

Занятие 4

Микробиологическая диагностика желудочно-кишечных инфекций (шигеллез, холера, кампилобактериоз и хеликобактериоз)

Обсуждаемые вопросы:

- 1. Морфобиологические особенности шигелл.
 - • Патогенез и клинические проявления бактериальной дизентерии
 - • Микробиологическая диагностика бактериальной дизентерии, определение бактерионосительства.
 - • Специфическое лечение и профилактика бактериальной дизентерии.
 - • Механизм устойчивости к бета-лактамазам широкого спектра действия.
- 2. Общие свойства, классификация, биовары и серовары вибрионов.
 - • Морфобиологические особенности холерных вибрионов.
 - • Дифференциация биоваров *Cholerae*, *El-Tor* и вибрионов из серогруппы O139
 - • Патогенез и клинические проявления холеры
 - • Микробиологическая диагностика холеры
 - • Специфическое лечение и профилактика холеры
- 3. Морфобиологические особенности кампилобактерий, патогенез и клинические проявления вызываемых ими заболеваний.
 - • Микробиологическая диагностика кампилобактериоза
- 4. *Helicobacter pylori*, морфобиологические особенности, факторы патогенности, роль в патогенезе гастрита, язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, рака желудка и MALT-лимфомы.
 - • Микробиологическая диагностика хеликобактериоза, применение инвазивных и неинвазивных методов исследования. Дыхательный уреазный тест (ДУТ)

Цель занятия:

- дать информацию студентам о морфобиологических особенностях возбудителей дизентерии, холеры, кампилобактериоза и хеликобактериоза, патогенезе, клинике, микробиологических методах диагностики, принципах специфического лечения и профилактики вызываемых ими заболеваний.

Семейство Enterobacteriaceae

(основные представители ,имеющие медицинское значение)

Citrobacter species

Enterobacter spp.

Escherichia spp.

Klebsiella spp.

Morganella spp.

Proteus spp.

Salmonella spp.

Serratia spp.

Shigella spp.

Yersinia spp.

Род SHIGELLA

Семейство: Enterobacteriaceae

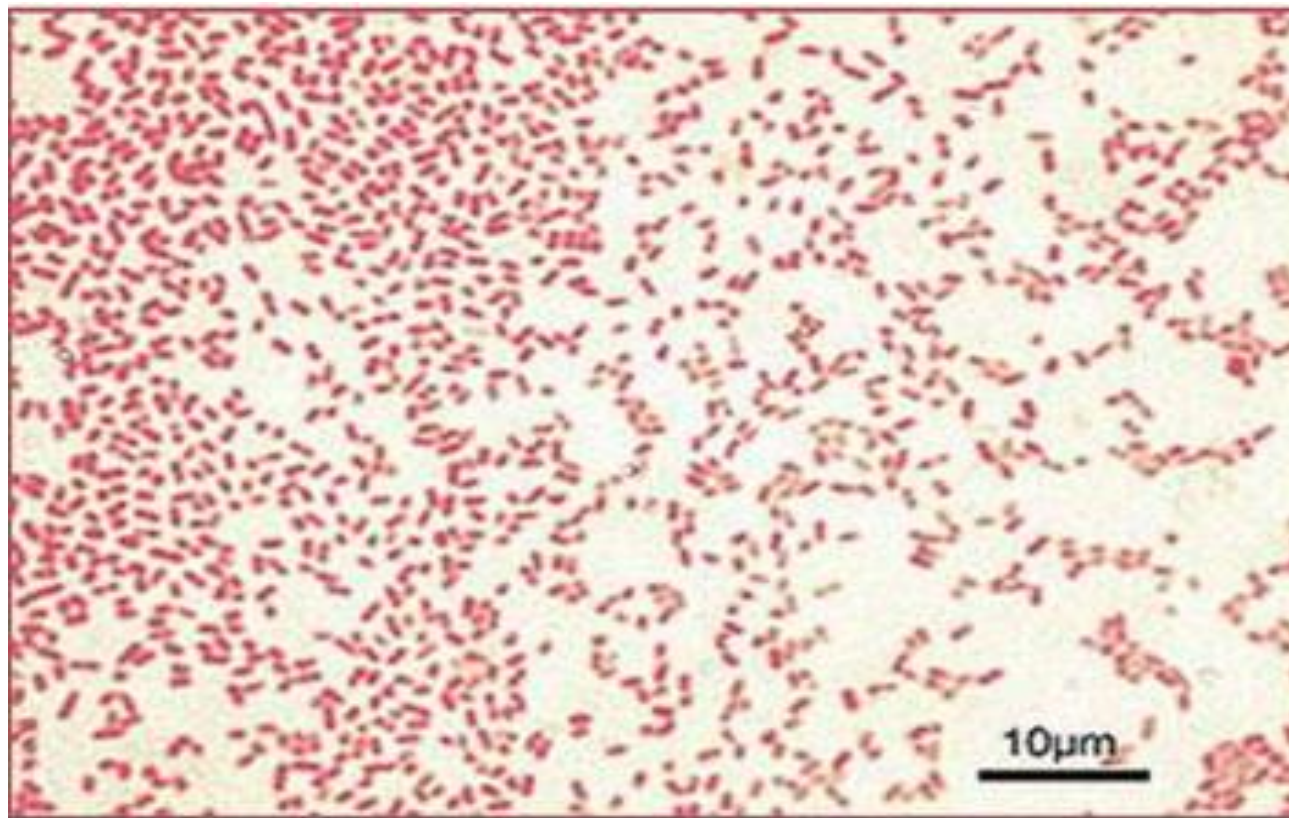
Род: Shigella

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

Морфо-биологические свойства:

:

Шигеллы –грамотрицательные неподвижные палочки размером 0.5-0.7х2-3 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.

Род Shigella

(на среде Эндо образуют бесцветные колонии)



S. sonnei –

(на кровяном агаре образуют негемолитические колонии)



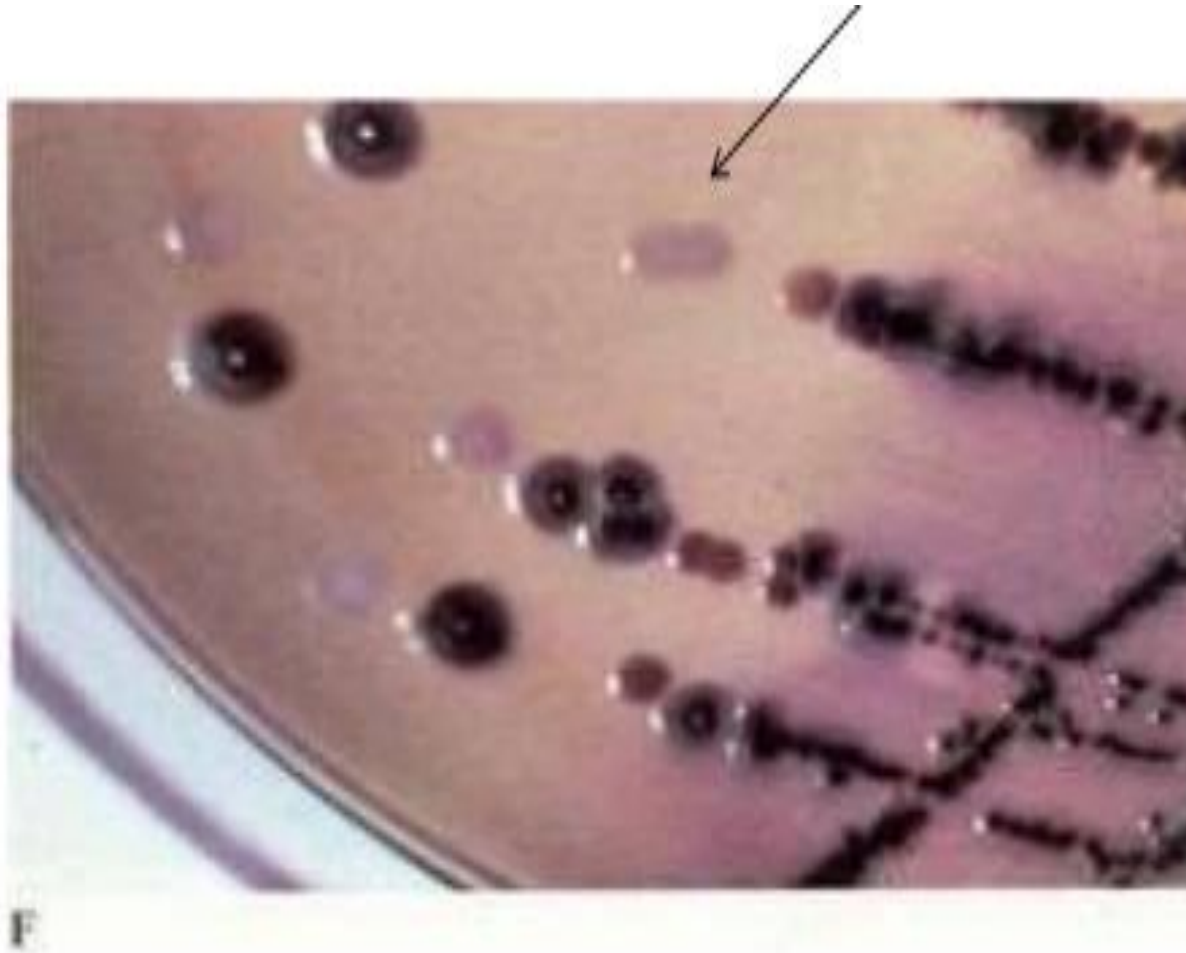
Род Shigella

на среде SS (Salmonella-Shigella) образуют прозрачные или полупрозрачные бесцветные колонии



Род Shigella

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

Биохимические свойства бактерий рода *Shigella*

Подгруппы	Ферментация					Образование индола	Образование H ₂ S
	лактоза	глюкоза	маннит	дульцит	сахароза		
<i>Sh.dysenteriae</i>	-	+К	-	-	-	-	-
<i>Sh.flexneri</i>	-	+ К	+	±	-	±	-
<i>Sh.boydii</i>	-	± К	+	+	-	+	-
<i>Sh.sonnei</i>	+ постепенно	+ К	+	-	+ постепенно	+	-

Род Shigella **(антигенная структура)**

Шигеллы обладают соматическим О-антигеном, на основании которого род разделяют на А, В, С, D серогруппы, а их в свою очередь – на серотипы.

Серогруппа А : *Shigella dysenteriae* (12 серотипов)

Серогруппа В : *Shigella flexneri* (9 серотипов)

Серогруппа 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* TTCC –системы
- Белки внутриклеточного распространения
- Эндотоксин
- Шига-токсин (экзотоксин, продуцируется S.dysenteriae 1 серотипа)
- Шигаподобные токсины (за исключением S.dysenteriae 1 серотипа)

Shigella

- **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 обуславливает 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) .

Патогенез

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.

Язвы толстого кишечника

Слизистая оболочка толстого
кишечника (норма) →



Слизистая оболочка толстого
кишечника (язвы) →



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 37°C 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.

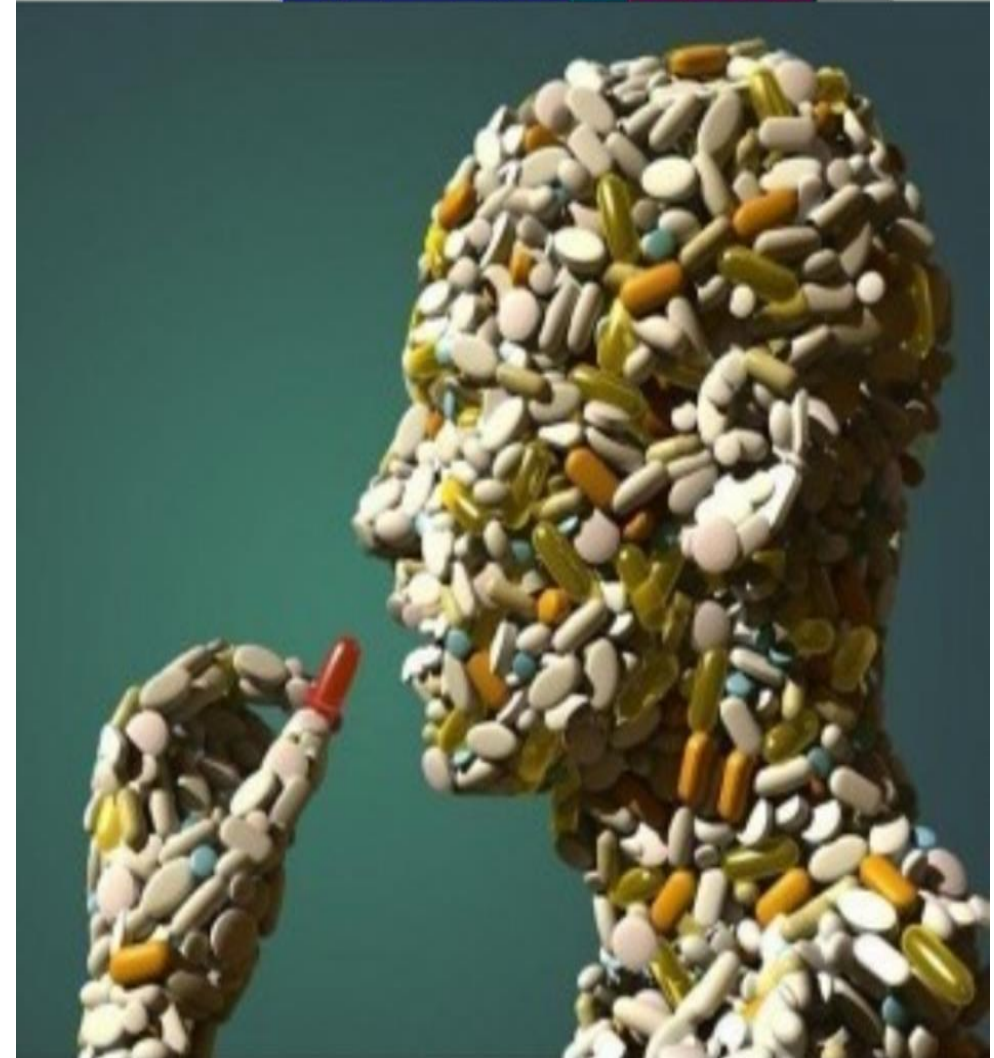
Определение бактерионосительства

- 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 !

