θέση μέσα σε σωληνάρια που κλείνουν με κοχλιωτό ή ελαστικό πώμα. Στο υλικό Löwenstein - Jensen το μυκοβακτηρίδιο αναπτύσσεται βραδέως. Το υλικό ελέγχεται για την α-

νάπτυξη του μικροβίου κάθε εβδομάδα και για 6 συνολικά εβδομάδες. Αν δεν παρατηρηθεί ανάπτυξη μέσα σε 6 εβδομάδες, το υλικό επωάζεται για άλλες 4 εβδομάδες, πριν δοθεί αρνητική απάντηση.

Οι αποικίες του μικροβίου είναι μικρές, ξηρές, υποκίτρινες με ρυτιδώδη επιφάνεια και ανώμαλη περιφέρεια (σχ. 13.2β).



Σχ. 13.2β.

Υποκίτρινες, ρυτιδώδεις αποικίες του Μυκοβακτηρίδιου της φυματιώσεως στο υλικό Löwenstein-Jensen.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

1) Κυτταρικό τοίχωμα.

Το κυτταρικό τοίχωμα είναι πλούσιο σε λιπίδια, που αποτελούν το 60% από το ξηρό βάρος του. Στο κυτταρικό τοίχωμα βρίσκονται: γλυκολιπίδια, κηροί (εστέρες λιπαρών οξέων με λιπαρές αλκοόλες), κηρός D (πολύπλοκο μόριο που είναι ένα γλυκολιποπεπτίδιο και αποτελείται από μυκολικό οξύ και ένα γλυκοπεπτίδιο) και ο σχοινιοειδής παράγοντας (cord factor), που είναι ένα γλυκολιπίδιο και αποτελείται από τρεαλόζη και δύο μόρια μυκολικού οξέος. Από τα λιπαρά οξέα του κυτταρικού τοιχώματος, τα μυκολικά οξέα βρίσκονται μόνο στα μυκοβακτηρίδια, τα κορυνοβακτηρίδια και τις νοκάρδιες. Τα διάφορα συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος έχουν διάφορες βιολογικές ιδιότητες. Ειδικότερα, ο σχοινιοειδής παράγοντας θεωρείται ότι συμβάλλει στη λοιμογόνο δύναμη του μικροβίου. Στελέχη μυκοβακτηρίδιου, από τα οποία απομακρύνεται (εκχύλιση με αιθέρα) ο σχοινιοειδής παράγοντας, χάνουν τη λοιμογόνο δύναμη, αλλά παραμένουν ζωντανά. Επίσης, η υποδόρια χορήγηση του σχοινιοειδούς παράγοντα σε ποντίκια προκαλεί το θάνατο σε πολύ μικρές δόσεις.

2) Φυματίνη.

Η φυματίνη είναι μίγμα θερμοσανθεκτικών πρωτεΐνών με μικρό μοριακό βάρος, από 2000 ως 9000. Παραλαμβάνεται από το διήθημα καλλιεργήματος Μυκοβακτηριδίου της φυματιώσεως σε υγρό θρεπτικό υλικό που έχει αποστειρωθεί στο αυτόκλειστο. Η φυματίνη χρησιμοποιείται για την εκτέλεση της φυματινατιδράσεως Mantoux, με την οποία ελέγχουμε αν ένα άτομο έχει υποστεί λοίμωξη στο παρελθόν με το Μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως. Στην αντίδραση Mantoux η φυματίνη χορηγείται ενδοδερμικώς στο βραχίονα. Όταν η αντίδραση είναι θετική (το άτομο έχει νοσήσει στο παρελθόν), εμφανίζεται μετά 48 ως 72 ώρες ερυθρότητα και σκλήρυνση του δέρματος που έχει διάμετρο ίση ή μεγαλύτερη από 5 mm.

3) BCG (*Bacillus Calmette - Guérin*).

Πρόκειται για το εμβόλιο που χρησιμοποιείται για την προφύλαξη από τη φυματίωση. Περιέχει ένα εξασθενημένο στέλεχος *M. bovis*. Η εξασθένηση του στελέχους έγινε μετά από επανειλημμένες και συνεχείς ανακαλλιέργειες του στελέχους, που κράτησαν αρκετά χρόνια. Το εμβόλιο αυτό παρασκευάσθηκε από τους ερευνητές Calmette και Guérin.

4) Παραγωγή νιασίνης (νικοτινικό οξύ).

Η παραγωγή νιασίνης από το *M. tuberculosis* αποτελεί χαρακτηριστική ιδιότητα η οποία το ξεχωρίζει από το *M. bovis* και τα άλλα μυκοβακτηρίδια.

5) Παραγωγή καταλάσης μετά από θέρμανση στους 68° C επί 20 λεπτά.

Όλα τα είδη μυκοβακτηριδίου παράγουν καταλάση. Παραγωγή καταλάσης μετά από θέρμανση των αποικιών στους 68°C επί 20 λεπτά δεν παρατηρείται στο *M. tuberculosis* και το *M. bovis*, ενώ η δοκιμασία είναι θετική για όλα σχεδόν τα άλλα είδη μυκοβακτηριδίου.

Η δοκιμασία καταλάσης στους 68°C και η δοκιμασία παραγωγής νιασίνης άρκουν για να χαρακτηρίσουν το *M. tuberculosis* στο κλινικό εργαστήριο.

δ) Παθογόνος δράση.

