**Занятие 13**

**Микробиологическая диагностика кишечных инфекций (роды *Escherichia, Salmonella, Shigella, Vibrio, Campylobacter, Helicobacter*)**

**Семейство ENTEROBACTERİACEA**

* Enterobacteriaceae, или семейство Enterobacteriaceae, включает более 20 родов, сходных по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам. Семейство включает многочисленные патогенные и условно-патогенные бактериальные роды.
* Возбудителями острых кишечных инфекций у человека являются представители рода Escherichia, Shigella, Salmonella. Yersinia pestis вызывает чуму, Y. pseudotuberculosis и Y. enterocolitica — возбудители псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза.
* Enterobacteriaceae - грамотрицательные, неспорообразующие, в основном подвижные (некоторые неподвижные) палочковидные бактерии. Некоторые образуют капсуЯвляются факультативными анаэробами и растут на простых питательных средах. Метаболизм окислительный и ферментативный. Расщепляют глюкозу образованием кислоты, иногда кислоты и газа. Нитраты восстанавливают до нитритов. Каталазоположительны и оксидазоотрицательны.

**Классификация**

**Escherichia coli**

**Семейство : Enterobacteriaceae**

**Род: Escherichia**

**Вид: E.coli**

**Морфология**

**Escherichia coli** – Грамотрицательные, подвижные (перитрихи), образующие микрокапсулу, не образующие спор, короткие палочки

Род **Escherichiae-** культуральные свойства:

* Является факультативным анаэробом, хорошо растет на простых питательных средах при 37°С и рН 7,2-7,6.
* Образует гладкие, слегка приподнятые, блестящие, полупрозрачные колонии на плотных питательных средах.
* в жидких питательных средах образует диффузную мутность и осадок
* на мясо-пептонном агаре образуют гладкие, выпуклые, блестящие, полупрозрачные
 S- колонии
* на среде Эндо образуют Лактозоположительные малиново-красные колонии с металлическом блеском
* на (EMB- агаре ( Eosin Methylene Blue ) (Среда Левина) образуют темно-фиолетовые колонии

**Escherichia coli (биохимические свойства**)

* **О-антиген** состоит из липополисахаридного комплекса и располагается в клеточной стенке. По этому антигену кишечные бактерии делятся более чем на 170 серогрупп.
* **К-антиген** расположен по сравнению с О-антигеном более поверхностно, поэтому живые культуры кишечной палочки не обладают способностью к агглютинации с О-антителами. К-антиген состоит из типов А, В и L, различающихся по чувствительности к температуре и химическим веществам. Каждый штамм имеет только один тип К-антигена. У эшерихий обнаруживают до 100 разновидностей К-антигена, относящихся к типу В.
* **Н-антиген** связан со жгутиками и обнаруживается только у подвижных штаммов. По этому антигену эшерихии делятся на 75 серотипов.

**Escherichiae coli – (экология)**

* E.coli в основном обитает в кишечнике человека и животных. Является обязательным представителем нормальной микрофлоры кишечника. E.coli попадает в окружающую среду с фекалиями, обнаруживается в объектах внешней среды – почве и воде. Его обнаружение является основным показателем фекального загрязнения почвы и воды. Поэтому E.coli используется в качестве санитарно-индикаторных бактерий в санитарной микробиологии.

**Патогенез**

* **Bнекишечные эшерихиозы**
* сепсис
* Раневые инфекции
* Вторичные пневмонии
* менинигит
* Инфекции мочевыводящих путей (цистит, пиелонефрит)
* Внутрибольничные инфекции
* Пищевые токсикоинфекции
* **Кишечные эшерихиозы**

**Диареегенные штаммы**

**Диареегенные кишечные палочки–** по серологическим маркерам, патогенности и эпидемиологическим характеристикам диареегенные эшерихии делят на 5 групп:

1. **ETEC – ЭНТЕРОТОКСИГЕННЫЕ**
2. **EİEC – ЭНТЕРОИНВАЗИВНЫЕ**
3. **EHEC – ЭНТЕРОГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ**
4. **EPEC – ЭНТЕРОПАТОГЕННЫЕ**
5. **EAEC – ЭНТЕРОАДГЕЗИВНЫЕ**

**Энтеротоксигенная кишечная палочка (ЭТКП)**

* Патогенность ЭТКП связана с секрецией энтеротоксина. Этот токсин вызывает дисфункцию эпителиальных клеток тонкой кишки, что приводит к нарушению секреции и всасывания, вызывая диарею. Этот тип диареи называют «секреторной диареей», чтобы отличить ее от других диарей, сопровождающихся разрушением кишечного эпителия.
* Заражение происходит алиментарным путем. Колонизация на поверхности эпителия тонкой кишки обеспечивается пили, которые содержат специальные лектины, называемые CFA (антиген фактора колонизации). Благодаря наличию этих факторов ЭТПК размножается на поверхности эпителия тонкой кишки, секретируя энтеротоксины (термолабильные (ТЛ) и термостабильные (ТС)).

**Энтеропатогенная кишечная палочка (ЭПКП)**

* ЭПКП вызывает диарею у детей в основном в возрасте до одного года. Это заболевание ранее было известно как «токсическая диспепсия». ЭПКП имеет до 20 О-серогрупп, в основном О55, О111, О119, О127, О128 и др. являются представителями серогрупп.
* Заболевания, вызванные ЭПКП, передаются контактным путем и иногда как внутрибольничные инфекции - в отделениях искусственного вскармливания новорожденных и детей, находящихся на грудном вскармливании,
* Патогенность ЭПКП обеспечивают специальные адгезины на поверхности клетки - белки наружной мембраны. Взаимодействие этих адгезинов с кишечным эпителием приводит к накоплению в их цитоплазме филаментозного актина, что приводит к разрушению кишечных ворсинок.