ANTIBIOTICS:-



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.

Vibrio -

Семейство: *Vibrionaceae*

Род: *Vibrio*

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

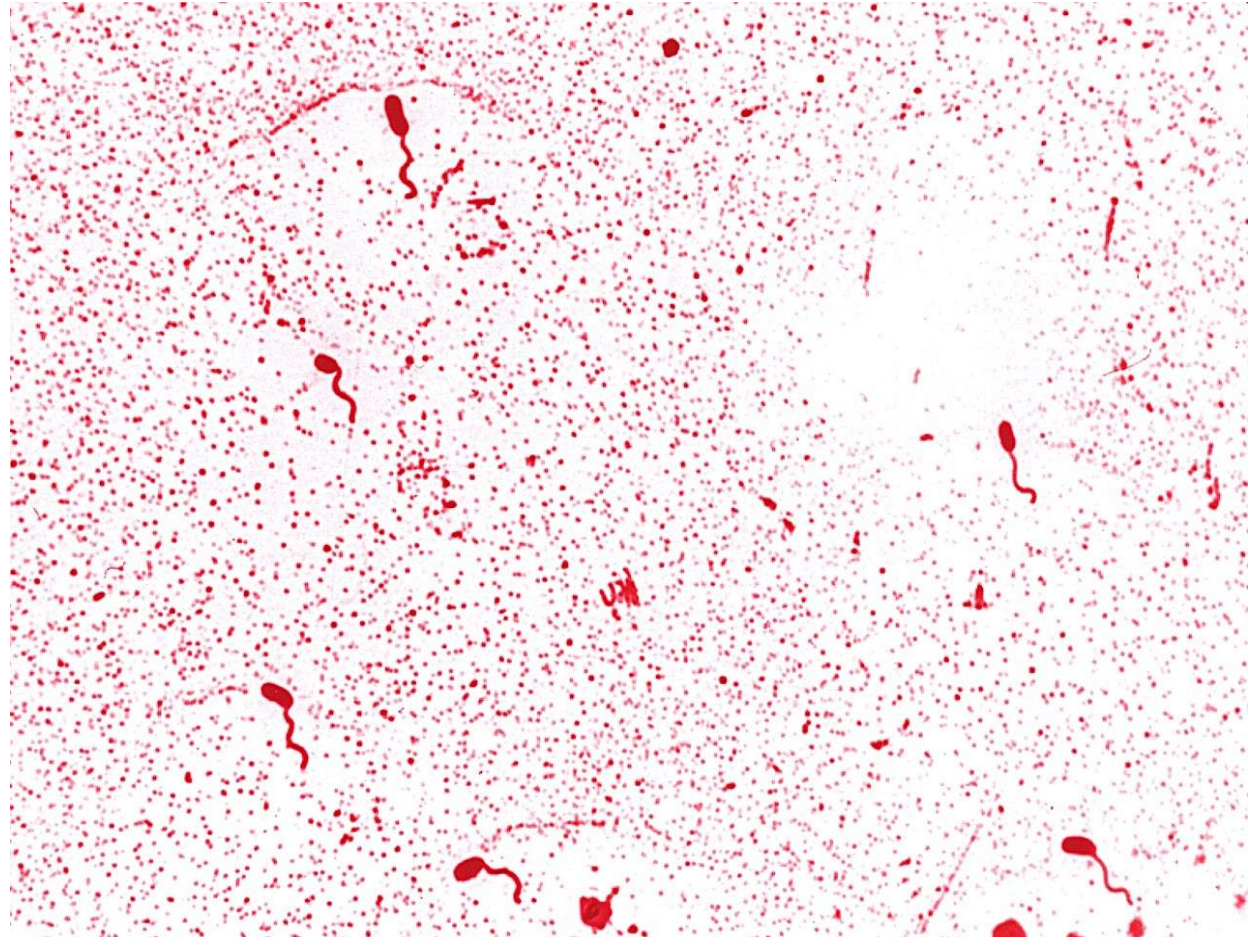
2 биовара - Cholerae и El Tor.



Морфо-биологические свойства:

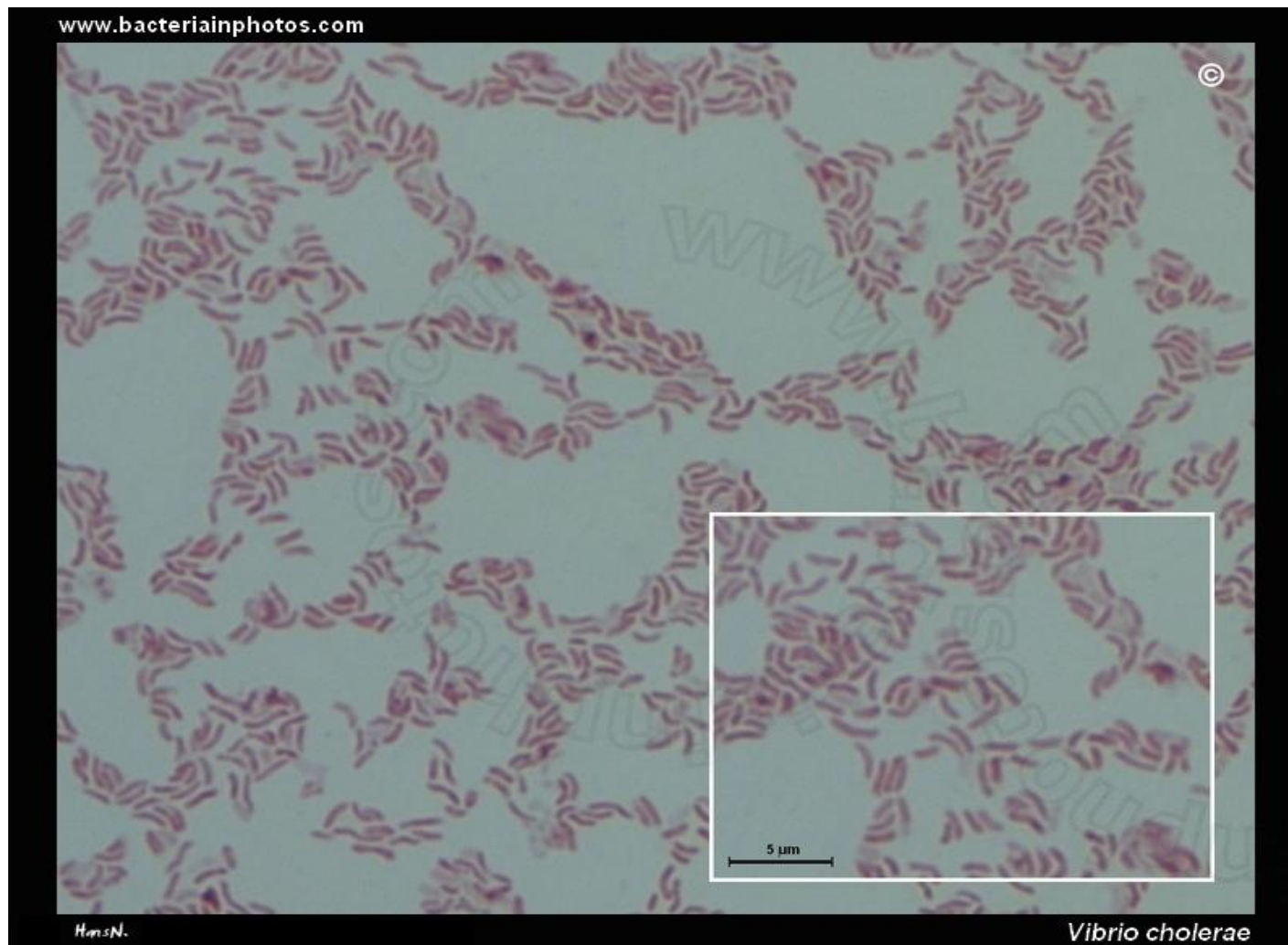
Род Vibrio -

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



V.cholerae

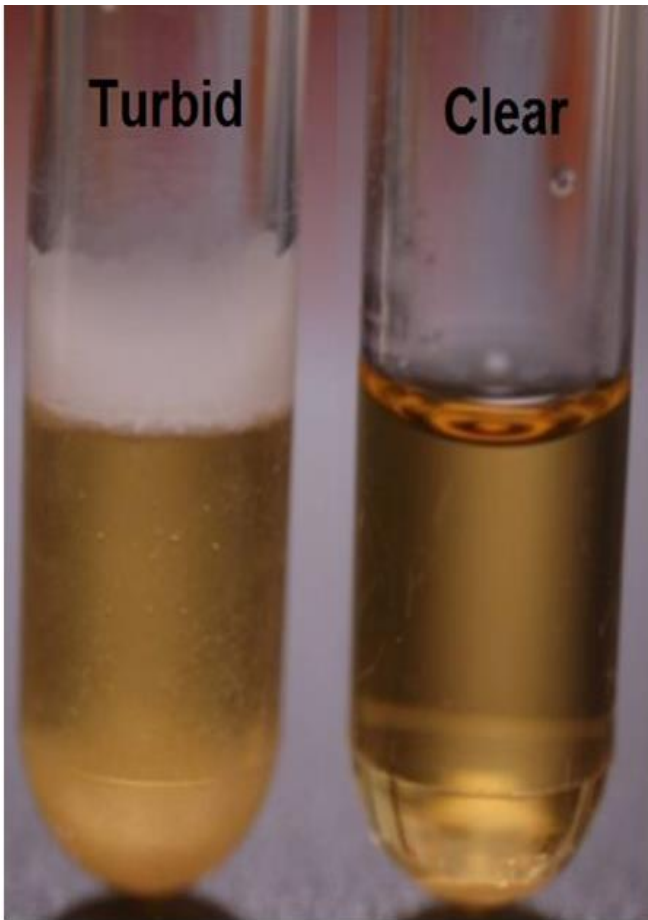
(мазок из чистой культуры, окрашивание по Граму, x1000)



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) на.

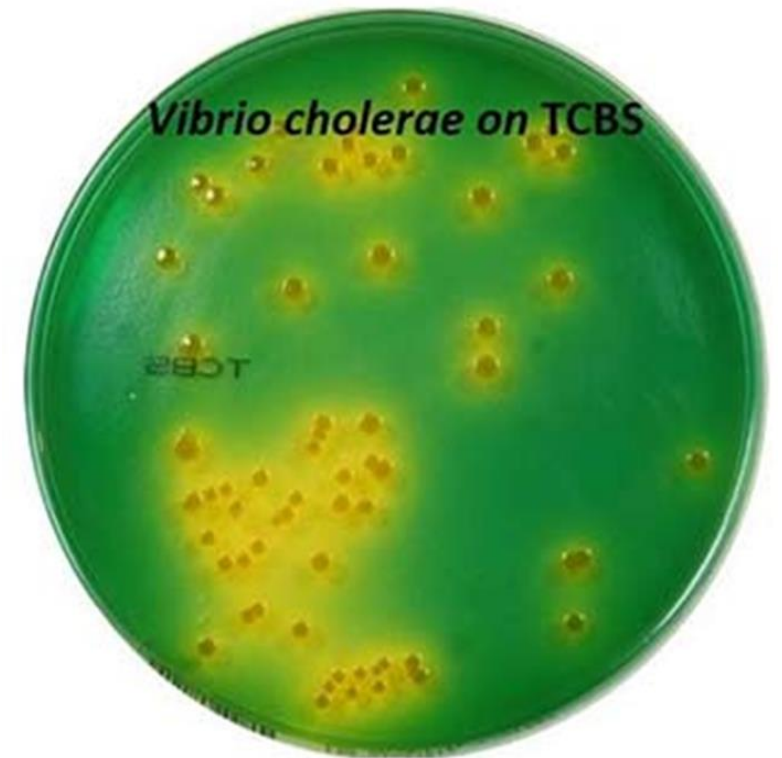
***Род Vibrio –
(культуральные свойства)***



1% пептонная вода



Рост на щелочном-кровяном агаре



TCBS -агар

V.cholerae –желтые колонии

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

Род Vibrio –

(биохимические свойства)

TSI – Triple Sugar Iron agar –

3 сахара (глюкоза, лактоза, сахароза) железо



TSI агар– до инокуляции



Наклонная часть:
Лактоза/сахароза не ферментируется (-)



Сероводород (-)
Газ (-)