Προκαλεί τη νόσο φυματίωση. Η μόλυνση του ανθρώπου με το *M. tuberculosis* γίνεται μετά τήν εισπνοή σταγονιδίων, που έχουν χάσει το μεγαλύτερο ποσό του νερού που περιέχουν (πυρήνες σταγονιδίων). Τα σταγονίδια εκπέμπονται στον αέρα με το βήχα από τα άτομα που πάσχουν από τη νόσο, σχηματίζονται οι πυρήνες σταγονιδίων, στους οποίους περιέχονται κύτταρα του μικροβίου, εισπνέονται, και το μικρόβιο φέρεται στις κυψελίδες του πνεύμονα (αερογενής λοίμωξη).

Παλαιότερα υπήρχαν περιπτώσεις φυματιώσεως του εντέρου από το *M. bovis*. Η νόσος μεταδίδεται με το γάλα αγελάδας που πάσχει από φυματίωση. Το *M. bovis* αποτελεί σήμερα σπάνιο αίτιο φυματιώσεως μετά τη γενικευμένη παστερίωση του γάλατος σε πολλές χώρες:

Η πρώτη μόλυνση με το *M. tuberculosis* προκαλεί εξιδρωματική φλεγμονή στον πνεύμονα καὶ μετά ακολουθεί ή προσβολή των συστοίχων λεμφαδένων. Τη φλεγμονή του πνεύμονα και των αδένων ακολουθεί η καζεϊνοποίηση (τυροειδής

νέκρωση), δηλαδή νέκρωση των ιστών που μαζί με τις πηγμένες πρωτείνες και τις λιπαρές ουσίες δίνουν στο σημείο της βλάβης την όψη τυριού. Στους νεκρωμένους ιστούς γίνεται εναπόθεση ασβεστίου (αποτιτάνωση), η περιοχή της βλάβης περιβάλλεται από ινώδη ιστό, και η λοίμωξη θεραπεύεται αυτόμata χωρίς ειδική θεραπεία. Η φλεγμονή του πνεύμονα μαζί με την προβολή των λεμφαδένων καλείται **πρωτοπαθές σύμπλεγμα**, παρατηρείται στα παιδιά και συνήθως δεν προκαλεί την εμφάνιση κλινικών συμπτωμάτων.

Σε ορισμένες περιπτώσεις την εμφάνιση του πρωτοπαθούς συμπλέγματος ακολουθεί αιματογενής διασπορά και εγκατάσταση του μικροβίου σε άλλα σημεία του πνεύμονα, στις μήνιγγες, στα οστά, στους νεφρούς ή σε άλλα όργανα.

Μετά τη θεραπεία του πρωτοπαθούς συμπλέγματος, το άτομο εμφανίζει θετική φυματιναντίδραση και αναπτύσσει ένα είδος ανοσίας στη φυματίωση. Ορισμένα κύτταρα του μικροβίου φαίνεται ότι επιζούν μέσα στην αρχική βλάβη χωρίς να προκαλούν νόσο. Η ισορροπία αυτή μπορεί να διαταραχθεί μετά από χρόνια και το άτομο να εμφανίσει φυματίωση. Το 75% από τις περιπτώσεις φυματιώσεως στα νεαρά άτομα και τους ενήλικες οφείλεται σε ενεργοποίηση της αρχικής βλάβης (ενδογενής αναμόλυνση). Ένα μικρό ποσοστό της νόσου οφείλεται σε εξωγενή μόλυνση και παρατηρείται σε άτομα, στα οποία η αρχική βλάβη του πρωτοπαθούς συμπλέγματος έχει θεραπευθεί. Από το σημείο της φλεγμονής στον πνεύμονα το μικρόβιο μπορεί να έλθει με τους βρόγχους (βρογχογενής διασπορά) σε άλλα σημεία του πνεύμονα. Σπανιότερα το μικρόβιο έρχεται με το αίμα (αιματογενής διασπορά) σε άλλα όργανα, όπως π.χ. οστά, σπλήνα, μήνιγγες, νεφρούς, προστάτη, δέρμα κλπ.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Το υλικό που εξετάζεται για την ανεύρεση του μικροβίου είναι τα πτύελα (πνευμονική φυματίωση). Σε άλλες εντοπίσεις της νόσου η αναζήτηση του μικροβίου γίνεται στα ούρα (φυματίωση νεφρών), στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό (φυματιώδης μηνιγγίτιδα) ή σπανιότερα σε άλλα υλικά, όπως το πλευριτικό υγρό, το γαστρικό υγρό, τα κόπρανα κλπ.

Αν το υλικό που πρόκειται να εξετασθεί είναι υγρό και δεν περιέχει σε φυσιολογικές συνθήκες μικρόβια (π.χ. εγκεφαλονωτιαίο υγρό), η εξέταση του θα γίνει μετά από φυγοκέντρηση. Αν το υλικό που πρόκειται να εξετασθεί περιέχει και άλλα μικρόβια (π.χ. πτύελα), η εξέταση του θα γίνει αφού πρώτα καταστραφούν τα άλλα μικρόβια και μετά από φυγοκέντρηση.

Τα πιο συνηθισμένα υλικά που εξετάζονται για την αναζήτηση του Μυκοβακτηρίδιου της φυματιώσεως είναι τα πτύελα, τα ούρα και το εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

1) Πτύελα.

α) Συλλέγονται τα πρωινά πτύελα επί 3 διαδοχικές ημέρες μέσα σε ευρύστομα αποστειρωμένα σωληνάρια με κοχλιωτό πώμα. Από κάθε δείγμα λαμβάνονται τα βλεννοπισώδη τμήματα των πτυέλων μέσα σε κοχλιωτό σωληνάριο.