**Энтероинвазивная кишечная палочка (ЭИКП)**

* К ЭИКП относятся представители нескольких O-серогрупп (O28, O112, O124, O136, O143, O144). Заражение происходит алиментарным путем, возможны внутрибольничные инфекции. Преимущественно у детей, иногда у взрослых вызывает диарею, сопровождающуюся дизентерией (слизисто-кровянистый понос), не отличающейся от бактериальной дизентерии.
* Хотя ЭИКП по своим фенотипическим характеристикам схожа с Shigella, такие характеристики, как секреция лизиндекарбоксилазы и ферментация цитрата, отличают их от Shigella и позволяют охарактеризовать их как атипичные эшерихии.

**Энтерогеморрагическая кишечная палочка (ЭГКП)**

* Большинство ЭГКП относятся к серогруппе О157, часть — к О26, О145 и т.д. ЭГКП вызывает геморрагический колит, повреждая толстую кишку, особенно слепую кишку. Основным симптомом является диарея с примесью крови, но в отличие от диареи, вызванной ЭИКП и Shigella, лейкоциты в стуле встречаются редко.
* Источником заболеваний, вызываемых ЭГКП, является зоонозная инфекция крупного рогатого скота. Заражение происходит алиментарным путем – недоваренным мясом или молоком.
* ЭГКП секретирует несколько токсинов цитотоксинового типа. Эти токсины, некоторые из которых представляют собой гемолизины, могут быть обнаружены путем гемолиза на кровяном агаре. Кроме того, ЭГКП секретирует специфические цитотоксины, которые называются веротоксинами или шига-подобными токсинами.

**Энтероадгезивные кишечные палочки (ЭАКП)**

* Главной особенностью ЭАКП является его уникальная адгезия к культуре эпителиальных клеток человека (Hep-2, HeLa). При такой адгезии бактерии прилипают к поверхности эпителия в виде агрегатов, подобных расположению кирпичей в стене. Являются причиной длительной диареи у детей. Колонизируют толстую кишку и секретируют несколько цитокинов.

**Иммунитет**

* Так как формирующийся при эшерихиозах иммунный ответ направлен только против определенного серотипа, его защитный эффект незначителен. Антитела к О-антигенам E.coli относятся к классу IgM, не передаются через плаценту, поэтому у новорожденных отсутствует естественный пассивный иммунитет.

**Микробиологическая диагностика:**

**Материалы для исследования :**

* Испражнения (при кишечных эшерихиозах)
* Моча (при парентеральных эшерихиозах)
* Спинномозговая жидкость
* Раневое отделяемое
* Кровь
* Бактериологический (культуральный) метод
* первичный посев исследуемого материала (кроме крови) на лактозосодержащие дифференциальные среды (Эндо, SS-агар). Посев крови в сахарный бульон в соотношении 1:10, и культивация образцов в аэробных и анаэробных условиях
* инкубация 18-24 часов при температуре 37ºC
* идентификация выросших колоний на основании биохимических свойств. Определение сероваров с помощью поливалентных ОК-сывороток
* определение чувствительности к антибиотикам

**Лечение и профилактика**

* **Лечение** внекишечного эшерихиоза такое же, как и при других гнойно-воспалительных процессах. Для этого важно изучить чувствительность возбудителей эшерихиза к антибиотикам. При инфекциях мочевыводящих путей высокой эффективностью отличаются хинолоны (офлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин), производные 8-оксихинолина (нитроксолин-5-НОК), производные нитрофурана (фурагин, фурадонин).
* **Профилактика** - поддержание санитарно-гигиенического режима, осуществление санитарного контроля за водоснабжением, продуктами питания.

**Сальмонеллы (род Salmonella)**

* Род Salmonella семейства Enterobacteriaceae включает более 2000 видов, вызывающих заболевания, называемые сальмонеллезом, у людей и животных.
* Сальмонеллы можно разделить на две группы: монопатогенные и полипатогенные. К монопатогенным сальмонеллам относятся возбудители брюшного тифа и паратифов. Они вызывают заболевания только у людей. Полипатогенные сальмонеллы относятся к бактериям, вызывающим заболевания как у людей, так и у животных.

**Морфо-биологические свойства**

* Представляют собой грамотрицательные палочки размером 0,6 х 0,8 х 1–3 мкм с закругленными концами.
* не образуют капсул и спор.
* подвижны благодаря наличию перитрихиально расположенных жгутиков

**Сальмонеллы - культуральные свойства:**

* Факультативные анаэробы. Не требовательны к питательной среде. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 37°С и рН 7,2-7,6. На плотных питательных средах образуют нежные, гладкие, блестящие, полупрозрачные, слегка выпуклые колонии, на жидких средах - диффузное помутнение. Поскольку сальмонеллы плохо развиваются в первичной культуре, для их получения из патологического материала используют среды обогащения (селенитовый бульон) и селективные питательные среды (желчный бульон).
* **На среде Эндо образуют лактозонегативные бесцветные колонии**
* **на висмут-сульфитном агаре образуют черные колонии**
* **на агаре Мак-Конки образуют лактозонегативные бесцветные колонии**

**Род Salmonella - (биохимические свойства)**

* расщепляют глюкозу, маннит, мальтозу до кислоты и газа (S.typhi только до К),
* не расщепляют лактозу и сахарозу
* образуют сероводород

 (кроме S.paratyphi A)

* не образуют индол
* не разжижает желатин

**Salmonella –** (антигенное строение)

* **О-антиген** – состоит из фосфолипидно-белково-полисахаридного комплекса. Термостабилен, инактивируется фенолом. Обладает слабой иммуногенностью. По составу О-антигена все сальмонеллы делятся на более чем 60 О-серогрупп
* **Н-антиген** – связан со жгутиками, белковой природы, обладает выраженной иммуногенностью. Термолабилен, инактивируется спиртом и фенолом.
* **Vi-антиген** (антиген вирулентности) - обнаружен у некоторых сальмонелл (S.typhi и S.paratyphi C). Поскольку Vi-антиген, являющийся вариантом К-антигена, расположен более поверхностно, чем О-антиген, он предотвращает О-агглютинацию бактерий. Полисахарид, термолабильный. Является рецептором для бактериофагов.