Нижняя часть:
Глюкоза ферментируется до кислоты(+)



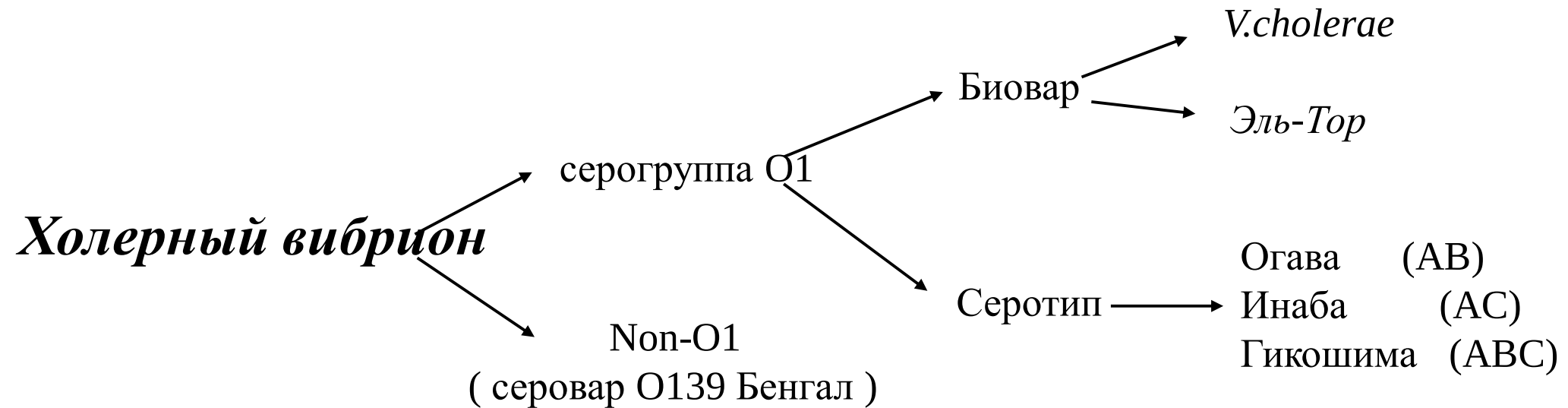
Дифференциальные признаки возбудителей холеры:

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

Vibrio .— (антигенная структура)

- Холерные вибрионы имеют термостабильный О-антиген и термолабильный Н-антиген. Н-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 (O1, O2, O3 и др.). Биовары *Cholerae* и *El Tor* включены в серогруппу O1.
- Антиген O1 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 O1 и O139.

Холерный вибрион



Vibrio—

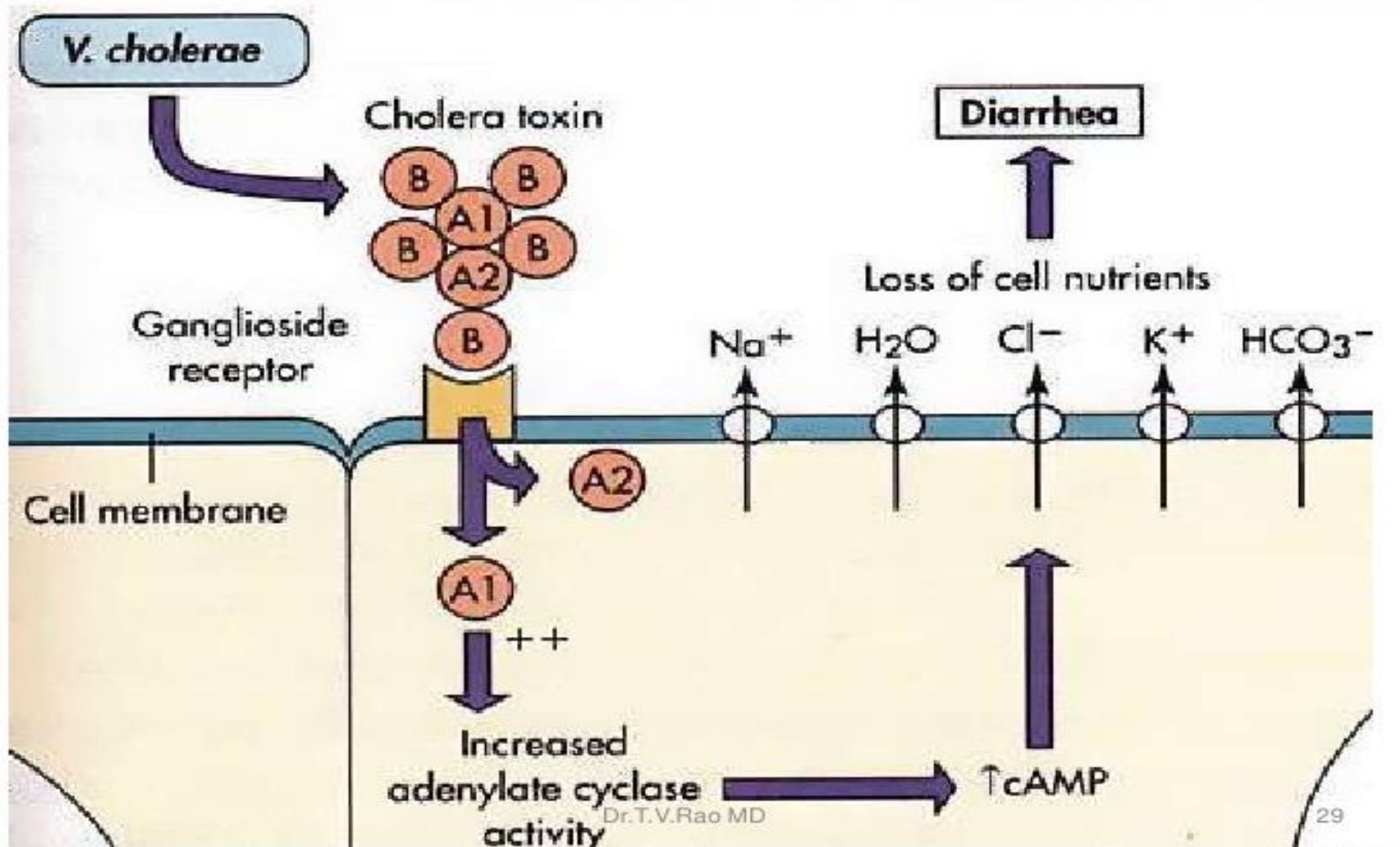
- *Устойчивость к внешним факторам внешней среды* - холерные вибрионы мгновенно уничтожаются при кипячении при 60°C в течение 5 мин. Сохраняются в водоемах несколько недель. Они чувствительны к высыханию и воздействию солнечных лучей, а также к высоким концентрациям дезинфицирующих средств.
- *Патогенность для животных.* В естественных условиях животные нечувствительны к возбудителям холеры.
- *Источник инфекции и пути заражения* - Источником инфекции являются больные или вибрионосители. Холерные вибрионы, попавшие во внешнюю среду с фекалиями, передаются здоровым людям фекально-оральным механизмом - водным, пищевым, а иногда и контактно-бытовым.

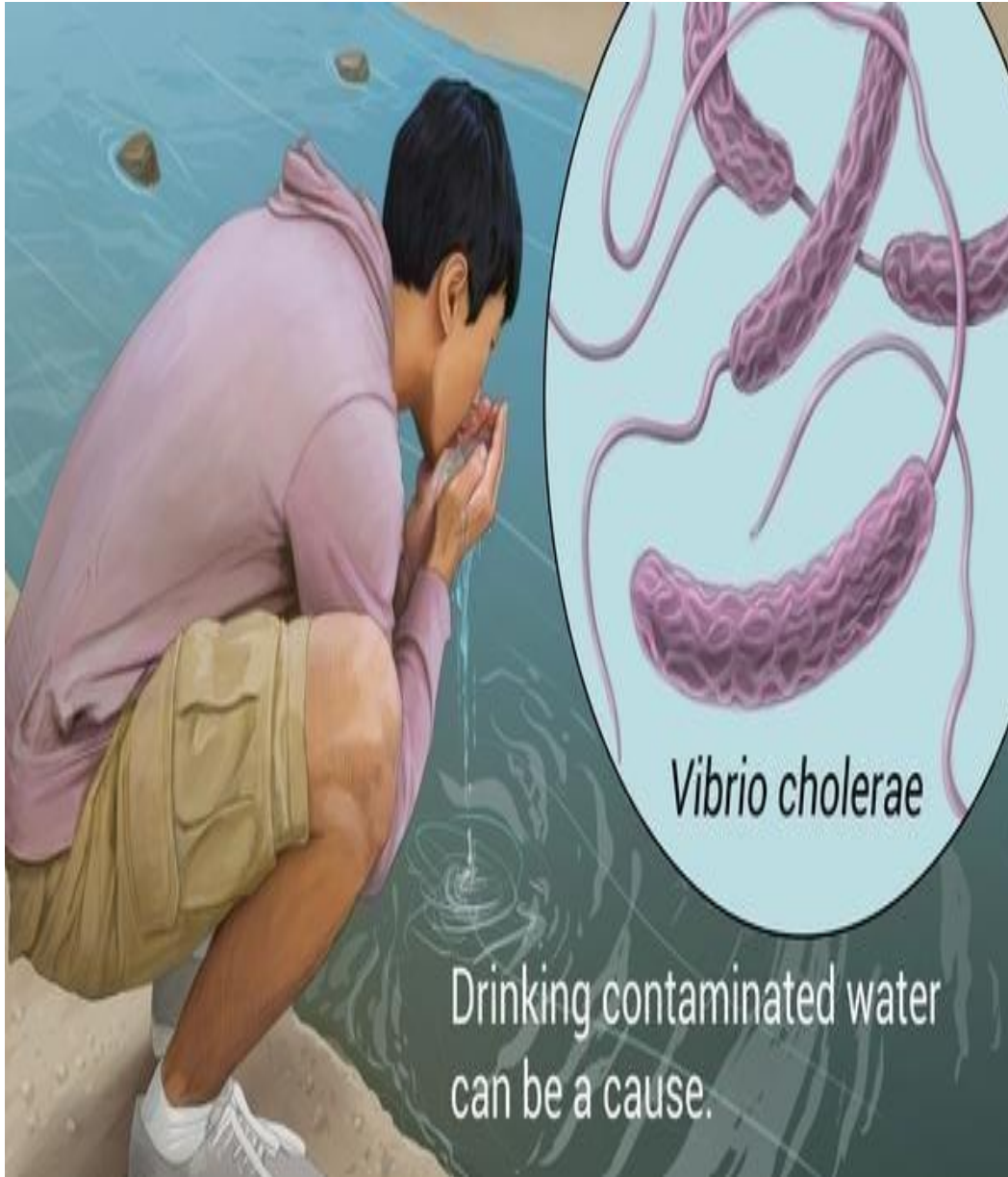
Род Vibrio – (факторы патогенности)

- 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



Механизм действия токсина холеры(холероген токсина):





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 - $10^9 - 10^{10}$

с пищей - $10^2 - 10^4$

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 34° С

Клинические проявления:

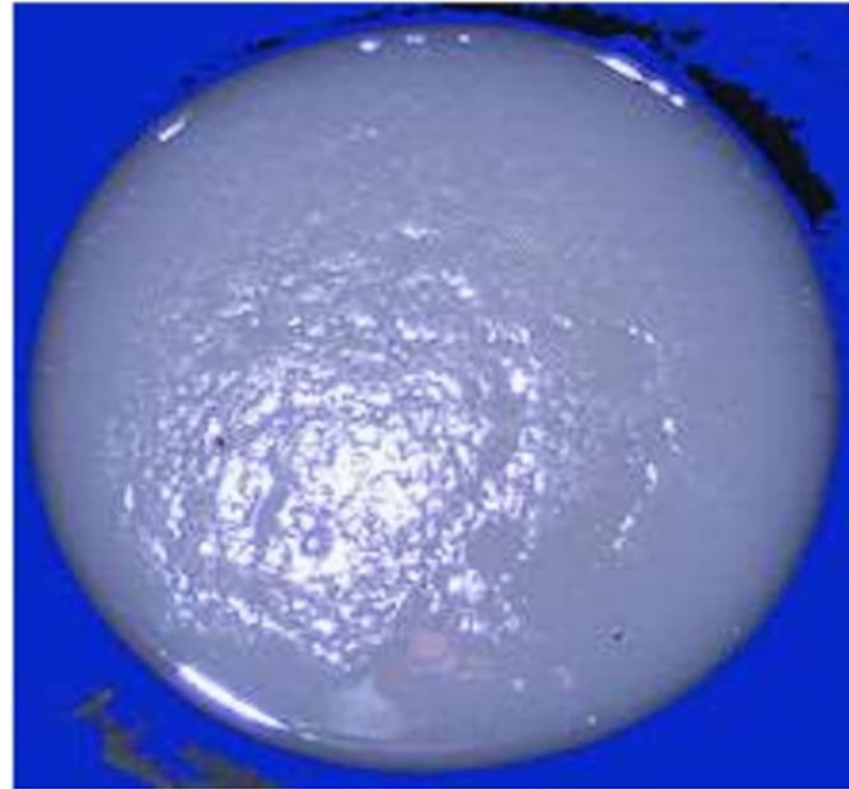
«рука прачки»

«симптом заходящего солнца»

«гиппократово лицо»