β) Ακολουθεί η ομογενοποίηση των πτυέλων και η καταστροφή των άλλων μικροβίων, που γίνεται με την μέθοδο Petroff. Ένα μέρος των πτυέλων αναμιγνύεται με ένα μέρος NaOH 2% μέσα σε κοχλιωτό σωληνάριο. Το σωληνάριο ανακινείται

σε ανακινητήρα και μετά αφήνεται στη θερμοκρασία δωματίου επί 15 λεπτά. Κατά διαστήματα επαναλαμβάνεται η ανακίνηση του σωλήναρίου για να γίνει η πλήρης ομογενοποίηση των πτυέλων. Το σωληνάριο φυγοκεντρείται (2000 xg) επί 20 λεπτά και το υπερκείμενο απορρίπτεται.

Το NaOH του ιζήματος εξουδετερώνεται με σταγόνες διαλύματος HCl 8%. Η εξουδετέρωση διαπιστώνεται από τον αποχρωματισμό του ιζήματος, στο οποίο πριν από το HCl έχει προστεθεί μία σταγόνα διαλύματος ενός δείκτη, του ερυθρού της φαινόλης 0,2%.

γ) Από το ίζημα γίνονται παρασκευάσματα που χρωματίζονται με τη χρώση Ziehl - Neelsen. Στη μικροσκόπηση αναζητούνται οξεάντοχα και αλκοολάντοχα βακτηρίδια.

δ) Το ίζημα εμβολιάζεται στο θρεπτικό υλικό Löwenstein - Jensen που επωάζεται στους 37°C και σε ατμόσφαιρα CO₂ 10%.

ε) Από τις αποικίες στο Löwenstein - Jensen γίνονται παρασκευάσματα, χρωματίζονται με τη χρώση Ziehl - Neelsen και μικροσκοπούνται.

στ) Αν απομονωθεί οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο, γίνονται οι δοκιμασίες της νιασίνης και της καταλάσης στους 68°C για να διαπιστωθεί αν πρόκειται για M. tuberculosis.

2) Ούρα.

Λαμβάνεται το δεύτερο ήμισυ της πρώτης πρωϊνής ουρήσεως επί τρεις διαδοχικές ημέρες. Κάθε δείγμα ουρήσεως φυγοκεντρείται (2000 xg) για 20 λεπτά, τα ιζήματα αναμιγνύονται και κατεργάζονται με τη μέθοδο Petroff. Τα επόμενα στάδια είναι τα ίδια όπως και στην εξέταση των πτυέλων.

3) Εγκεφαλονωτιαίο υγρό.

Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό φυγοκεντρείται (2000 xg) επί 30 λεπτά και από το ίζημα γίνονται άμεσα παρασκευάσματα και καλλιέργεια στο υλικό Löwenstein - Jensen. Τα άλλα στάδια είναι τα ίδια με την εξέταση των πτυέλων.

Σημείωση. Η ανεύρεση οξεάντοχων και αλκοολάντοχων βακτηριδίων κατά τη μικροσκόπηση παρασκευασμάτων από το ίζημα των πτυέλων δεν σημαίνει ότι είναι οπωσδήποτε M. tuberculosis. Άλλα είδη μυκοβακτηριδίων προκαλούν επίσης πνευμονική νόσο, που μοιάζει με φυματίωση. Η διάγνωση θα γίνει μόνο με την απομόνωση του μυκροβίου και τη μελέτη των ιδιοτήτων του.

Το ίδιο ισχύει και για τα άμεσα παρασκευάσματα από το ίζημα των ούρων, στα οποία μπορεί να βρεθούν μη παθογόνα μυκοβακτηρίδια. Η μικροσκοπική εξέταση των άμεσων παρασκευασμάτων από το ίζημα του εγκεφαλονωτιαίου υγρού είναι αρκετή για να θέσει τη διάγνωση της φυματίωσεως, αν βρεθούν οξεάντοχα και αλκοολάντοχα βακτηρίδια.

13.3 Άλλα μυκοβακτηρίδια.

Ομάδα I. Φωτοχρωμογόνα.

α) **M. Kansasii.** Σε άτομα μεγάλης ηλικίας που πάσχουν από βρογχίτιδα ή εμφύσηση προκαλεί χρόνια πνευμονική νόσο, που μοιάζει με τη φυματίωση. Οι λοιμώ-

ξεις είναι σποραδικές. Παράγει αποικίες με κίτρινο χρώμα όταν εκτεθεί στο φως. Αναπτύσσεται βραδέως στους 24°C, 31°C και 37°C.

β) *M. marinum*. Προκαλεί κοκκιώματα και έλκη στο δέρμα και τον υποδόριο ιστό. Οι λοιμώξεις είναι σποραδικές ή εμφανίζονται με τη μορφή μικροεπιδημιών, ιδιαίτερα σε άτομα που κολυμπούν σε δεξαμενές μολυσμένες με το μικρόβιο. Παράγει αποικίες με έντονο κίτρινο χρώμα, όταν εκτεθεί στο φως. Αναπτύσσεται βραδέως στους 24°C και 31°C.

Ομάδα II. Σκοτοχρωμογόνα.

— ***M. scrofulaceum*.** Προκαλεί τραχηλική αδενίτιδα στα παιδιά. Παράγει αποικίες με κίτρινο χρώμα, όταν εκτεθεί στο σκοτάδι. Αναπτύσσεται βραδέως στους 24°C, 31°C και 37°C.