**Salmonella –** (классификация)

* Сальмонеллы классифицируются в соответствии с их антигенной структурой. Ранее чаще использовалась классификация Кауфмана-Уайта. В этой классификации по О-антигену сальмонеллы разделены на серогруппы А, В, С и т. д.
* В современной классификации род Salmonella состоит из двух видов. К виду S. enterica относятся сальмонеллы, вызывающие заболевания у людей и животных. Этот вид делится на 6 подвидов, которые в свою очередь подразделяются на серотипы. Другой вид рода — S. bongori не вызывает заболеваний у человека.

**Salmonella –** (факторы патогенности)

* **механизм трансцитоза** - после орального инфицирования сальмонеллы проникают в тонкий кишечник, не повреждая слизистую оболочку, переходят с эпителиальных клеток (М-клеток) на слизистую путем трансцитоза.
* **инвазины** - трансцитоз сальмонелл обеспечивается инвазином, белком наружной мембраны.
* **устойчивость к фагоцитозу** – позволяет сальмонеллам жить и размножаться внутри макрофагов.
* **эндотоксин** – содержит липополисахаридный белок. В случаях бактериемии эндотоксин, высвобождаемый после распада бактериальной клетки, вызывает развитие лихорадки.

**Salmonella –** (заболевания)

* Брюшной тиф (S.typhi)
* Паратиф (S.paratyphi A və B)
* Сальмонеллез (пищевые токсикоинфекции– S.enteritidis, S.typhimurium, S.choleraesuis)
* Септицемия (S.choleraesuis)
* Внутрибольничные инфекции (S.typhimurium)

**Брюшной тиф и паратифы-источники инфекции и пути заражения**

* Источником инфекции являются больные и носители бактерий.
* Заражение происходит по фекально-оральному механизму: возбудители, попадая в окружающую среду с фекалиями, мочой, слюной, вызывают заражение здоровых людей преимущественно через воду, пищу и при бытовых контактах.

**Брюшной тиф и паратифы- патогенез**

* Попадая в пищеварительный тракт, сальмонеллы проходят через слизистую оболочку тонкого кишечника в лимфатические фолликулы и размножаются там в течение инкубационного периода (10-14 дней). В конце инкубационного периода возбудители попадают в лимфу и кровь, вызывая бактериемию и распространяясь по всему организму. Сальмонеллы размножаются в лимфоидной ткани (макрофагах) внутренних органов - печени, селезенке, костном мозге. Переходя из печени в желчные протоки, сальмонеллы размножаются в желчном пузыре (желчь является хорошей питательной средой для сальмонелл), а оттуда, попадая в тонкую кишку, вызывают развитие гиперергического воспаления, что приводит к ее некрозу и образованию язв .

**Брюшной тиф и паратифы- клинические проявления**

* Во время бактериемии выделение эндотоксина в результате распада бактерий вызывает симптомы интоксикации — высокую температуру, головную боль, нарушения со стороны сердечно-сосудистой и центральной нервной системы. С конца второй недели болезни сальмонеллы выделяются из организма преимущественно с калом, мочой, слюной.
* При заболевании отмечают такие осложнения, как кровотечения из язв, образовавшихся в кишечнике, а иногда и прободение кишечника. Воспалительные процессы в желчном пузыре приводят к задержанию здесь сальмонелл и формированию длительно сохраняющейся (иногда несколько лет) бактериемии.

**Иммунитет**

* После перенесенного заболевания формируется стойкий иммунитет. Тем не менее, могут наблюдаться случаи рецидивов заболевания с легким течением. Определенное защитное значение имеют антитела против О- и Vi-антигенов.
* Секреторные IgA-антитела играют роль в местном иммунитете и предотвращают адгезию сальмонелл к эпителию кишечника.

**Микробиологическая диагностика**

Материалы для исследования :

* Кровь (для получения гемокультуры в первые 2 недели заболевания)
* Испражнения (копрокультура)
* Моча (уринокультура)
* Дуоденальное содержимое (при бактерионосительстве)
* Бактериологический метод (культуральный)
* В течение лихорадочного периода производят забор и посев **крови** в желчный бульон с последующим пересевом на дифференциальные среды (Эндо, Плоскирева, ВСА) с целью получения чистой культуры.
* Идентификация выросших колоний по биохимическим свойствам и антигенной структуре
* Определение чувствительности к антимикробным препаратам
* Серологический метод
* **Реакция Видаля**–начиная со 2-ой недели заболевания в сыворотке крови определяют антитела к возбудителю. При помощи реакции Видаля определяют антитела к О- и Н- антигенам
* **РПГА** с O-, H-, Vi- диагностикумами
* **Специфическая профилактика-**

Специфическую профилактику брюшного тифа проводят пероральной живой вакциной - авирулентным мутантным штаммом S.typhi.

* **Лечение -**

этиотропное лечение проводят антибиотиками - ампициллином, сульфометаксизол-триметопримом (бисептолом), цефалоспоринами III поколения.

**Механизмы антибиотикорезистентности микроорганизмов**

**Определение синтеза ESBLв микроорганизмах (фенотипический тест)**

* Диск, содержащий ингибитор фермента бета-лактамазы и антибиотик (например, диск амоксициллин + клавулановая кислота), помещают непосредственно рядом с диском бета-лактамного антибиотика (например, цефепим), помещенным на поверхность твердой питательной среды, инокулированной бактериальной культурой.
* Результат оценивают через сутки инкубации.
* Если бактериальный штамм синтезирует ESBL, стерильная зона вокруг диска цефепима распространяется по направлению к диску амоксициллин+клавулановая кислота.

**Сальмонеллёзы (пищевые токсикоинфекции)**

* **S.enteritidis**
* **S.typhimurium**
* **S.choleraesuis**

Источником инфекции являются животные и птицы, а также больные сальмонеллезом. Заражение происходит при употреблении мяса и мясных продуктов, рыбы, яиц, молока и молочных продуктов, содержащих сальмонеллы. Более опасны пищевые продукты, в которых размножаются сальмонеллы. Это вызывает накопление сальмонелл в продуктах.