«холерный алгид»

*(снижение температуры тела до
34° С)*



Стул носит характер «рисового отвара»

Клинические проявления:

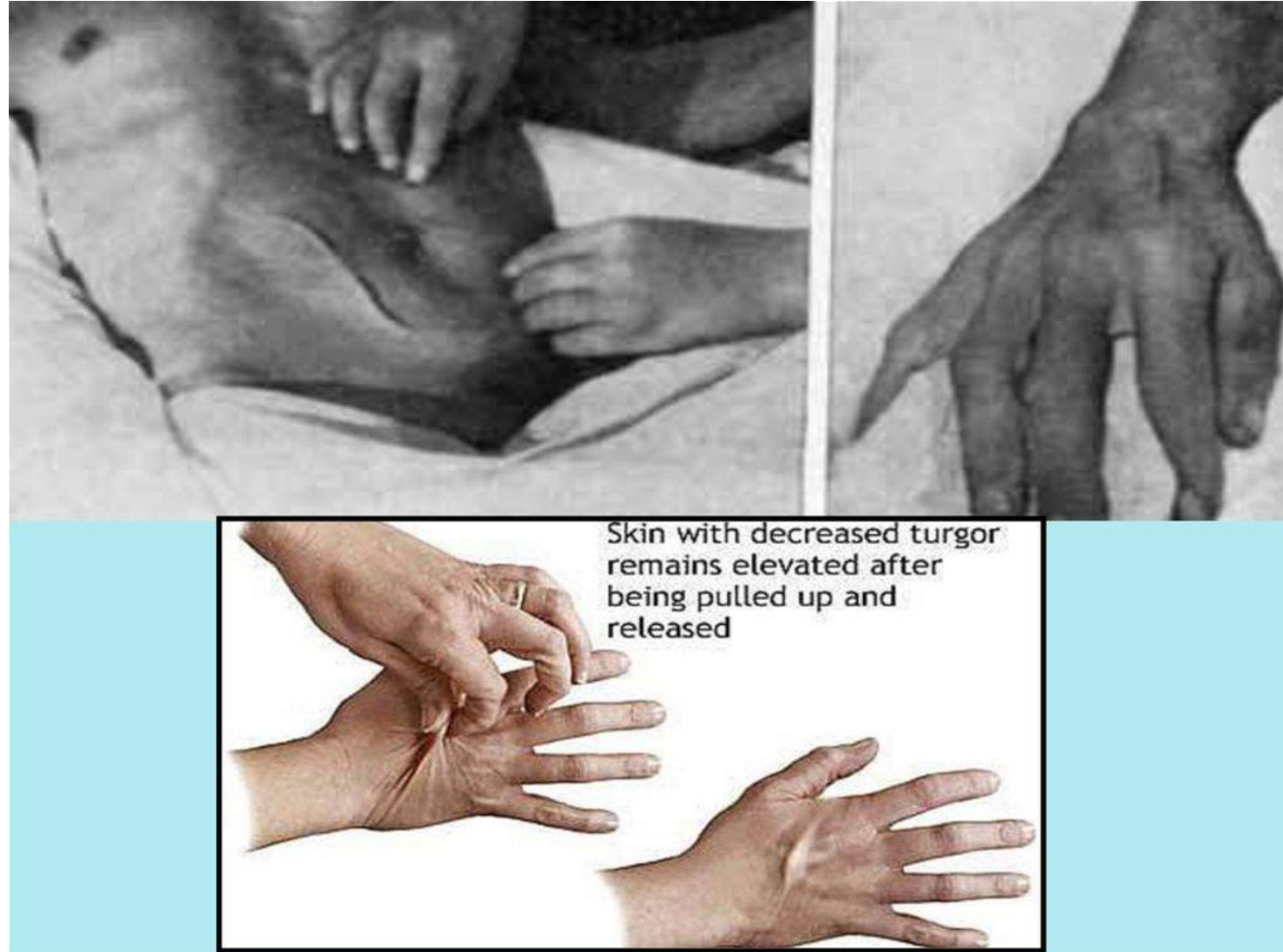


«гиппократово лицо»



«рука прачки»

Клинические проявления:



В результате дегидратации теряется эластичность(тургор) кожи



!!!

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 !

Микробиологическая диагностика холеры:

➤ *Микроскопический метод* – приготовление мазков из патологического материала, окраска по Граму , определение подвижности методом «раздавленной», «висячей» капли .

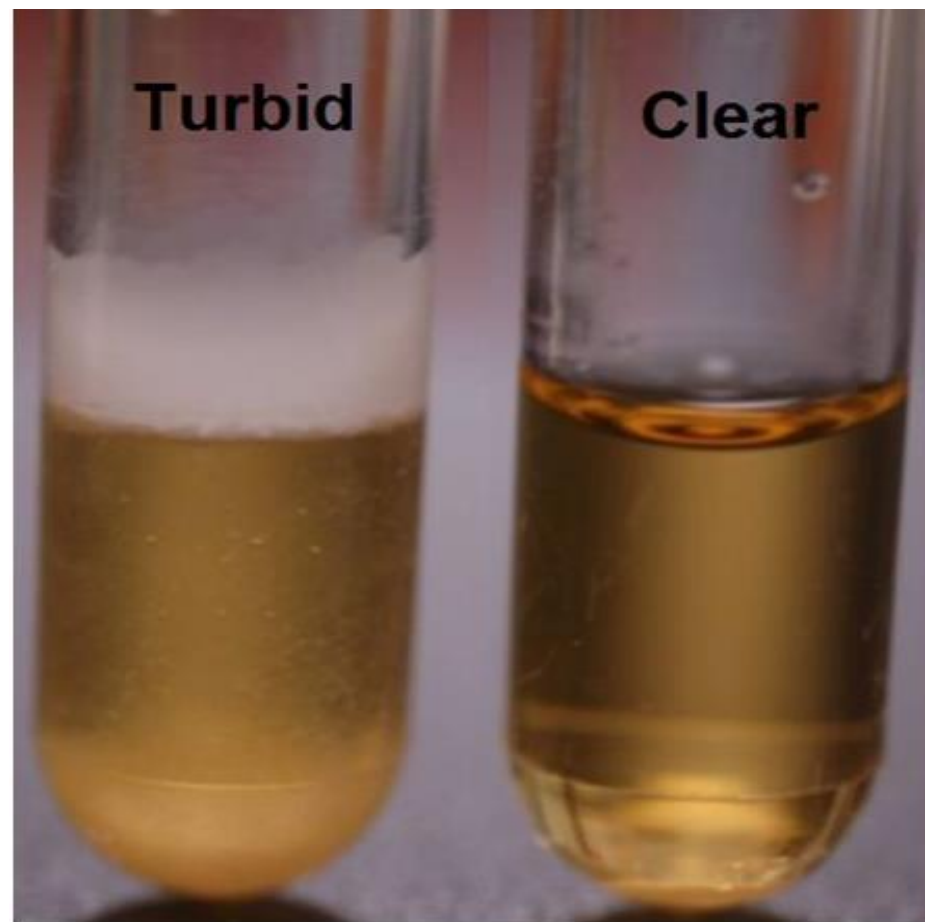
➤ *Бактериологический (культуральный)*

инокуляция материала в 1% в щелочно-пептонную воду, агар ТВС, щелочной кровяной агар (рН-9.0), культивирование при температуре 37° С. 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 –

Является селективной 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.



1% щелочная пептонная вода

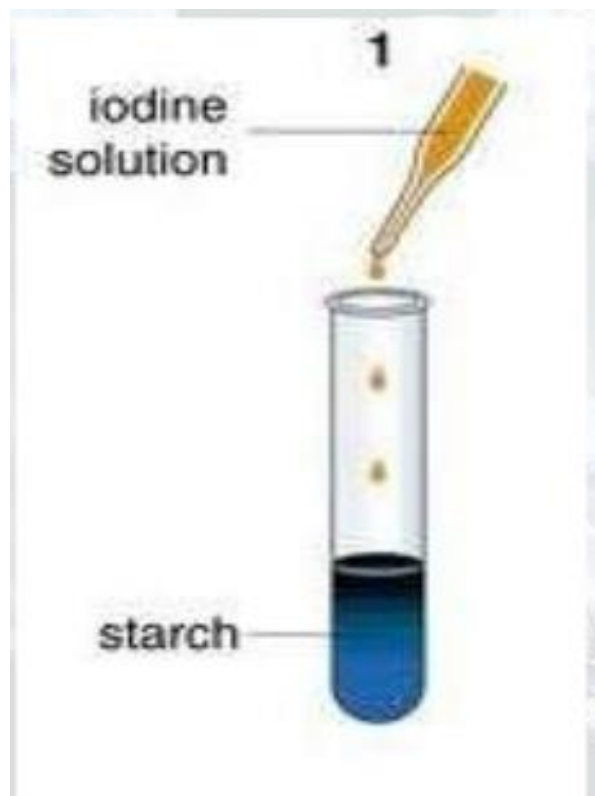
Рост на щелочном кровяном агаре

*(биовар El-Tor вызывает гемолиз.
биовар cholerae не проявляет гемолитической
активности)*



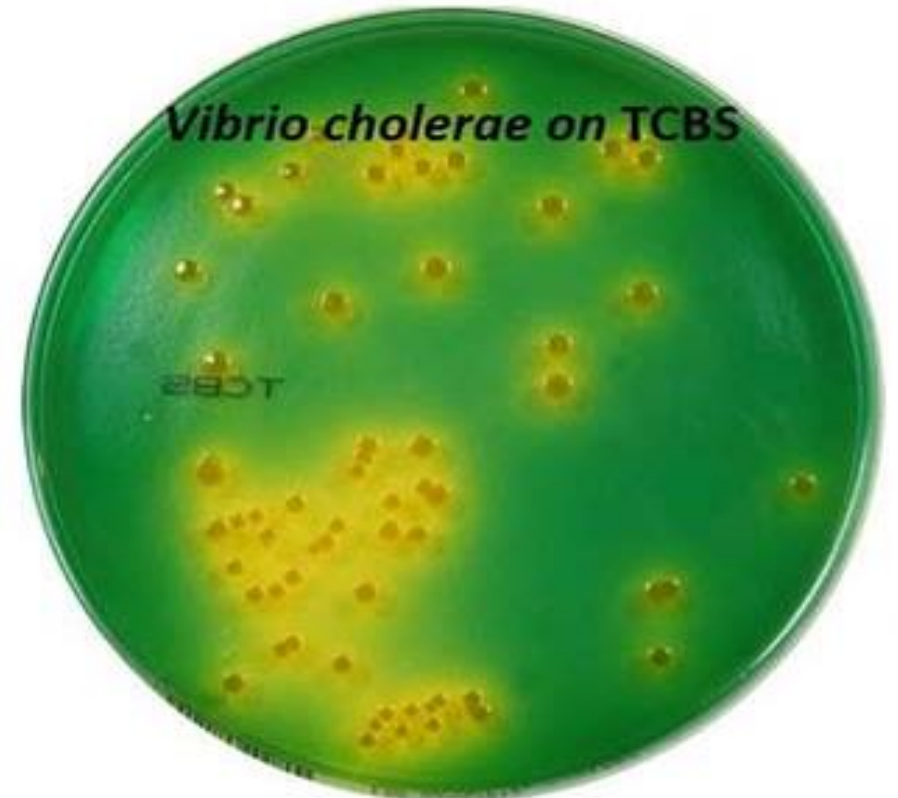
Тест на крахмал

- 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.