Ομάδα III. Μη χρωμογόνα.

— ***M. intracellulare*.** Σε άτομα μεγάλης ηλικίας που πάσχουν από βρογχίτιδα ή έμφυσημα προκαλεί χρόνια πνευμονική νόσο, η οποία μοιάζει με φυματίωση. Αναπτύσσεται βραδέως στους 37°C.

Ομάδα IV. Μη χρωμογόνα.

— ***M. fortuitum*.** Συνήθως δεν προκαλεί νόσο. Δυνατόν να προκαλέσει λοιμώξεις του δέρματος, αποστήματα, λοίμωξη του κερατοειδούς μετά από τοπικό τραυματισμό και λοίμωξη του πνεύμονα, όταν συνυπάρχει άλλη νόσος. Αναπτύσσεται ταχέως στους 24°C και στους 37°C.

— ***M. ulcerans*.** Δεν έχει καταταγεί σε μια από τις 4 ομάδες. Προκαλεί κοκκιώματα και έλκη στο δέρμα και τον υποδόριο ιστό, τα οποία έχουν την τάση να επεκτείνονται. Η νόσος είναι συχνότερη στα τροπικά και υποτροπικά κλίματα. Οι αποικίες του έχουν άσπρο χρώμα. Αναπτύσσεται βραδέως στους 31°C.

Στον πίνακα 13.3.1 αναφέρονται οι δοκιμασίες για το διαχωρισμό των μυκοβακτηρίδων που απομονώνονται στο κλινικό εργαστήριο.

13.4 *Mycobacterium leprae*.

Στα μυκοβακτηρίδια ανήκει και το αίτιο της λέπρας. Χαρακτηριστικό του *M. leprae* είναι ότι μέχρι σήμερα δεν έχει γίνει δυνατή η καλλιέργειά του σε τεχνητά θρεπτικά υλικά. Είναι οξεάντοχο και αλκοολάντοχο βακτηρίδιο, όπως και τα άλλα μυκοβακτηρίδια, και έχει την ίδια μορφολογία με το *M. tuberculosis*.

Η λέπρα είναι μία χρόνια νόσος, που χαρακτηρίζεται από την ανάπτυξη οξιδίων κοκκιωματώδους ιστού στο δέρμα, το βλεννογόνο της μύτης και στα περιφερικά νεύρα. Περιγράφονται δύο μορφές της νόσου, η φυματιοειδής και η λεπροματώδης. Στη φυματιοειδή μορφή τα οξίδια στο δέρμα είναι λίγα και αφορίζονται σαφώς από το υγιές δέρμα. Στη λεπροματώδη μορφή τα οξίδια είναι διάσπαρτα σε όλη την επιφάνεια του δέρματος και το μικρόβιο πολλαπλασιάζεται έντονα, με αποτέλεσμα να υπάρχει σχεδόν πάντοτε μικροβιαιμία. Τα περιφερικά νεύρα προσβάλλονται και στις δύο μορφές της νόσου, με αποτέλεσμα την απώλεια της αισθήσεως του πόνου και της θερμότητας.

Η μικροβιολογική διάγνωση της νόσου γίνεται με την αναζήτηση οξεάντοχων και αλκοολάντοχων βακτηριδίων σε άμεσα παραφκεύασματα που γίνονται:

- Από τις αλλοιώσεις του δέρματος.
- Από το έκκριμα της μύτης και
- από μία σταγόνα αίματος που λαμβάνεται από τα λοβία του αυτιού.

ΠΙΝΑΚΑΣ 13.3.1.
Διαχωρισμός των *Mycobacteriidiών* τα οποία απορροώνονται στο Κλινικό Εργαστήριο.

Ομάδα	Είδος	Ανάπτυξη στη θερμοκρασία		Παραγωγή χρωστικής Σκοτάδι	Παραγωγή νιασίνης	Καταλάση (68°C)
		37°C	31°C			
I	<i>M. tuberculosis</i>	B	-	-	-	-
	<i>M. bovis</i>	B	-	-	-	-
	<i>M. ulcerans</i>	-	B	-	-	-
	<i>M. marinum</i>	±	B	B	+	-
II	<i>M. kansasii</i>	B	B	B	+	-
	<i>M. scrofulaceum</i>	B	B	B	+	-
	<i>M. intracellulare</i>	B	-	-	-	-
	<i>M. fortuitum</i>	T	-	T	-	-
IV	<i>M. smegmatis</i>	T	-	T	-	-

T = ταχεία ανάπτυξη, B = βραδεία ανάπτυξη.
Το *M. smegmatis* δεν είναι παθονόνο αλλά αναφέρεται σαν εκπρόσωπος των μη παθογόνων **Mycobacteriidiών**, τα οποία μπορεί να απορροώνθουν από τον άνθρωπο.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

ΒΑΚΙΛΛΟΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΑ

14.1 Γενικά.

Το γένος *Bacillus* ανήκει στην οικογένεια των *Bacillaceae* και περιλαμβάνει 48 είδη βακίλλων. Οι βάκιλλοι είναι μεγάλα Gram - θετικά, σπορογόνα βακτηρίδια. Τα περισσότερα είδη βακίλλων είναι κινητά και αναπτύσσονται σε αερόβιες συνθήκες, ενώ ορισμένα είδη είναι δυνατόν να αναπτυχθούν σε αναερόβιες συνθήκες, όταν καλλιεργηθούν σε σύνθετα θρεπτικά υλικά που περιέχουν γλυκόζη ή νιτρικά άλατα. Είναι μικρόβια πολύ διαδεδομένα στη φύση και βρίσκονται στο χώμα, το νερό και τα φυτά. Ορισμένα είδη βακίλλων παράγουν αντιβιοτικά και άλλα χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία για την παρασκευή διαφόρων ουσιών.