**Сальмонеллез (пищевые токсикоинфекции):** патогенез и клиника

* Сальмонеллы, попавшие в пищеварительный тракт через пищу, внедряются в слизистую оболочку тонкой кишки из М-клеток по механизму трансцитоза и перемещаются в подслизистую оболочку. Здесь часть сальмонелл захватывается макрофагами и попадает в лимфатические фолликулы, где размножаются и образуют первичный очаг инфекции. Остальные сальмонеллы размножаются в подслизистом слое. Их разрушение приводит к выделению эндотоксина. После короткого инкубационного периода (12-48 часов) воздействие эндотоксина на эпителий кишечника и всасывание в кровь вызывает симптомы заболевания - рвоту, диарею (слизистую, кровянистую), токсикоз, лихорадку.

**Сальмонеллез (пищевые токсикоинфекции):**

* Иммунитет - кратковременный. Поскольку он специфичен для серотипа, возможны повторные инфекции.
* Микробиологическую диагностику проводят бактериологическим методом. Исследуются рвотные массы, промывание желудка, кал, желчь, моча и кровь (при генерализованной форме заболевания).
* Профилактика - проводится санитарно-ветеринарный контроль для предотвращения распространения возбудителей среди сельскохозяйственных животных и птиц. На мясоперерабатывающих предприятиях санитарный контроль осуществляется за убоем животных, хранением мяса и мясных продуктов, приготовлением пищи в кулинарных заведениях.

**Микробиологическая диагностика**

Материалы для исследования

* Промывные воды желудка
* Рвотные массы
* Испражнения
* Желчь
* Моча
* Кровь (при генерализованных формах)
* Бактериологический (культуральный )
* посев исследуемого материала на лактозосодержащие дифференциальные среды (Эндо, SS-агар, Левина, Плоскирева, Мак Конки)
* инкубация 18-24 часов при температуре 37ºC
* идентификация выросших лактозонегативных колоний по морфологическим, биохимическим свойствам и антигенной структуре
* определение чувствительности к антибиотикам

**Внутрибольничные (нозокомиальные) сальмонеллезы**

* Нозокомиальный сальмонеллез чаще всего вызывается S. typhimurium. В настоящее время также обнаруживаются внутрибольничные инфекции, вызываемые S.enteridis, S.infants, S.derby и другими сальмонеллами. По своим морфологическим и культуральным признакам они не отличаются от других сальмонелл. Однако госпитальные штаммы сальмонелл принадлежат к определенным биоварам и отличаются более высокой вирулентностью. Как правило, они обладают полирезистентностью к антибиотикам, обеспечиваемой конъюгативными R-плазмидами.

**Источником инфекции** в основном являются бактерионосители, а иногда и больные. **Заражение** происходит контактным (с рук персонала, предметами ухода за больными), иногда воздушно-пылевым путем (при вдыхании частиц пыли, адсорбировавших сальмонеллы), и алиментарным путем.

* Ослабление резистентности организма играет важную роль в патогенезе внутрибольничного сальмонеллеза. Поскольку возбудители попадают в организм разными путями, могут развиваться различные патологические процессы – нарушения в желудочно-кишечном тракте, пневмония, бактериемия, септические осложнения.
* **Иммунитет** зависит от серотипа.
* **Профилактика** – важно строго соблюдать противоэпидемический режим в лечебных учреждениях.
* **Лечение** – антибактериальная терапия проводится с учетом чувствительности возбудителей.

***Род SHİGELLA***

**Семейство:** Enterobacteriaceae

**Род:** Shigella

**Вид:** *S.dysenteriae, S.flexneri, S.sonnei, S.boydii*

***Морфо-биологические свойства:***

***Шигеллы*** –грамотрицательные неподвижные палочки размером 0.5-0.7x2-3 мкм. Спор и капсул не образуют*.*

***Род Shigella -* (культуральные свойства*)***

* Факультативные анаэробы
* На плотных питательных средах образуют мелкие, блестящие, гладкие, полупрозрачные S- колонии диаметром 1-2 мм.
* На жидких питательных средах – вызывают диффузное помутнение .
* Род Shigella - образуют на средах Эндо, Левина, Плоскирева, Мак-Конки бесцветные колонии, т.к. не ферментируют лактозу. Жидкой средой обогащения является селенитовый бульон.
* *на среде Эндо образуют бесцветные колонии*
* на кровяном агаре образуют негемолитические колонии
* ***на среде*** SS (Salmonella-Shigella) образуют прозрачные или полупрозрачные бесцветные колонии
* на EMB (eosin methylene blue) агаре образуют бесцветные колонии

***Shigella–*** (биохимические свойства)

* не расщепляют лактозу и сахарозу (за исключением вида S. Sonnei расщепляющего лактозу постепенно - в течение 2-3 дней)
* расщепляют глюкозу до кислоты
* некоторые виды образуют индол
* не образуют сероводород

не растворяют желатин

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Подгруппы** | **Ферментация** | **Образование индола** | **Образование H2S** |
| лактоза | глюкоза  | маннит | дульцит | сахароза  |
| ***Sh.dysenteriae*** | **-** | **+К**  | **-** | **-** | **-** | **-** | **-** |
| ***Sh.flexneri*** | **-** | **+ К** | **+** | **±** | **-** | **±** | **-** |
| ***Sh.boydii*** | **-** | **± К** | **+** | **+** | **-** | **+** | **-** |
| ***Sh.sonnei***  |  | **+ К** | **+** | **-** | **+постепенно** | **+** | **-** |

***Род Shigella (антигенная структура)***

Шигеллы обладают соматическим О-антигеном, на основании которого род разделяют на A, B, C, D серогруппы, а их в свою очередь – на серотипы.