Желтые колонии V.cholerae

➤ *Серологический метод* — проводят постановкой развернутой реакции агглютинации со специфической О-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

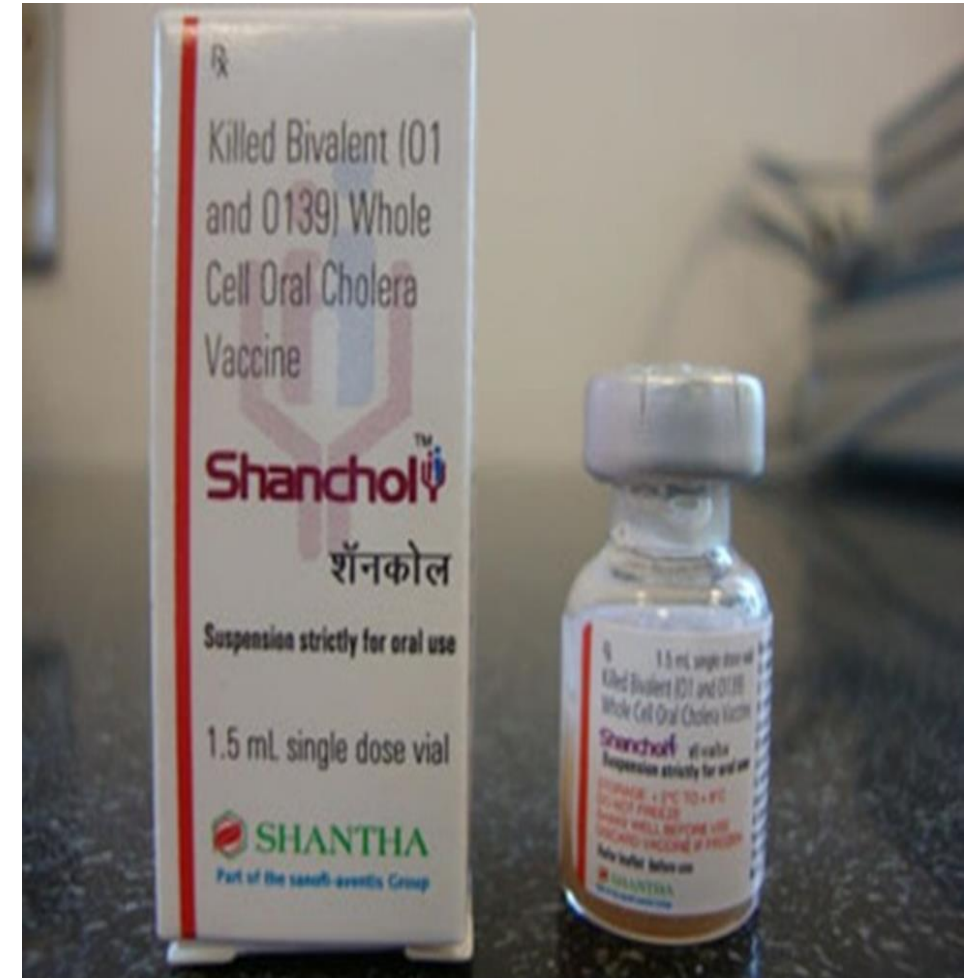
Лечение и профилактика:

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 гангрену подобную раневую инфекцию с флегмоной, миозитом, буллезными поражениями.
- *V. mimicus*, *V. hollisae*, *V. fluviales*, *V. alginolyticus*, *V. damsela*, *V. metschnikovi*

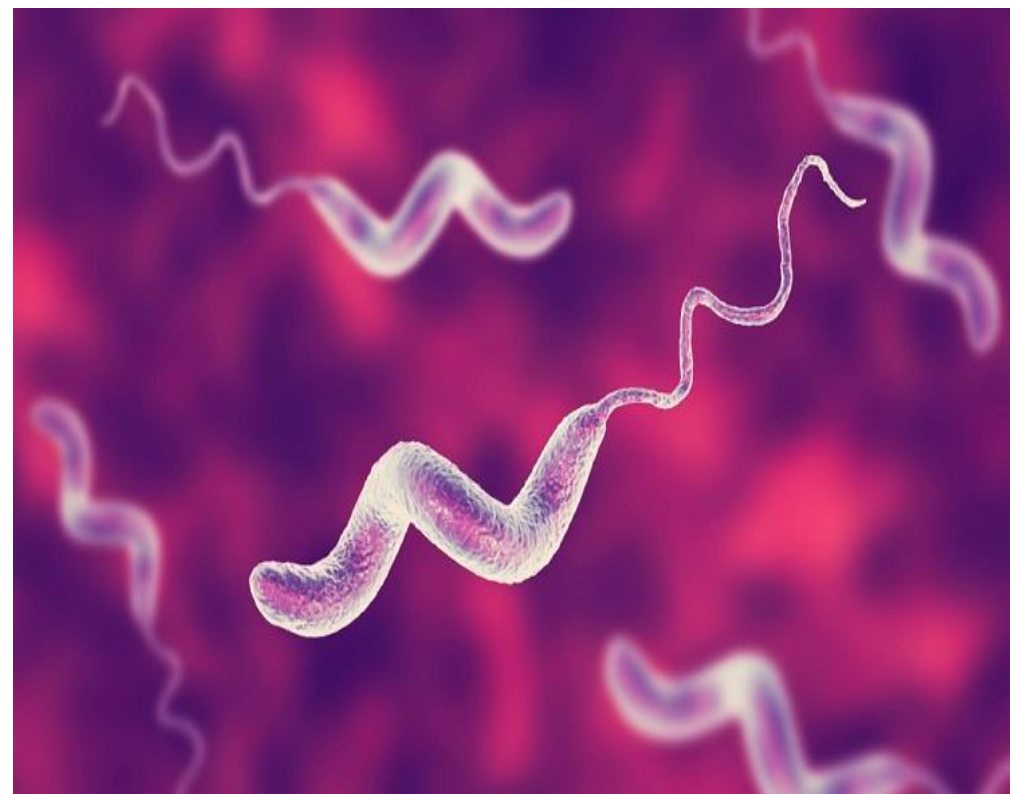
Кампилобактерии

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

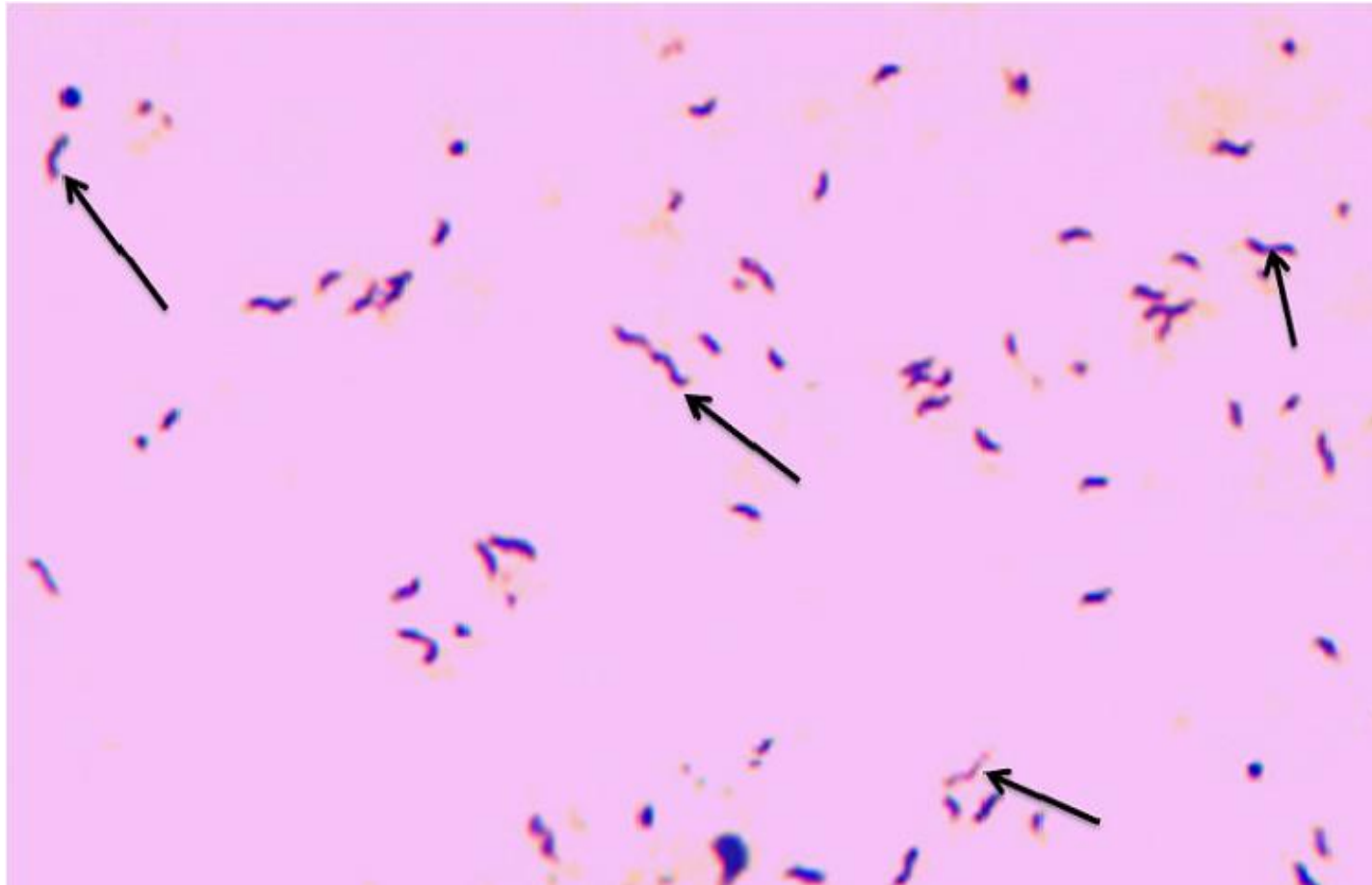
(морфобиологические свойства)

- 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)

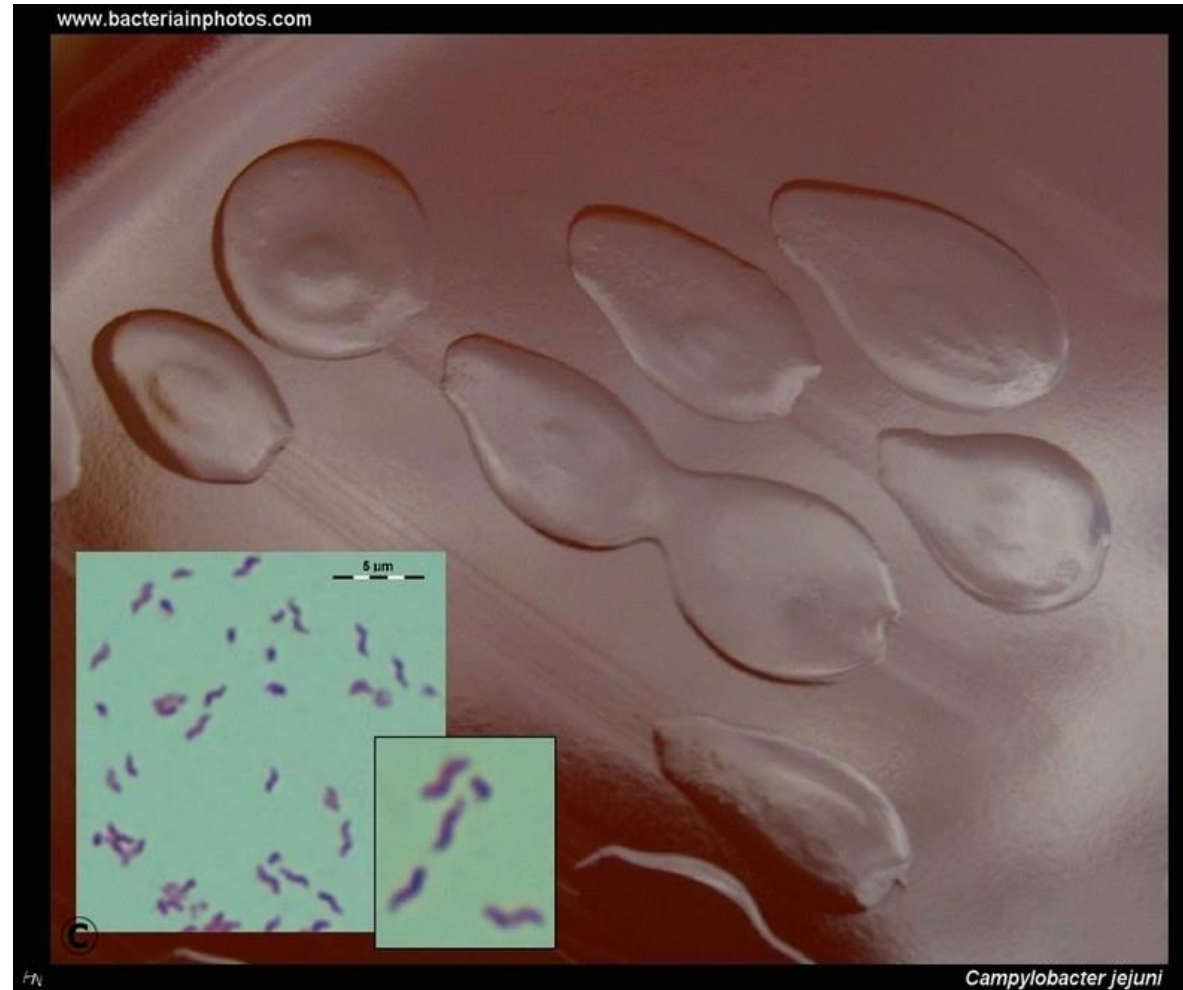
- Виды *Campylobacter* различаются по температуре культивирования. *C.jejuni* можно культивировать при температуре 42°C, а также при 36-37°C.
- В жидких питательных средах образуют серый налет с голубым оттенком.
- Требовательны к питательной среде. Растут на сложных питательных средах с добавлением 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 – изогнутые , грамотрицательные бактерии S-образной формы, подвижны, спор и капсулы не образуют.



«крылья чайки»
(*Campylobacter jejuni*, окраска по Граму, x100)

Campylobacter jejuni –
(колонии на кровяном агаре)



Род Campylobacter — (биохимические свойства)

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

Campylobacter jejuni -

- *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)

Клинические проявления:

- *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 42°C.*
- 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.

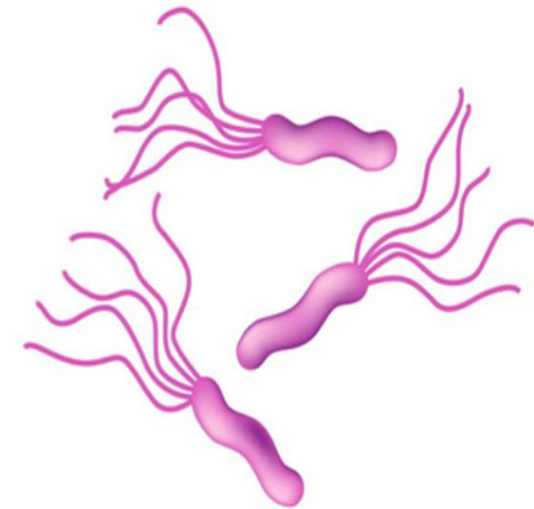
Уорреном при эндоскопической биопсии пилорического отдела желудка.