Από τα 48 είδη βακίλλων τα περισσότερα δεν είναι παθογόνα, ορισμένα είναι παθογόνα για τα έντομα, και μόνο ο *Bacillus anthracis* (Βάκιλλος του άνθρακα) είναι παθογόνος για τον άνθρωπο και τα ζώα.

14.2 *Bacillus anthracis*.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι μεγάλο ($1 - 1,3 \times 3 - 10 \text{ } \mu\text{m}$), ευθύ Gram - θετικό, σπορογόνο βακτηρίδιο με τετράγωνα άκρα, και τα κύτταρα του διατάσσονται μεμονωμένα, σε ζεύγη ή σε αλυσίδες (σχ. 14.2α).

β) Καλλιέργεια.

Αναπτύσσεται σε αερόβιες συνθήκες. Η καλλιέργειά του γίνεται σε κοινά θρεπτικά υλικά ή σε εμπλουτισμένα θρεπτικά υλικά που περιέχουν αίμα ή ορό αίματος. Έχει άριστη θερμοκρασία αναπτύξεως τους 35° ως 37°C αλλά μπορεί να αναπτύχθει και σε όρια θερμοκρασίας από 22° ως 42°C (σχ. 14.2β).

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

— Φέρει σπόρο ο οποίος έχει σχήμα ωοειδές· είναι κεντρικός ή υποτελικός και δεν προκαλεί διόγκωση του μικροβιακού σώματος. Σε άμεσα παρασκευάσματα από το αίμα ή τους ιστούς δεν παρατηρείται σπόρος. Σπόρος παρατηρείται σε παρασκευάσματα από καλλιέργειες. Οι σπόροι του μικροβίου είναι ανθεκτικοί στις επι-



Σχ. 14.2α.

Παρασκεύασμα Βάκιλου του άνθρακα από αποικία σε θρεπτικό άγαρ.

δράσεις του περιβάλλοντος. Παραμένουν για χρόνια στο ξερό έδαφος και για μήνες στα δέρματα από ζώα. Καταστρέφονται στη θερμοκρασία βρασμού σε 10 λεπτά και σε ξηρά θερμότητα 140° C σε 3 ώρες.

— Δεν είναι κινητό μικρόβιο, σε αντίθεση με τα άλλα είδη βακίλλων που είναι κινητά (και στα κινητά είδη βακίλλων παρατηρούνται ακίνητα στελέχη).

— Οι αποικίες του έχουν διάμετρο 4 ως 5 mm, είναι ανώμαλες και έχουν χαρακτηριστική εμφάνιση σαν κεφαλή μέδουσας, όταν παρατηρούνται με μικρή μεγέθυνση στο μικροσκόπιο.

— Γύρω από τις αποικίες του δεν παρατηρείται ζώνη αιμολύσεως, αν και είναι δυνατόν να παρατηρηθεί μερικές φορές πολύ ασθενής αιμόλυση.

— Το ελυτρό του είναι ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται από μόρια γλουταμινικού οξέος. Έλυτρο παρατηρείται σε άμεσα παρασκευάσματα από το αίμα ή τους ιστούς και σε παρασκευάσματα που γίνονται από αποικίες σε υλικά με αίμα, ορό αίματος ή διπτανθρακικό νάτριο, τα οποία όμως επωάζονται σε ατμόσφαιρα CO₂ 5% ως 10%.

— Παράγει μία εξωτοξίνη που αποτελεί σύμπλεγμα τριών συστατικών και προκαλεί τα συμπτώματα της νόσου. Η εξωτοξίνη αυξάνει τη διαπερατότητα των αγγείων με αποτέλεσμα την εμφάνιση οιδήματος και αιμορραγιών στους διάφορους ιστούς. Ένα από τα συστατικά της εξωτοξίνης, το προστατευτικό αντιγόνο ή συστατικό II, όταν χορηγηθεί στα πειραματόζωα προκαλεί την παραγωγή αντισωμάτων, που προστατεύουν τα ζώα από τη νόσο.

— Είναι πολύ παθογόνο μικρόβιο για τα ποντίκια, τους ινδόχοιρους και τα κουνέλια. Οταν χορηγηθεί υποδορίως ή ενδοπεριτοναϊκώς προκαλεί το θάνατο σε 2 ως 3 ημέρες. Ο εμβολιασμός των πειραματοζώων γίνεται σε ειδικά εργαστήρια και α-



(a)



(b)

ποτελεί μία από τις μεθόδους για το χαρακτηρισμό ενός στελέχους ως *B. anthracis*. Άλλα είδη βακίλλων που μοιάζουν με τον *B. anthracis* (π.χ. *B. cereus*) δεν είναι παθογόνα για τα πειραματόζωα.

δ) Παθογόνος δράση.

Προκαλεί τη νόσο άνθρακα. Πρόκειται για ζωονόσο που μεταδίδεται στον άνθρωπο. Από άνθρακα προσβάλλονται τα πρόβατα, οι αίγες, οι αγελάδες και οι χοίροι. Η νόσος είναι θανατηφόρος, χαρακτηρίζεται από αιμορραγίες στους ιστούς και τα όργανα και προκαλεί επιζωτίες. Στους χοίρους η νόσος είναι χρόνια και εντοπισμένη.