 **Серогруппа A :** *Shigella dysenteriae* (12 серотипов)

 **Серогруппа B :** *Shigella flexneri* (9 серотипов)

 **Cерогруппа С :** *Shigella boydii* (18 серотипов)

 **Серогруппа D :** *Shigella sonnei* (1 серотип)

*Род Shigella* **(факторы патогенности)**

* Инвазивность– межклеточное распространение и размножение в эпителии слизистой кишечника обусловлена:
* *ipa-BCD –инвазины* ТТСС –системы
* Белки внутриклеточного распространения
* Эндотоксин
* Шига-токсин (экзотоксин, продуцируется S.dysenteria 1 серотипа)
* Шигаподобные токсины (за исключением S.dysenteria 1 серотипа)

**Вызываемые заболевания:** *Бактериальная дизентерия(кровавая диарея)*

* Источник инфекции *-* больные лица и бактерионосители
* Путь и механизм передачи: алиментарный путь, фекально-оральный механизм

***Патогенез дизентерии***

Действие экзотоксина (Шига-токсин)

* Энтеротоксическое: Шига-токсин взаимодействует (адгезия) с рецепторами клеток кишечника, препятствует всасыванию глюкозы, электролитов, аминокислот из просвета кишечника
* Цитотоксическое: В компонент Шига-токсина обусловливает связывание токсина с клеточным рецептором поверхности микроворсинок. А компонент инактивируя 60-S субъединицы рибосом ингибирует синтез белка и вызывает гибель клетки, что приводит к повреждению микроваскулярной системы кишечника и развитию геморрагий (появление крови и лейкоцитов в испражнениях) .
* Тест Серени «Sereny test» - используется для проверки инвазивности видов Shigella. Это делается путем прививки взвеси бактерий в глаз морской свинки. Тяжелый слизисто-гнойный конъюнктивит и тяжелый кератит указывают на положительный результат теста.
* *Нейротоксическое действие:* лихорадка и спазматические боли в животе (судороги)

***Клинические проявления***

* диарея (с кровью или слизью)
* спазматические боли в животе (судороги)
* тенезмы (ложные позывы на дефекацию )
* лихорадка (нейротоксическое действие)
* язвы – вирулентные шигеллы, взаимодействуя с эпителием слизистой оболочки толстой кишки, пенетрируют через М-клетки в подслизистую, где размножаются в макрофагах, что приводит к гибели последних. Апоптоз макрофагов инициирует развитие воспаления в подслизистой и развитие диареи. Межклеточное распространение шигелл приводит к развитию эрозий. В результате гибели шигелл высвобождаются экзотоксины,действие которых приводит к развитию кроваво-слизистая диарея.

***Микробиологическая диагностика:***

*Материалы исследования:*

* испражнения
* ректальный соскоб
* кровь (для выявления антител при хронической дизентерии)
* *Бактериологический (культуральный)*
* Посев патологического материала на лактозосодержащие дифференциальные питательные среды (Эндо, Левина, Плоскирева, Мак-Конки )
* Инкубация при температуре 37ºC в течение 18-24 часов.
* Идентификация выросших лактозонегативных колоний по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам
* Определение чувствительности к антибиотикам

Примечание: т.к. специфические антитела к возбудителю образуются через 2 недели, проводимые серологические реакции не имеют диагностического значения.

**Определение бактерионосительства**

* Испражнения ( материал при бактерионосительстве забирают ватным тампоном непосредственно из прямой кишки с глубины 5-10 см.)
* Бактериологический метод
* Серологический метод (аналогичная реакции Видаля)
* Ставят пробу лизиса бактериальной культуры с поливалентным дизентерийным фагом. Положительный ответ подтверждает диагноз.

***Лечение и профилактика***

* Препараты выбора – тетрациклин, доксициклин и хинолоны. По эпидемиологическим показаниям используют бактериофаги, в случае возникновения дисбактериоза – пробиотики для коррекции микрофлоры.
* Восстановление водно-солевого баланса
* Специфической профилактики нет !

Представители семейства *Vibrionaceae* представляют собой изогнутые, палочковидные бактерии с размерами 1,4-5,0x0,3-1,3 мкм. Подвижны благодаря полярным жгутикам. Широко распространены во внешней среде (преимущественно в водоемах). Роды Vibrio, Aeromonas и Plesiomonas являются патогенными для человека.

Семейство: Vibrionaceae

Род: ***Vibrio***

Вид: *V.cholerae, V.parahaemoliticus,*

 *V.vulnificus*

***2 биовара - Cholerae и El Tor.***

***Морфо-биологические свойства:***

***Род Vibrio -*** грамотрицательные, изогнутые , полиморфные, подвижные (монотрих) палочковидные бактерии, спор и капсул не образуют. щелочелюбивые, оптимум pH 7.6-9.0

**Культуральные свойства:**

* Является факультативным анаэробом, не требователен к питательным средам, растет на обычных питательных средах.
* Это щелочелюбивая (pH 7,6-9,0) бактерия.
* 1% пептонная вода является элективной средой. На поверхности среды вибрионы образуют налет и развиваются быстрее (6-8 часов), чем энтеробактерии.
* На плотных питательных средах вибрионы образуют мелкие круглые прозрачные S-колонии с ровными краями.
* ***TCBS*** - на тиосульфат-цитратном **агаре** с сахарозой и желчью образует желтые колонии (вследствие разложения сахарозы)

***Род Vibrio –*** (биохимические свойства)

* Обладают сахаролитической активностью:
* Сбраживают с образованием кислоты углеводы (глюкоза, сахароза, мальтоза, манноза )
* Обладают протеолитической активностью:
* образуют индол
* гидролизуют казеин
* разжижают желатин
* не образуют сероводород
* Оксидаза-положительны

***Дифференциальные признаки возбудителей холеры:***

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Признак***  | ***Cholerae*** ***биовар*** | ***El-Tor*** ***биовар*** | ***V.cholerae*** ***O139*** |
| ***Реакция Фогеса-Проскауэра*** | ***+***  | ***+*** | ***+*** |
| ***Чувствительность к фагу***  | ***+*** | ***-*** | ***-*** |
| ***Чувствительность к фагу Эль-Тор***  | ***-*** | ***+*** | ***-*** |
| ***Агглютинация куриных эритроцитов***  | ***-*** | ***+*** | ***+*** |
| ***Гемолиз эритроцитов барана***  | ***-*** | ***+*** | ***-*** |
| ***Чувствительность к полимиксину*** | ***+*** | ***-*** | ***-*** |