Helicobacter -

Семейство: Helicobacteriaceae

Род: Helicobacter

Вид: H.pylori

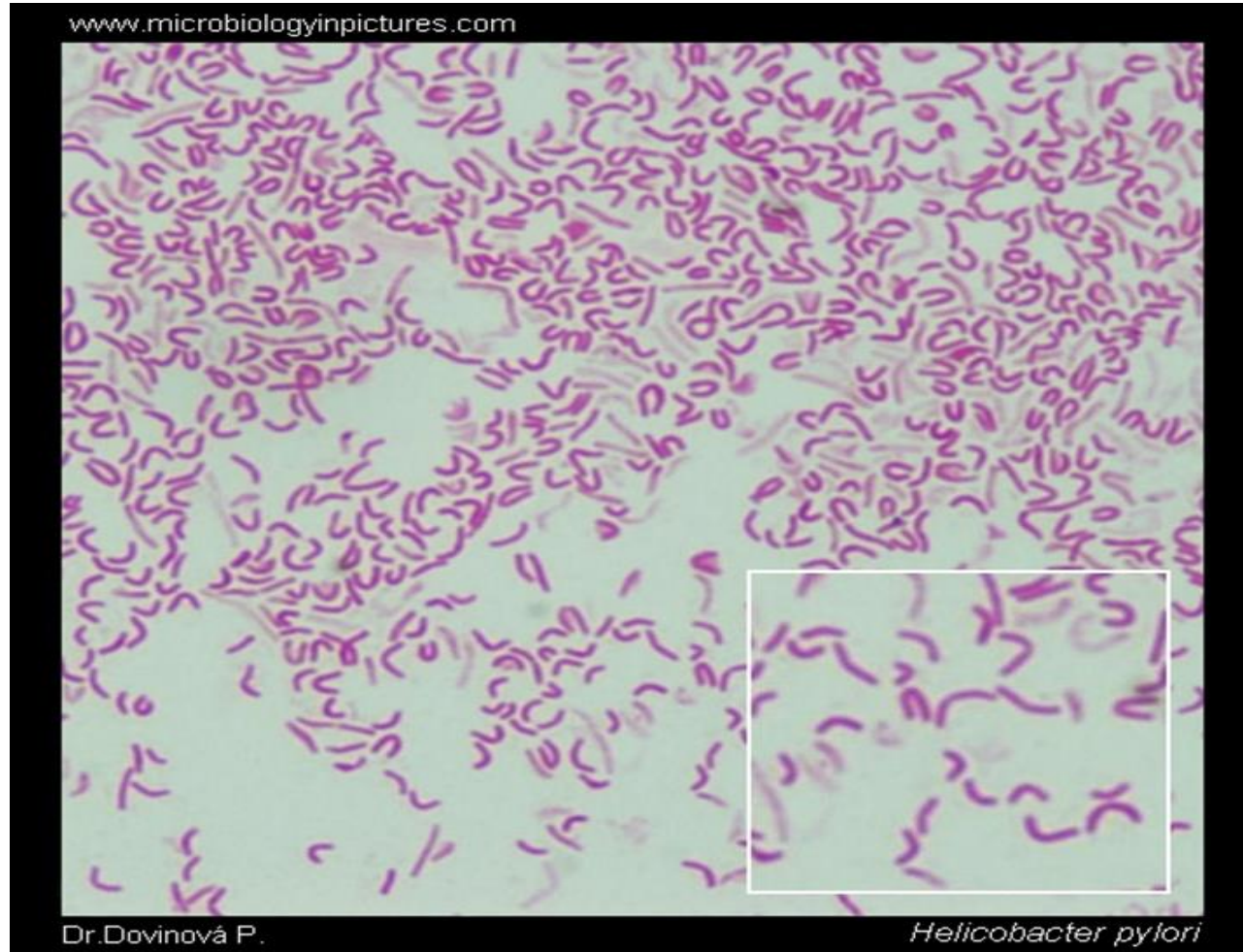


Helicobacter pylori

Helicobacter

- 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

Род Helicobacter – грамотрицательные, изогнутые или S –образные, подвижные, бескапсульные бактерии, спор не образуют.



«летающая ласточка»
(*Helicobacter pylori*, метод Грама, x100)

Культуральные свойства:

- микроаэрофилы.
- Не растут в аэробных и анаэробных условиях.
- Требовательны к питательной среде. Растут на кровяном и шоколадном агаре при 37°C, 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 –
(3-х дневные колонии на кровяном агаре)



Fig. 3 day culture of *Helicobacter pylori* on blood agar

Helicobacter pylori – (биохимические свойства)

✓ Слабая сахаролитическая активность:

- Сахара не сбраживают

✓ Слабая протеолитическая активность :

- Не восстанавливает нитраты
- образует сероводород

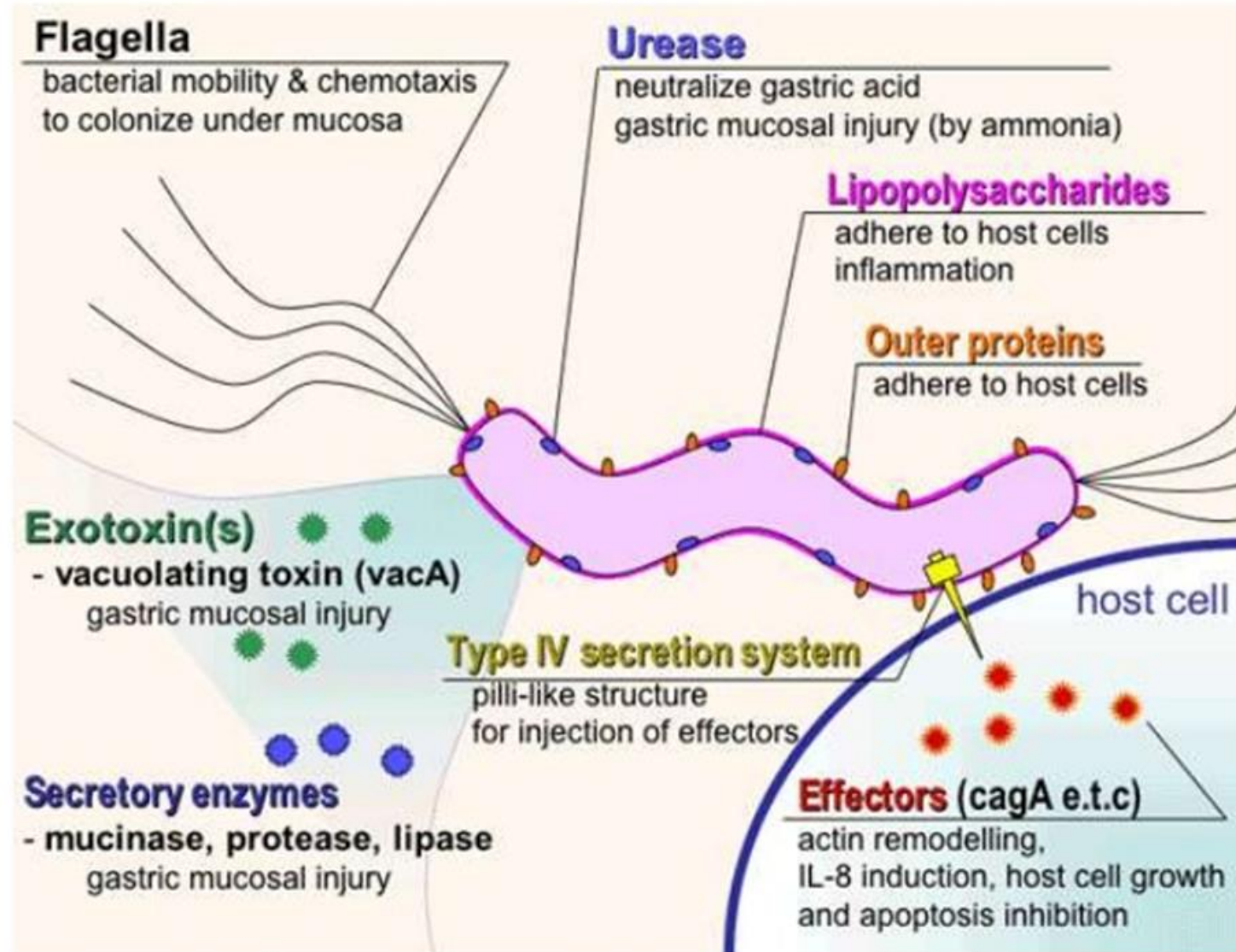
✓ оксидаза- и каталазаположителен

✓ обладает уреазной, транспептидазной и фосфатазной активностью

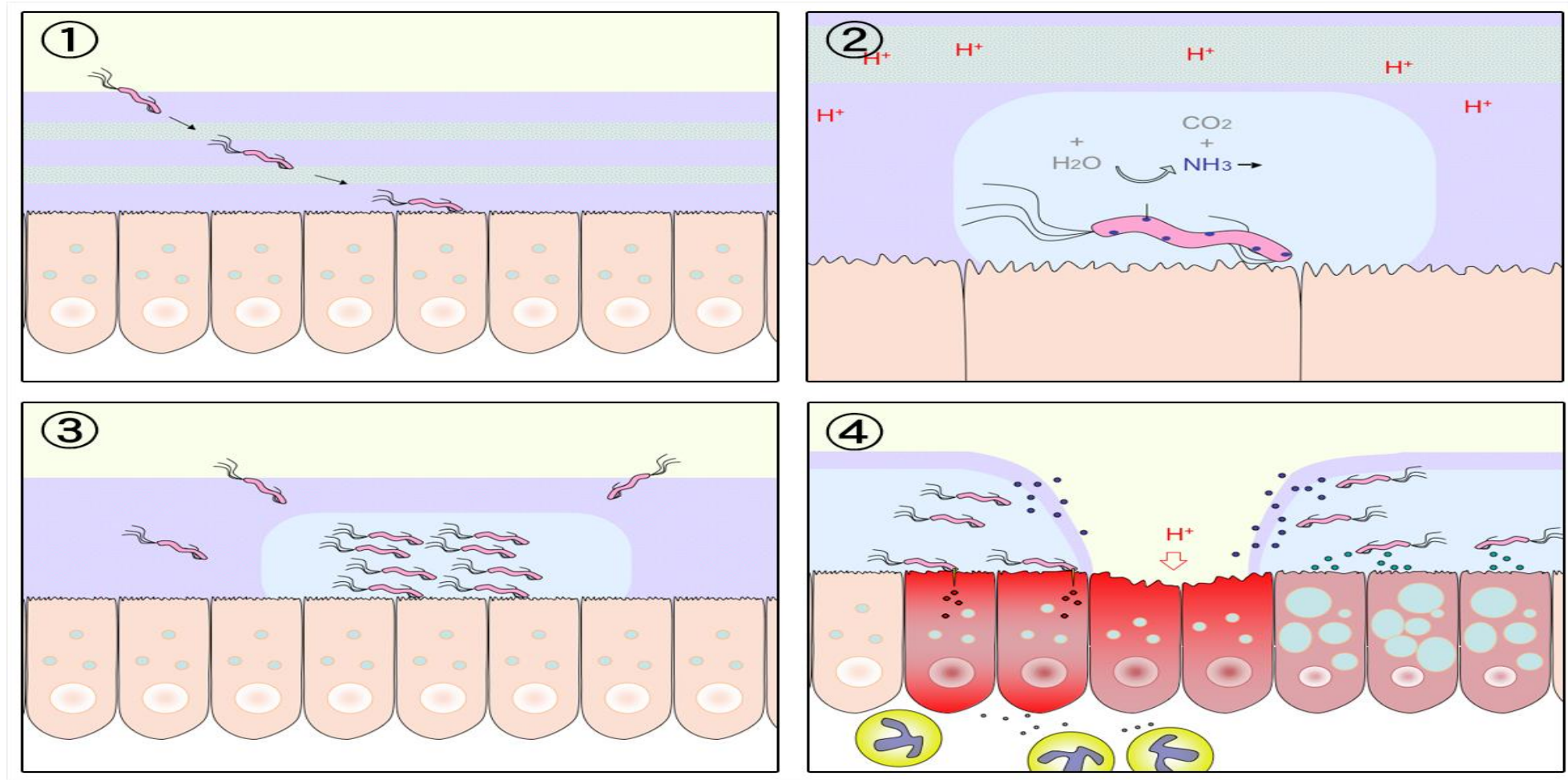
Helicobacter pylori – (факторы патогенности)

- **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*** - разлагает 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**

Helicobacter pylori – (факторы патогенности)



ПАТОГЕНЕЗ:



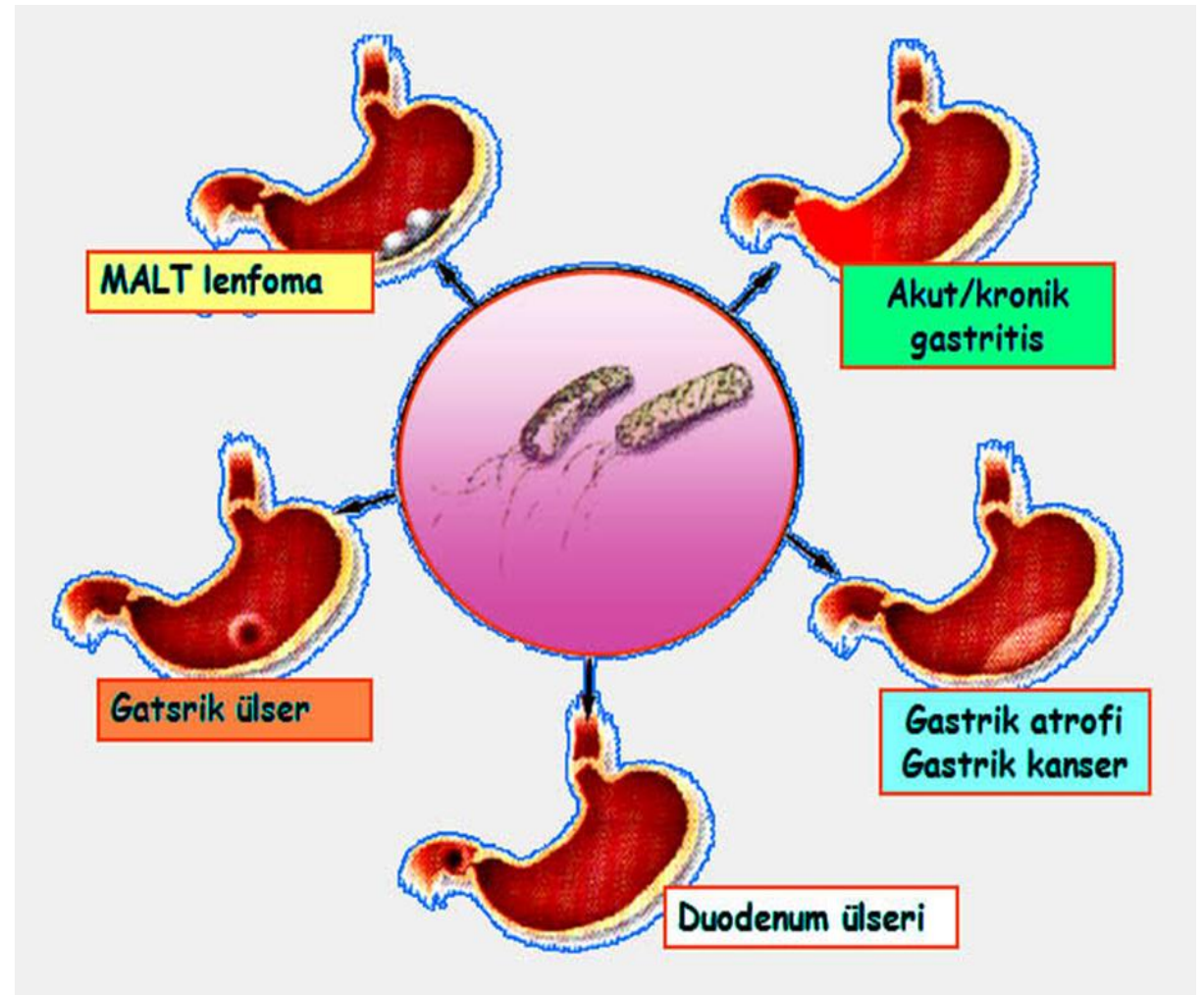
1. Внедрение *H. pylori* в слизистую оболочку.
2. Продукция уреазы *H. pylori* создает облако аммиака вокруг бактерии
3. Колонизация *H. pylori*
4. Слизистая подвергается действию желудочного сока и пепсина. В результате развивается химический ожог данной области слизистой оболочки, что в дальнейшем приводит к развитию воспаления

Helicobacter pylori

- *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)

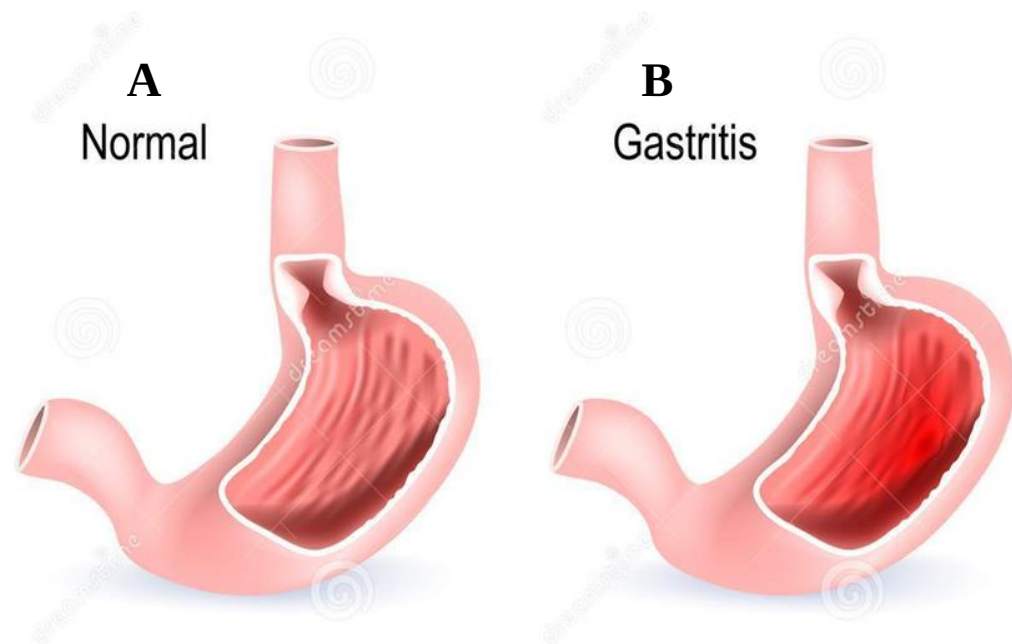


Helicobacter pylori

- **Иммунитет**

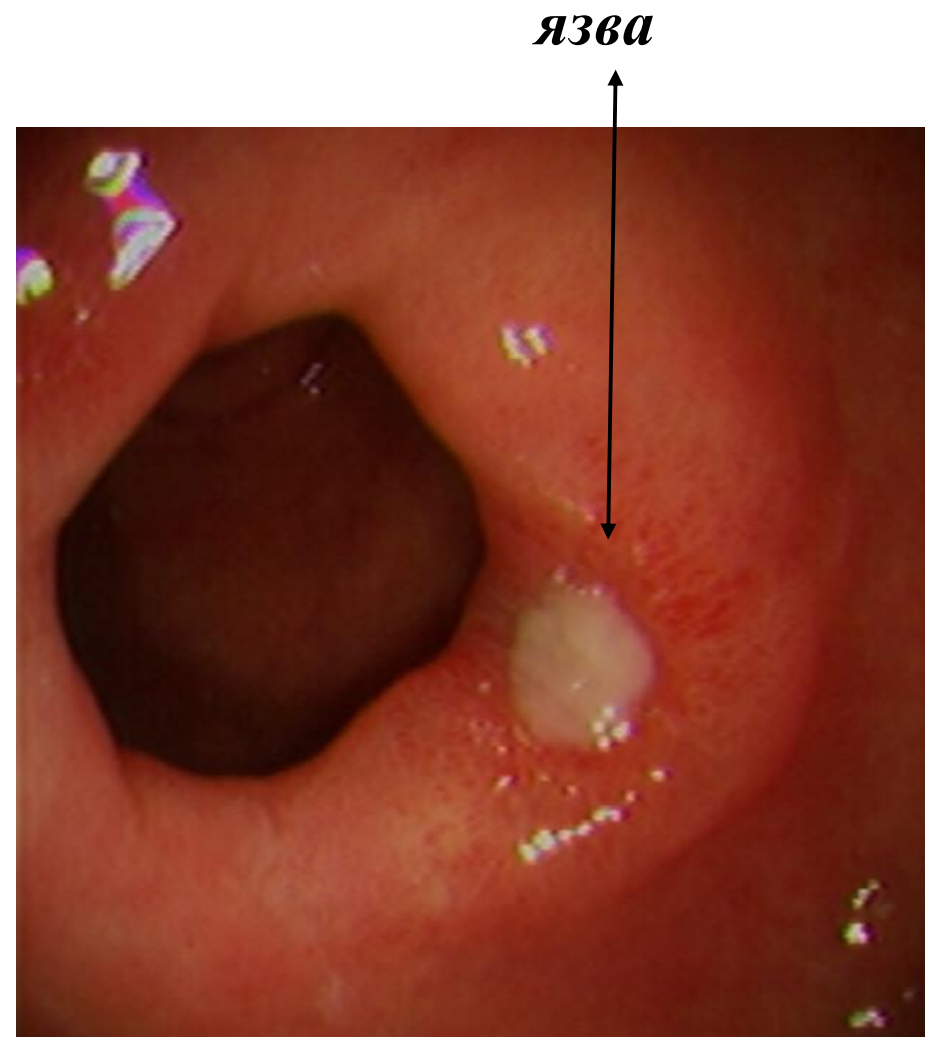
В сыворотке крови больных образуются специфические антитела класса М, G и А. Через несколько недель после лечения снижается титр специфических антител.

Эндоскопия



Эндоскопия желудка

- а) Слизистая желудка - в норме
- б) Слизистая желудка – при гастрите



Язва пилорического канала желудка

Микробиологическая диагностика хеликобактериоза:

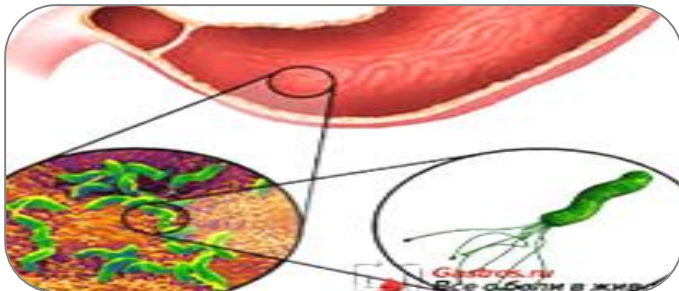
Материалы исследования:

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

ДИАГНОСТИКА

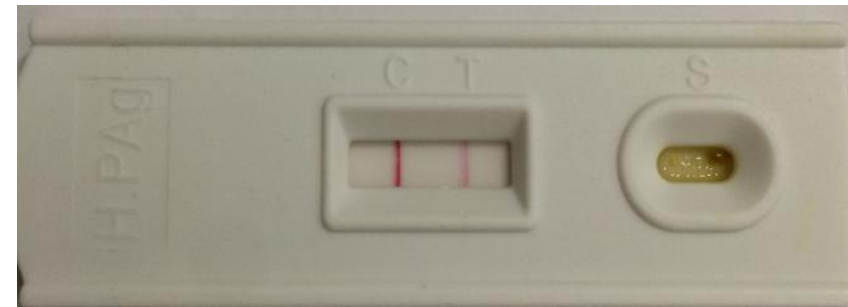
инвазивный

- эндоскопия
- гистологический
- ускоренный уреазный тест
- культуральный
- молекулярно-генетический метод



неинвазивный

- уреазный дыхательный т.
- 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

Культуральный метод

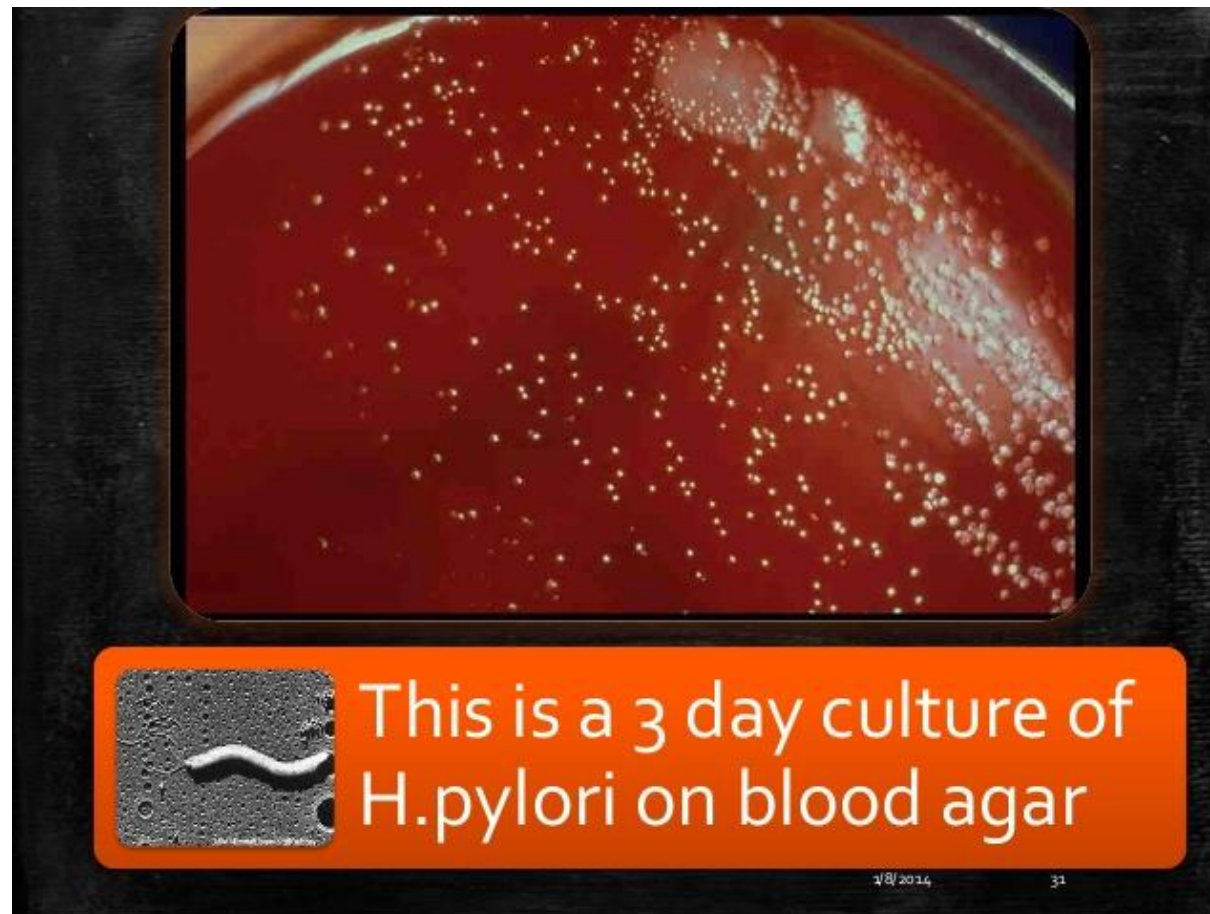
- *Питательные среды:*

- 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).