Στον άνθρωπο ο άνθρακας εμφανίζεται με 3 μορφές: τη **δερματική**, την **πνευμονική** και την **εντερική**. Η δερματική μορφή είναι η συνηθέστερη (95% από τις περιπτώσεις άνθρακα) και εμφανίζει μικρή θνητότητα (περίπου 2%). Ο πνευμονικός άνθρακας είναι σχεδόν πάντα θανατηφόρος, ενώ ο εντερικός άνθρακας προκαλεί το θάνατο σε 25% από τις περιπτώσεις και είναι σχετικά σπάνιος.

Η δερματική μορφή αρχίζει με μία βλατίδα που εξελίσσεται σε φλύκταινα. Ακολουθεί η νέκρωση του σημείου της βλάβης και ο σχηματισμός μιας μαύρης εσχάρας (γι' αυτό και η ονομασία της νόσου είναι άνθρακας), που περιβάλλεται από μία σκληρή διόγκωση των γειτονικών ιστών.

Ο άνθρωπος μολύνεται με τους σπόρους του μικροβίου. Η μόλυνση γίνεται με άμεση επαφή, μετά από λύση της συνέχειας του δέρματος, με την εισπνοή των σπόρων ή πολύ σπάνια με τρόφιμα (π.χ. κρέας που δεν έχει βράσει καλά), που περιέχουν σπόρους του μικροβίου.

Ο άνθρακας είναι βασικά επαγγελματική νόσος. Παρατηρείται σε άτομα που έρχονται σε άμεση επαφή με τα ζώα (κτηνοτρόφοι, κτηνίατροι κλπ) ή σε εργάτες σε βιομηχανίες, που ασχολούνται με την επεξεργασία υλικών από τα ζώα, όπως π.χ. του δέρματος, των τριχών για την κατασκευή ψηκτρών, ή των οστών των ζώων για την παρασκευή λιπασμάτων.

Η προφύλαξη των ζώων από τη νόσο γίνεται με εμβόλιο που περιέχει εξασθενισμένο μικροβίο τοξινογόνο στέλεχος *B. anthracis*. Το εμβόλιο για τον άνθρωπο περιέχει το προστατευτικό αντιγόνο ή συστατικό II της τοξίνης του μικροβίου. Στους ανθρώπους ο εμβολιασμός εφαρμόζεται μόνο στα άτομα που έρχονται σε επαφή με τα ζώα ή εργάζονται σε βιομηχανίες που επεξεργάζονται υλικά από ζώα. Στα άτομα αυτά είναι απαραίτητες οι αναμνηστικές δόσεις του εμβολίου για να διατηρείται ικανοποιητικό επίπεδο ανοσίας εναντίον της νόσου.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Εξετάζεται το εξίδρωμα της φλύκταινας στη δερματική μορφή της νόσου, τα πτύελα στην πνευμονική μορφή και τα κόπρανα, όταν υπάρχει υποψία εντερικής μορφής της νόσου.

1) Από το υλικό που πρόκειται να εξετασθεί γίνονται άμεσα παρασκευάσματα, χρωματίζονται κατά Gram και μικροσκοπούνται.

2) Γίνεται καλλιέργεια του υλικού σε αιματούχο άγαρ και επωάζεται στους 35° ως 37°C επί 24 ώρες.

3) Από τις ύποπτες αποικίες γίνονται παρασκευάσματα που χρωματίζονται κατά Gram και μικροσκοπούνται.

4) Ελέγχεται η κινητικότητα του στελέχους που έχει απομονωθεί, η ικανότητά του να παράγει έλυτρο μετά από καλλιέργεια σε υλικό με διπτανθρακικό νάτριο και σε ατμόσφαιρα CO₂ 10%.

5) Αν το στέλεχος εμφανίζει τη χαρακτηριστική μορφολογία του *B. anthracis* δεν παράγει αιμόλυση, δεν είναι κινητό και παράγει έλυτρο σε υλικό με διπτανθρακικό νάτριο και σε ατμόσφαιρα CO₂ χαρακτηρίζεται ως *B. anthracis*.

Αν είναι δυνατός ο έλεγχος της παθογόνου δράσεως του στελέχους για τα πειραματόζωα (συνήθως χρησιμοποιούνται τα λευκά ποντίκια), το στέλεχος χαρακτηρίζεται με βεβαιότητα σαν *B. anthracis*, αν προκαλέσει το θάνατο των ζώων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΠΕΜΠΤΟ

ΤΡΕΠΟΝΗΜΑ ΤΟ ΩΧΡΟ

15.1 Γενικά.

Το γένος *Treponema* υπάγεται στην οικογένεια *Spirochaetaceae* και περιλαμβάνει ένδεκα είδη, από τα οποία άλλα είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και τα ζώα και άλλα είναι σαπροφυτικά. Από τα παθογόνα είδη τρεπονήματος το *Treponema pallidum* (Τρεπόνημα το ωχρό) προκαλεί τη νόσο σύφιλη.

α) Μορφολογία και χρώση.

Είναι λεπτός, σπειροειδής μικροοργανισμός με οξέα άκρα. Αποτελείται από 6 ως 14 σπείρες, έχει μήκος 6 ως 20 μm και πάχος 0,2 μm . Δεν χρωματίζεται με ευχέρεια με τις συνήθεις χρωστικές, γι' αυτό και ονομάζεται ωχρό. Για τη χρώση του χρησιμοποιείται η μέθοδος Fontana ή μέθοδος του νιτρικού αργύρου και η αρνητική χρώση με σινική μελάνη. Στην πρώτη περίπτωση το τρεπόνημα χρωματίζεται σκούρο καφέ ή μαύρο με το νιτρικό άργυρο. Στη δεύτερη περίπτωση το τρεπόνημα φαίνεται λευκό, ενώ το περιβάλλον του χρωματίζεται μαύρο με τη σινική μελάνη (σχ. 15.1).