***Vibrio–*** (антигенная структура)

* Холерные вибрионы имеют термостабильный О-антиген и термолабильный Н-антиген. H-антиген является общим для всех видов Vibrio, не специфичен,
* О-антиген обладает видовой и типовой специфичностью. По О-антигену холерные вибрионы делятся более чем на 150 серогрупп (О1, О2, О3 и др.). Биовары Cholerae и El Tor включены в серогруппу O1.
* Антиген О1 образует три серовара, состоящие из различных комбинаций А-, В- и С-компонентов. Комбинация сероваров А и В образует серовар Огава, комбинация А и С образует серовар Инаба, а комбинация А, В, С образует серовар Хикошима.
* Также известно, что холерные вибрионы серогруппы O139 вызывают холеру. Возбудителями холеры являются серогруппы О1 и О139.
* *Устойчивость к внешним факторам внешней среды* - холерные вибрионы мгновенно уничтожаются при кипячении при 60ºС в течение 5 мин. Сохраняются в водоемах несколько недель. Они чувствительны к высыханию и воздействию солнечных лучей, а также к высоким концентрациям дезинфицирующих средств.
* *Патогенность для животных.* В естественных условиях животные нечувствительны к возбудителям холеры.
* *Источник инфекции и пути заражения* - Источником инфекции являются больные или вибриононосители. Холерные вибрионы, попавшие во внешнюю среду с фекалиями, передаются здоровым людям фекально-оральным механизмом - водным, пищевым, а иногда и контактно-бытовым.

***Род Vibrio –*** (факторы патогенности)

* жгутик
* адгезивные пили (колонизация микроворсинок,
* образование биопленок)
* муциназа, нейраминидаза (способствуют реализации действия токсина)
* эндотоксин (запускает синтез простагландинов,
* которые вызывают сокращение гладкой мускулатуры и развитие тенезм)
* растворимая гемагглютининпротеаза
* *экзотоксин( холероген ) –* активация аденилатциклазы, усиление синтеза цАМФ

***ХОЛЕРА***

* Характеризуется токсическим поражением тонкого кишечника, нарушением водно-солевого баланса и высокой летальностью.
* Большая часть вибрионов погибают в кислой среде желудка.
* Холера не является инвазивной инфекцией , возбудитель не проникает в кровоток .
* Холера относится к особо опасным карантинным инфекциям**.**

***Инфекционная доза:***

* *с водой - 109 – 1010*
* *с пищей - 102  – 104*

 ***Клинические проявления:***

* *Энтерит - диарея (стул имеет вид «рисового отвара» )*
* *гастроэнтерит (поступление токсина в кровь наряду с диареей сопровождается рвотой )*
* *дегидратация (потеря воды и электролитов)*

 *I степень до 3%*

 *II степень до 6%*

 *III степень до 9%*

 *IV степень больше 10% (гиповолемический шок, анурия, метаболический ацидоз, смерть (при отсутствии лечения)*

* *«руки прачки»*
* *«симптом заходящего солнца*
* *«гиппократово лицо»*
* *«холерный алгид» температура тела ниже* 34o C

Согласно данным ВОЗ ежегодно в мире регистрируются 1.3-4 млн случаев инфицирования холерой и
от 210 000 до 143000 летальных исходов.

**Микробиологическая диагностика холеры:**

*Материалы исследования:*

* испражнения
* рвотные массы
* секционный материал
* при массовых обследованиях берут 1мл воды и 200 гр пищевых продуктов
* при обследовании на вибрионосительство назначают слабительные препараты, исследуют жидкое отделяемое кишечника путем посева на 1% пептонную воду

***Примечание :***  *исследования проводят в лабораториях специального режима !*

* ***Микроскопический метод*** – приготовление мазков из патологического материала, окраска по Граму , определение подвижности методом «раздавленной», «висячей» капли.
* ***Бактериологический (культуральный )***
* инокуляция материала в 1% в щелочно-пептонную воду, агар TBCS, щелочной кровяной агар (pH-9.0), культивирование при температуре 37o C. Через 4 часа после культивирования на поверхности 1% пептонной воды образуется пленка. Из пленки готовят мазки методом висячей капли для изучения подвижности бактерий. Также проводят окрашивание по Граму. Спустя 10-12 часов исследуют выросшие колонии на плотных питательных средах.

***Род Vibrio – (культуральные свойства)***

***1% щелочная пептонная вода – я***вляется элективной средой для вибрионов. Через 4-6 часов на поверхности среды образуется пленка , которая разрушается при встряхивании. Из образцов пленки готовят мазки и изучают на подвижность.

***Тест на крахмал***

* Подозрительные колонии засевают уколом в пробирки с жидким крахмалом
* (V. cholerae, El-Tor) расщепляют крахмал и поэтому при добавлении раствора йода цвет среды не меняется ( не синеет). Изменение цвета в пробирке указывает на отсутствие холерных вибрионов
* ***TCBS – тиосульфатцитратный сахарозо-желчесодержащий агар***
* На ***TCBS*** агаре V.cholerae образует желтые колонии в следствие расщепления сахарозы. Из выросших колоний готовят препараты методом «раздавленной» и «висячей» капли и изучают на подвижность.
* *Серологический метод – проводят постановкой развернутой реакции агглютинации со специфической O-сывороткой и реакцию иммобилизации (15-20 мин.) с выделенной культурой. Эти методы диагностики холеры являются ориентировочными и требуют проведения дальнейшего исследования . В качестве ускоренного метода используют иммунофлюоресцентный метод (РИФ)*
* *Молекулярно-генетический метод - ПЦР (полимеразная цепная реакция)*

***Для выявления бактерионосительства рекомендуется инокуляция испражнений (взятых у 10 лиц) в 200 мл пептонной воды и О-агглютинирующую сыворотку, которые выдерживают 3-4 часа в термостате. В случае роста вибрионов на дне пробирки наблюдается рост в виде комочка ваты, из которого готовят препарат «висячей капли», и при установлении подвижности возбудителя, испражнения 10 лиц подвергаются дополнительному исследованию***

***Лечение и профилактика:***

***Лечение :***

* восстановление водно-солевого баланса
* растворы, обогащенные электролитами

(для предотвращения судорог)

* Антибиотики (тетрациклин)

***Специфическая профилактика:***

Разработан комплексный препарат, состоящий из холероген-анатоксина и О-антигена обоих биоваров Cholerae и Эль-Тор .

