

Занятие 12

*Микробиологическая диагностика инфекций,
вызванных грамотрицательными
бактериями(роды *Escherichia*, *Salmonella*,
Shigella, *Vibrio*, *Helicobacter*, *Campylobacter**

семейство *Enterobacteriaceae*

(имеющие медицинское значение виды)

Citrobacter species

Enterobacter spp.

Escherichia spp.

Klebsiella spp.

Morganella spp.

Proteus spp.

Salmonella spp.

Serratia spp.

Shigella spp.

Yersinia spp.

Семейство *Enterobacteriaceae*

(наиболее часто поражаемые биотопы)

Enterobacteriaceae

Opportunistic pathogens

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Enterobacter aerogenes

Serratia marcescens

Proteus spp.

Providencia spp.

Citrobacter spp.

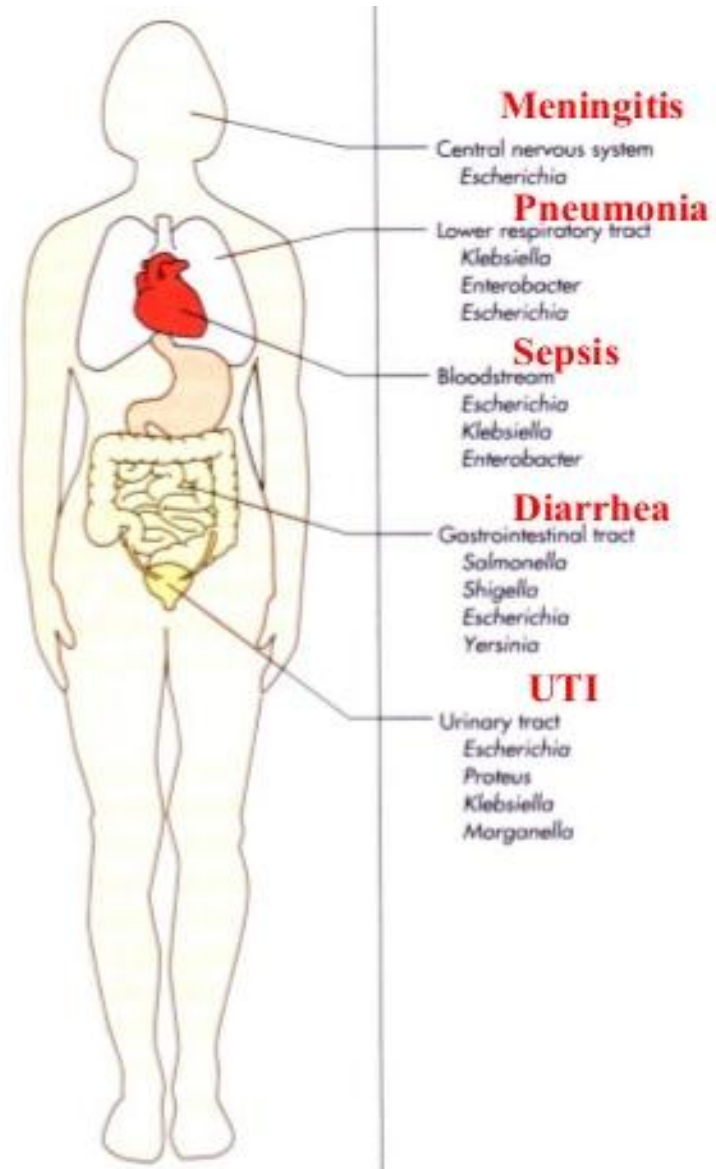
Obligate pathogens

Salmonella spp.

Shigella spp.

Yersinia spp.