Σχ. 15.1.

Άμεσο παρασκεύασμα Τρεπονήματος του ωχρού από εξίδρωμα έλκους.

β) Καλλιέργεια.

Το Τρεπόνημα το ωχρό δεν καλλιεργείται στα θρεπτικά υλικά. Είναι δυνατόν να διατηρηθεί ζωντανό λίγες ημέρες κάτω από αναερόβιες συνθήκες και σε υλικά που περιέχουν λευκωματίνη και ορό βοδιού.

γ) Χαρακτηριστικές ιδιότητες.

— Είναι κινητό μικρόβιο. Εμφανίζει περιστροφική κίνηση γύρω από τον επιμήκη άξονά του και ολισθαίνει προς τα εμπρός και πίσω.

— Με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο έχει διαπιστωθεί η ύπαρξη εξωτερικά ενός περιβλήματος και αμέσως μετά ινιδίων, τα οποία περιβάλλουν την κυτταροπλασματική μεμβράνη και διατρέχουν ολόκληρο το μήκος του κυττάρου. Τα ινίδια αρχίζουν από σημεία του κυτταροπλάσματος κοντά στους πόλους του κυττάρου. Τα ινίδια είναι υπεύθυνα για το σπειροειδές σχήμα του τρεπονήματος και στη συστατικότητά τους οφείλεται η κίνηση του μικροβίου.

— Κατά τη λοιμώξη με το Τρεπόνημα το ωχρό, αναπτύσσονται στον ορό του αίματος του ασθενή δύο είδη αντισωμάτων:

1) Τα μη τρεπονηματικά αντισώματα η αντίδρασίνες τα οποία αντιδρούν με τα λιποειδικά αντιγόνα και

2) τα τρεπονηματικά αντιγόνα τα οποία αντιδρούν με το *T. pallidum* ή με άλλα αντιγονικά συγγενή στελέχη.

— Η αναζήτηση των μη τρεπονηματικών αντισωμάτων ή αντίδραστινών γίνεται με την οροαντίδραση Wassermann, που είναι μία αντίδραση συνδέσεως του συμπληρώματος. Στην Wassermann σαν αντιγόνο χρησιμοποιείται εκχύλισμα καρδιάς βοδιού με χοληστερόλη (μη ειδικό αντιγόνο). Εκτός από την αντίδραση Wassermann η αναζήτηση των μη τρεπονηματικών αντισωμάτων γίνεται και με την κροκιδωτική αντίδραση Kahn. Στην αντίδραση Kahn ως αντιγόνο χρησιμοποιείται επίσης εκχύλισμα καρδιάς βοδιού με χοληστερόλη. Όταν το αποτέλεσμα είναι θετικό, εμφανίζονται κροκίδες από την αντίδραση των αντισωμάτων με το αντιγόνο.

— Τα τρεπονηματικά αντισώματα αναζητούνται στον ορό του ασθενή με τη μέθοδο της ακινητοποίησεως του Τρεπονήματος του ωχρού η TPI (Treponema Pallidum Immobilisation). Η μέθοδος αυτή φέρεται και με την ονομασία μέθοδος Nelson. Ως αντιγόνο χρησιμοποιείται ένα στέλεχος Τρεπονήματος του ωχρού, το στέλεχος Nichols. Το στέλεχος Nichols εμβολιάζεται στους όρχεις κουνελιών, όπου και διατηρείται ζωντανό.

Η μέθοδος στηρίζεται στην παρατήρηση ότι τα αντισώματα που αναπτύσσονται στον ορό του αίματος ατόμου που πάσχει από σύφιλη, ακινητοποιούν το στέλεχος Nichols όταν προστέθει συμπλήρωμα.

— Οι αντιδράσεις Wassermann και Kahn χρησιμοποιούνται σε μεγάλη κλίμακα για την ορολογική διάγνωση της σύφιλης. Μειονέκτημα αυτών των μεθόδων είναι ότι σε ορισμένες περιπτώσεις είναι δυνατόν να δώσουν ψευδή θετικά αποτελέσματα. Τέτοιες περιπτώσεις είναι, όταν το άτομο πάσχει από τροπικά νοσήματα, από ελονοσία, φυματίωση, ίλαρά, λέπρα ή οταν μία γυναίκα βρίσκεται στο στάδιο της εγκυμοσύνης ή έχει έμμηνο ρύση. Οι ψευδείς θετικές αντιδράσεις οφείλονται στο γεγονός ότι το αντιγόνο δεν είναι ειδικό.

— Αντίθετα, η μέθοδος Nelson είναι ειδική για τη σύφιλη, επειδή το αντιγόνο είναι ειδικό, δηλαδή το στέλεχος Nichols. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι η ανάγκη της διατηρήσεως του Τρεπονήματος του ωχρού στους όρχεις των κουνελιών και η δυσχέρεια στην εκτέλεση της μεθόδου. Η μέθοδος Nelson γίνεται σε ειδικά εργαστήρια και μόνο σε περιπτώσεις όπου υπάρχουν αμφιβολίες για τα αποτελέσματα της Wassermann ή της Kahn.

δ) Παθογόνος δράση.