***Другие вибрионы рода Vibrio*:**

* ***Vibrio parahaemolyticus*** — галофильный вибрион, обитающий в организме морских животных . Растет на кровяном агаре и агаре TCBS. Поскольку он не разлагает сахарозу, он образует зеленоватые колонии на TCBS. У человека вызывает гастроэнтерит. Заражение происходит от морепродуктов, таких как недоваренная рыба, моллюски и крабы.
* ***Vibrio vulnificus*** — свободноживущая бактерия. Встречается в морских водах, особенно на атлантическом и тихоокеанском побережьях. Вызывает раневую инфекцию, бактериемию, гастроэнтерит у человека. Он часто встречается у морских улиток, и употребление их в пищу вызывает тяжелую и смертельную бактериемию. При купании в причинной воде проникают через поврежденную кожу и вызывают газовую гангреноподобную раневую инфекцию с флегмоной, миозитом, буллезными поражениями.
* ***V. mimicus, V. hollisae, V. fluviales, V. alginolyticus, V. damsela, V. metschnicovi***

***Кампилобактерии***

***Род Campylobacter -***Известно более 10 видов рода Campylobacter. Виды C.jejuni, C.coli и C.fetus играют важную роль в патологии человека.

Семейство : Campylobacteraceae

Род : *Campylobacter*

Вид : C.jejuni

***Campylobacter cinsi -***(морфобиологические свойства)

* Грамотрицательные, размером 0,5-5,0х0,2-0,8 мкм, изогнутые или S-образно закрученные бактерии. В мазке из патологического материала в виде «летающей чайки».
* Подвижны, имеют жгутики на одном или обоих концах.
* Не образуют капсул и спор.
* Микроаэрофилы и капнофилы. Культивируются в атмосфере 5% кислорода и 10% углекислого газа.
* Для культивации можно использовать систему «Gaspak» или эксикатор.

***Campylobacter-*** (культуральные свойства)

* Виды *Campylobacter* различаются по температуре культивирования. *C.jejuni* можно культивировать при температуре 42°C, а также при 36-37°C.
* В жидких питательных средах образуют серый налетс голубым оттенком.
* Требовательны к питательной среде. Растут на сложных питательных средах с добавлением крови, гемина, гидролизата белка, аминокислот, факторов роста и соли. В среду добавляют антибиотики для подавления роста других микроорганизмов (среда Скирроу).
* На твердых питательных средах образуют плоские, бесцветные или серые «ползучие» колонии с неровными выступающими краями. Колонии очень маленькие и напоминают каплю конденсата.

***Род Campylobacter –*** (биохимические свойства)

* Метаболизм респираторный
* Слабая сахаролитическая активность:
* Сахара не сбраживают
* Протеолитически активны:
* Восстанавливают нитраты
* Образуют сероводород
* Оксидаза- , каталазаположительны.

***Источник инфекции и пути заражения -*** Кампилобактериоз - зооантропонозное заболевание. Источником инфекции являются сельскохозяйственные животные и птицы, реже человек. Заражение происходит фекально-оральным механизмом – через пищу, воду, бытовой контакт.

***Род Campylobacter –*** (факторы патогенности)

* *специфические адгезины -*обеспечивают адгезию к слизистой оболочке кишечника.
* *жгутики-* облегчают прохождение бактерий в слизистом слое
* *термолабильный энтеротоксин* - увеличивает концентрацию ц-АМФ
* *Термостабильный эндотоксин* - обладает всеми свойствами эндотоксина грамотрицательных бактерий.

***Род Campylobacter –****( вызываемые заболевания)*

* *Энтероколит -* латентный период может длиться 2-3 дня, иногда до 10 дней. Заболевание начинается остро, наблюдаются диспепсические расстройства - обильный водянистая, слизистая, иногда кровянистая диарея, рвота, интоксикация, лихорадка.
* *Менингит*
* *Заболевания ротовой полости*
* *ГВЗ*
* *Полирадикулоневритный синдром -* Олигосахариды кампилобактерий имеют перекрестные антигены с двигательными нейронами, вызывая *Полирадикулоневритный синдром*, обусловленный аутоиммунными реакциями*.*
* *Реактивный артрит -* сопровождается поражением коленного сустава, диафизарно-запястного и голеностопного суставов

Микробиологическая диагностика кампилобактериоза:

* *материал для исследования – испражнения*
* *Микроскопический метод*
* Позволяет обнаружить бактерии в форме **«***крыла чайки***»** в окрашенном по Граму мазке из кала. Для выявления подвижных кампилобактерий можно применять темнопольную и фазово-контрастную микроскопию.
* *Бактериологический (культуральный)*
* Материал исследования – кал, засевают на селективные среды (среду Skirrow, с кровью, гемином, ростовыми факторами, гидролизатами белка, аминокислотами и пр.) Для видовой дифференцировки культивируют при различных температурных режимах.
* *C.jejuni растет при температуре 420C.*
* Определение чувствительности к антибиотикам

***Лечение и профилактика:***

* Лечение: в большинстве случаев нет необходимости в лечении, но при угрозе развития серьезных осложнений следует применять эритромицин, тетрациклин, левомицетин и ципрофлоксацин.
* Специфическая профилактика не разработана!
* Неспецифическая профилактика аналогична таковой при кишечных инфекциях.

***Род Helicobacter (Helicobacter pylori) -*** был обнаружен в 1983 г. австралийскими микробиологами Б. Маршаллом и Р. Уорреном при эндоскопической биопсии пилорического отдела желудка.