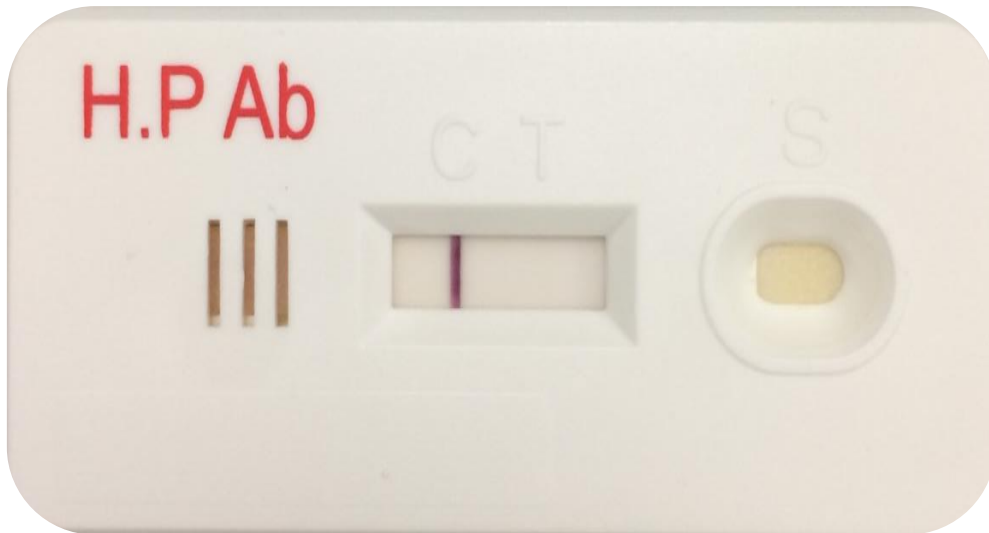
Микроаэрофилы (80-90% N₂, 5-10% CO₂, 5-10% O₂). Растут на сложных питательных средах при 35-37°C в течение 5-7 дней. В жидких средах образуют поверхностную голубовато-серую пленку.



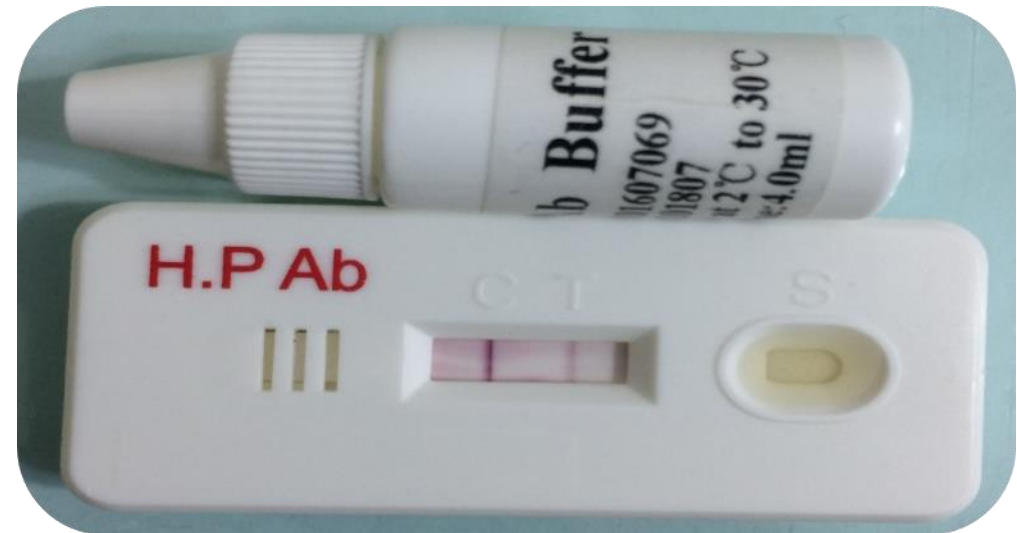
Серологический метод:

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

Экспресс-тест на антитела в сыворотке крови:



Отрицательный результат

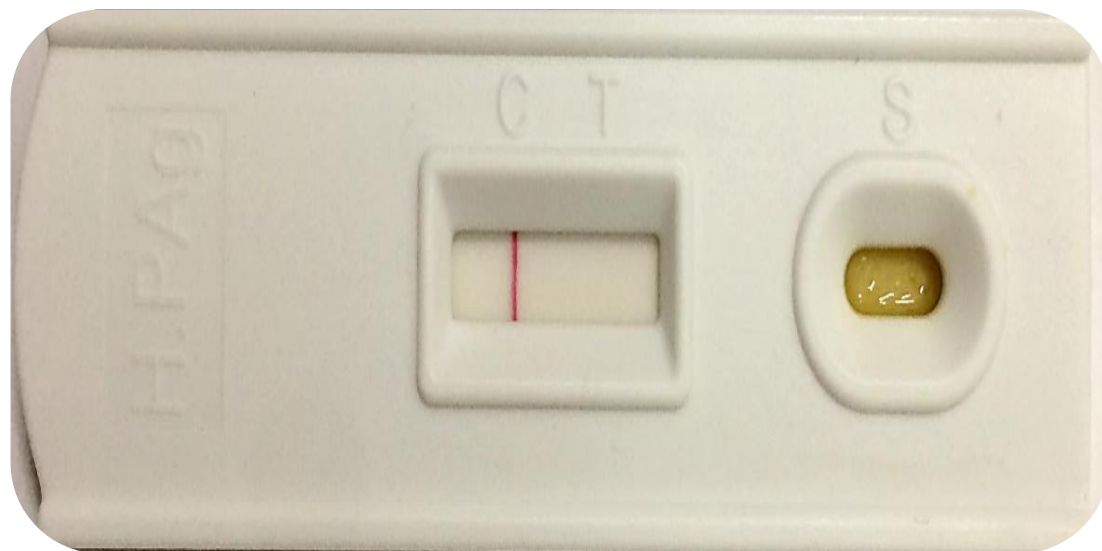


Положительный результат

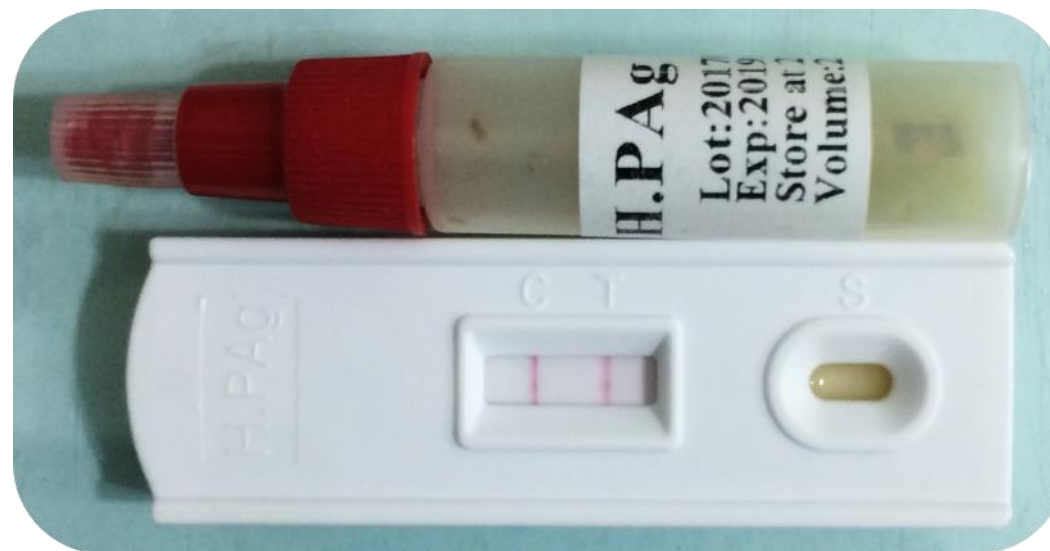
Метод определения антигенов в кале

- 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%

Экспресс-тест на антигены в кале:



Негативный ответ



Положительный ответ

CLO –тест с биоптатом желудка (Campylobacter-like organism)



Отрицательный результат

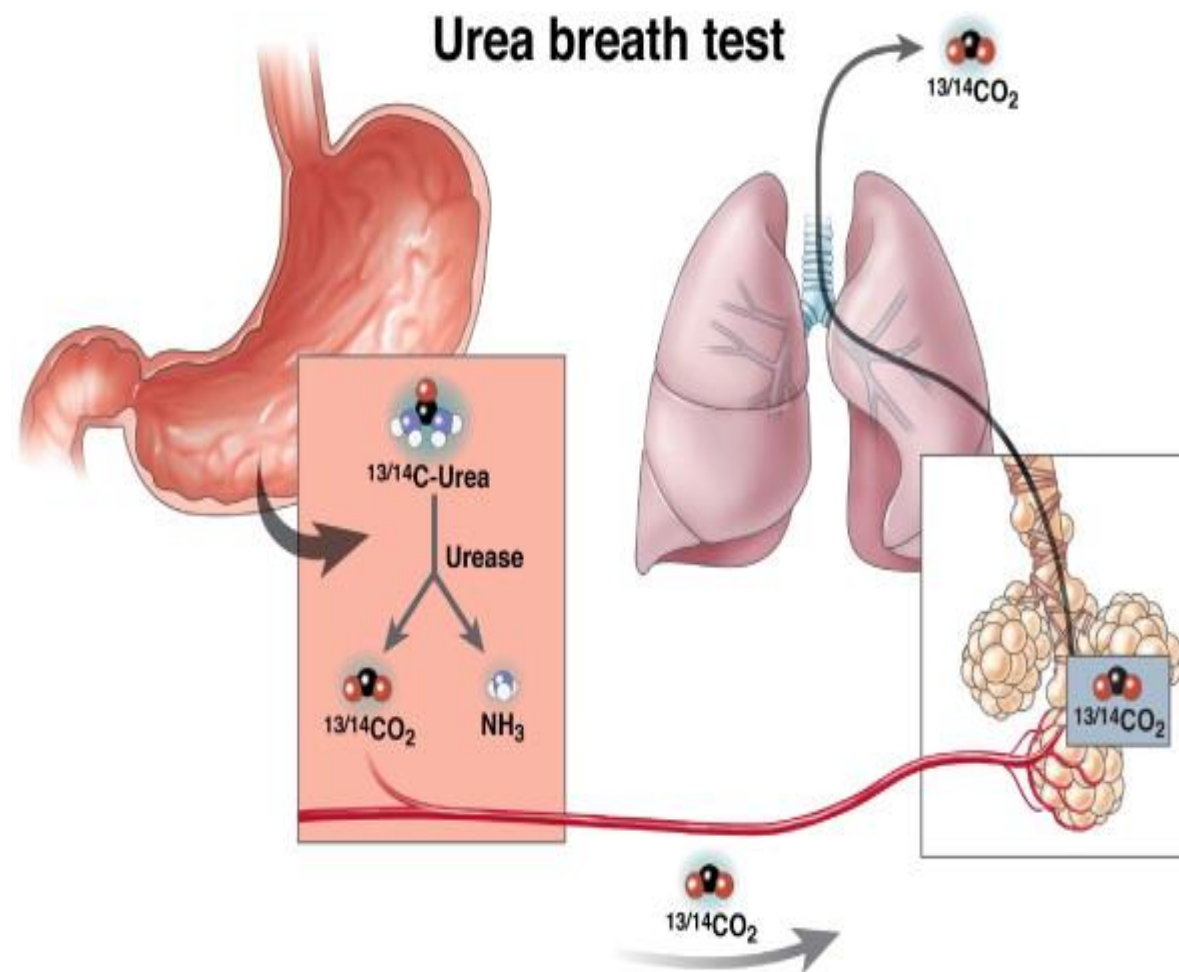


Положительный результат

Helicobacter pylori (диагностика)

Уреазный дыхательный тест

Пациенту дают выпить раствор мочевины, помеченной углеродным изотопом ^{13}C . Под действием уреазы возбудителя мочевины 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!**