Το Τρεπόνημα το ωχρό προκαλεί τη νόσο σύφιλη, ένα από τα αφροδίσια νοσήματα. Η αρχική εντόπιση της νόσου συνήθως είναι τα γεννητικά όργανα. Στα γεννητικά όργανα εμφανίζεται έλκος, το οποίο είναι σκληρό και ανώδυνο, ενώ ταυτόχρονα παρατηρείται διόγκωση των συστοίχων λεμφαδένων. Αν δεν γίνει κατάλληλη θεραπεία, ακολουθεί το δεύτερο στάδιο της νόσου που χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση εξανθήματος (ροδάνθη) στο δέρμα και τους βλεννογόνους. Στο στάδιο αυτό η μεταδοτικότητα της νόσου είναι μεγάλη. Τέλος σε ορισμένες περιπτώσεις ασθενών που δεν έχουν υποστεί θεραπεία, είναι δυνατόν να ακολουθήσει το τρίτο στάδιο. Το τρίτο στάδιο εμφανίζεται μετά από μήνες ή χρόνια και χαρακτηρίζεται από βλάβες στο δέρμα, τα οστά, το ήπαρ, τα αγγεία και το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Το Τρεπόνημα το ωχρό περνά τον πλακούντα εγκύων γυναικών και προκαλεί βλάβες στο έμβρυο (συγγενής σύφιλη). Στη συγγενή σύφιλη τα έμβρυα πεθαίνουν συνήθως πριν από το τέλος της κυήσεως. Αν γεννηθούν ζωντανά, φέρουν συφιλιδικές βλάβες ή αναπτύσσουν αργότερα χαρακτηριστικά συφιλιδικά συμπτώματα.

ε) Μικροβιολογική διάγνωση.

Η διάγνωση της σύφιλης γίνεται είτε με μικροσκοπική εξέταση του εξιδρώματος του συφιλιδικού έλκους ή του οπού των λεμφαδένων είτε με την αναζήτηση διαφόρων αντισωμάτων στον ορό του αίματος με τις μεθόδους που αναφέραμε (Wassermann, Kahn, Nelson). Η μικροσκοπική εξέταση έχει πρακτική αξία στην αρχή της νόσου, όταν δεν έχουν ακόμα αναπτυχθεί αντισώματα.





ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

Ονοματολογία και κατάταξη των βακτηρίων

1.1 Γενικά	1
------------------	---

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

Η φυσιολογική μικροβιακή χλωρίδα του ανθρώπου

2.1 Γενικά	12
2.2 Η μικροβιακή χλωρίδα των περιοχών του σώματος	12
2.2.1 Αναπνευστική οδός	12
2.2.2 Γαστρεντερικό σύστημα	13
2.2.3 Ουρογεννητικό σύστημα	14
2.2.4 Δέρμα, μάτια και αυτιά	14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

Σταφυλόκοκκος

3.1 Γενικά	16
3.2 Μορφολογία και χρώση	16
3.3 Καλλιέργεια	16
3.4 Χαρακτηριστικές ιδιότητες	18
3.5 Τοξικές ουσίες	18
3.6 Παθογόνος δράση	19
3.7 Μικροβιολογική διάγνωση	19

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

Στρεπτόκοκκοι

4.1 Γενικά	21
4.2 <i>Streptococcus pyogenes</i>	23
4.3 <i>Streptococcus pneumoniae</i> (Πνευμωνικός)	27
4.4 <i>Streptococcus faecalis</i> (Εντερόκοκκος)	30

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

Ναϊσσέριες

5.1 Γενικά	32
5.2 <i>Neisseria meningitidis</i> (Μηνιγγιτιδόκοκκος)	32
5.3 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> (Γονόκοκκος)	34

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

Βρουκέλλες

6.1 Γενικά	37
------------------	----

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

Άιμόφιλοι

7.1 Γενικό	41
7.2 Haemophilus influenzae	41
7.3 Άλλοι αιμόφιλοι	44

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

Μπορντετέλλα

8.1 Γενικά	45
8.2 Bordetella - pertussis	45

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΑΤΟ

Εντεροβακτηριοεδή

9.1 Γενικά	48
9.2 Escherichia coli (Κολοβακτηρίδιο)	50
9.3 Klebsiella pneumoniae	53
9.4 Enterobacter	54
9.5 Serratia marcescens	56
9.6 Proteus	57
9.7 Salmonella	60
9.8 Shigella	67

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ

Δονάκιο της χολέρας

10.1 Γενικά	70
10.2 Vibrio cholerae	70
10.3 Vibrio parahaemolyticus	72

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΝΔΕΚΑΤΟ

Ψευδομονάδα

11.1 Γενικά	74
11.2 Pseudomonas aeruginosa	74

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΩΔΕΚΑΤΟ

Κορυνοβακτηρίδιο

12.1 Γενικά	77
12.2 Corynebacterium diphtheriae (Κορυνοβακτηρίδιο της διφθερίτιδας)	77

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΡΙΤΟ

Μυκοβακτηρίδια

13.1 Γενικά	81
13.2 Mycobacterium tuberculosis (Μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως)	82

13.3 Άλλα μυκοβακτηρίδια	86
13.4 Mycobacterium leprae	87

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

Βάκιλλος του άνθρακα

14.1 Γενικά	89
14.2 Bacillus anthracis	89

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΚΑΤΟ ΠΕΜΠΤΟ

Τρεπόνημα το ωχρό

15.1 Γενικά	93
-------------------	----

COPYRIGHT ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ ΕΥΓΕΝΙΔΟΥ