**Семейство:** Helicobacteriaceae

**Род:** Helicobacter

**Вид:** H.pylori

* Грамотрицательная изогнутая или S-образной формы маленькая неспорообразующая бактерия.
* на мазке из патологического материала - в виде «летающей чайки». В неблагоприятных условиях, а также в старой культуре H. pylori может изменять свою морфологию и приобретать коккообразные формы.
* подвижны и имеют полярные жгутики.
* Капсулу не образуют

**Культуральные свойства:**

* микроаэрофилы.
* Не растут в аэробных и анаэробных условиях.
* Требовательны к питательной среде. Растут на кровяном и шоколадном агаре при 37°С, на среде Скирроу, а также на других селективных средах с добавлением антибиотиков (ванкомицин, налидиксовая кислота, амфотерицин).
* Некоторые штаммы вызывают альфа-гемолиз на кровяном агаре.
* на жидких питательных средах образуют серо-голубой налет

***Helicobacter pylori –*** (биохимические свойства)

* Слабая сахаролитическая активность:
* Сахара не сбраживают
* Слабая протеолитическая активность :
* Не восстанавливает нитраты
* образует сероводород
* оксидаза- и каталазаположителен
* обладает уреазной, транспептидазной и фосфатазной активностью

***Helicobacter pylori –*** (факторы патогенности)

* **фермент уреаза -** нейтрализует кислую среду желудка
* ***жгутик -*** обеспечивая активное движение H. pylori в густой слизи, участвует в ее адгезии к эпителиальным клеткам слизистой оболочки желудка.
* ***протеаза*** - разлагет желудочную слизь, уменьшая диффузию кислой среды в желудочную слизь.
* ***цитотоксины* (полипептидный цитотоксин (CagA), вакуолизирующий цитотоксин (VacA) и липополисахарид (ЛПС) -** дегенерируют клетки слизистой оболочки. Цитокины белковой природы вызывают вакуолизацию эпителиальных клеток желудка.
* **адгезины**
* **белки наружной мембраны**
* **пептидогликаны**

 ***ПАТОГЕНЕЗ:***

1. Внедрение  *H. pylori* в слизистую оболочку.

2. Продукция уреазы *H. pylori* создает облако аммиака вокруг бактерии

3. Колонизация H. pylori

4. Слизистая подвергается действию желудочного сока и пепсина. В результате развивается химический ожог данной области слизистой оболочки, что в дальнейшем приводит к развитию воспаления

* ***Источник инфекции и пути заражения -*** источником инфекции может быть инфицированный человек, иногда домашние животные. Заражение происходит фекально-оральным механизмом. Заражение возможно через воду, продукты питания и бытовой контакт, а также через контаминированные медицинские инструменты (при эндоскопических и других инструментальных исследованиях желудка и двенадцатиперстной кишки).

***Helicobacter pylori–*** *( вызываемые заболевания)*

* *Гастродуоденит(острая инфекция)*
* *Хронический гастрит*
* *Язва желудка*
* *Язва двенадцатиперстной кишки*
* *Рак желудка*
* *MALT - лимфома*

*(mucosa-associated lymphatic tissue)*

**Иммунитет**

В сыворотке крови больных образуются специфические антитела класса М, G и А. Через несколько недель после лечения снижается титр специфических антител.

***Микробиологическая диагностика хеликобактериоза:***

 *Материалы исследования:*

* ***биоптат*** из слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки
* желудочный сок
* испражнения
* кровь

***Инвазивная диагностика:***

* эндоскопия

- гистологический

- ускоренный уреазный тест

- культуральный -

-молекулярно-генетический метод

***Инвазивная диагностика:***

-уреазный дыхательный тест

- серологический

- тест на антигены в кале

-молекулярно-генетический метод

***Культуральный метод***

* Метод выделения чистой культуры *H.pylori* из образцов, взятых при биопсии желудка высоко специфичен, но характеризуется низкой чувствительностью (100% специфичен, 85%-95% чувствителен).
* Возбудитель требователен к средам культивирования, поэтому при его культивировании в условиях in-vitro необходимо применение специальных транспортных сред и условий инкубации. К примеру биоптаты можно хранить в транспортной среде Стюарта в течении 24 ч при 4°C
* *Питательные среды:*

- Skirrow агар

- Колумбийский агар с кровью

- Pylori –агар (обогащенный бараньей или лошадиной кровью)

* Агар с сердечно-мозговым экстрактом
* Триптиказо-соевый агар

На кровяном агаре образуют мелкие прозрачные колонии размером 1-2 мм.
Некоторые штаммы проявляют гемолитическую активность(альфа-гемолиз).
Микроаэрофилы (80-90% N2, 5-10% CO2, 5-10% O2).Растут на сложных питательных средах при 35-37°C в течение 5-7 дней. В жидких средах образуют поверхностную голубовато-серую пленку.

***Серологический метод:***

* *ELİSA (enzyme-linked immunosorbent assay)*
* *Вестерн-Блот*
* *Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)*
* *Реакция связывания комплемента(РСК)*
* *Латекс агглютинация*
* *Экспресс-тест на антитела (в сыворотке крови)*

***Метод определения антигенов в кале***

* Неинвазивный метод определения антигена H.pylori в кале прост и легок в выполнении, и позволяет выявить активную инфекцию.
* Данный тест используется при эпидемиологических исследованиях для выявления частоты встречаемости хеликобактерной инфекции у бессимптомных лиц, а также для контроля эффективности лечения (через 4 недели). Чувствительность и специфичность метода до 95%

***Уреазный дыхательный тест***

*Пациенту дают выпить раствор мочевины, помеченной углеродным изотопом 13С. Под действием уреазы возбудителя мочевина гидролизуется до аммиака и углекислого газа, содержащего меченый углерод. Изотопно-меченый углекислый газ поступает в кровоток, затем попадает в лёгкие, и далее − в состав выдыхаемого пациентом воздуха*

***Лечение и профилактика:***

* **Лечение – используют две группы препаратов: антациды**

**(омепразол) и антибиотики (метронидазол, кларитромицин, амоксициллин и др.).**

* **Специфическая профилактика не разработана!**