Some *E. coli* strains



Классификация

Escherichia coli

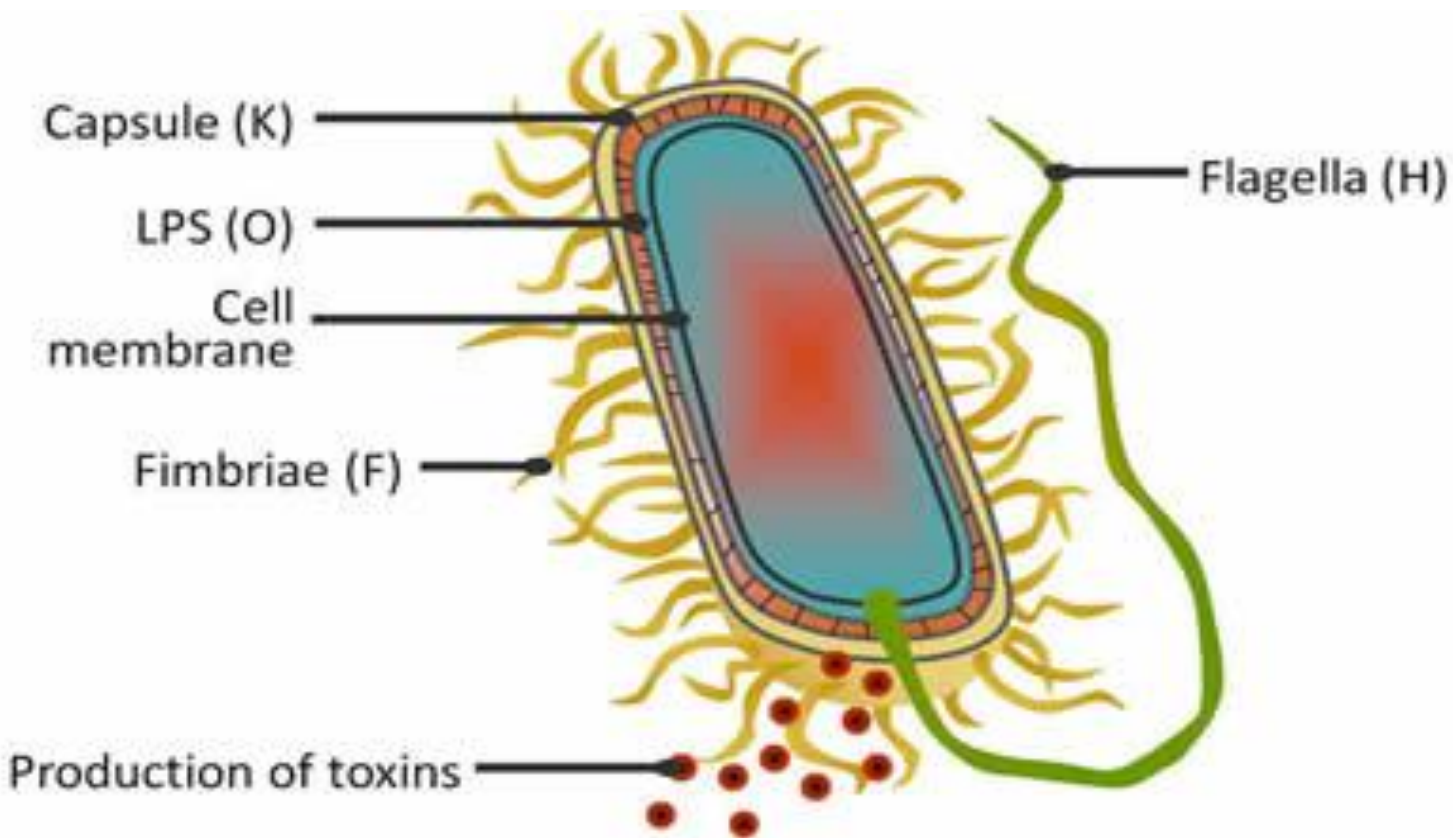
Семейство : Enterobacteriaceae

Род: *Escherichia*

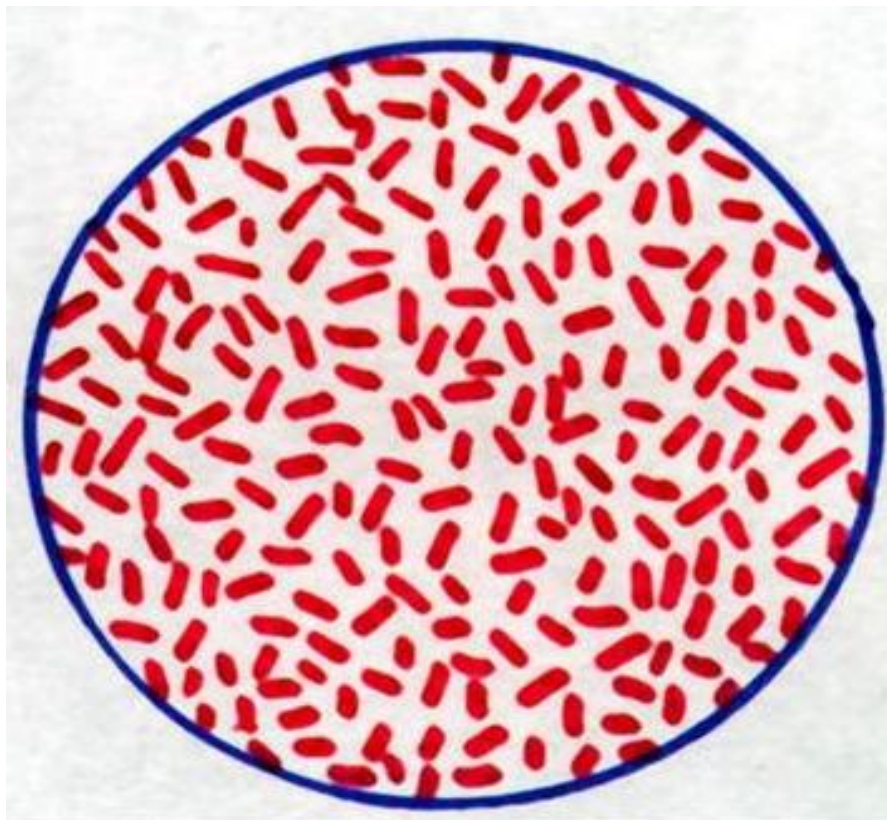
Вид: E.coli

Морфология

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

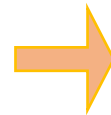
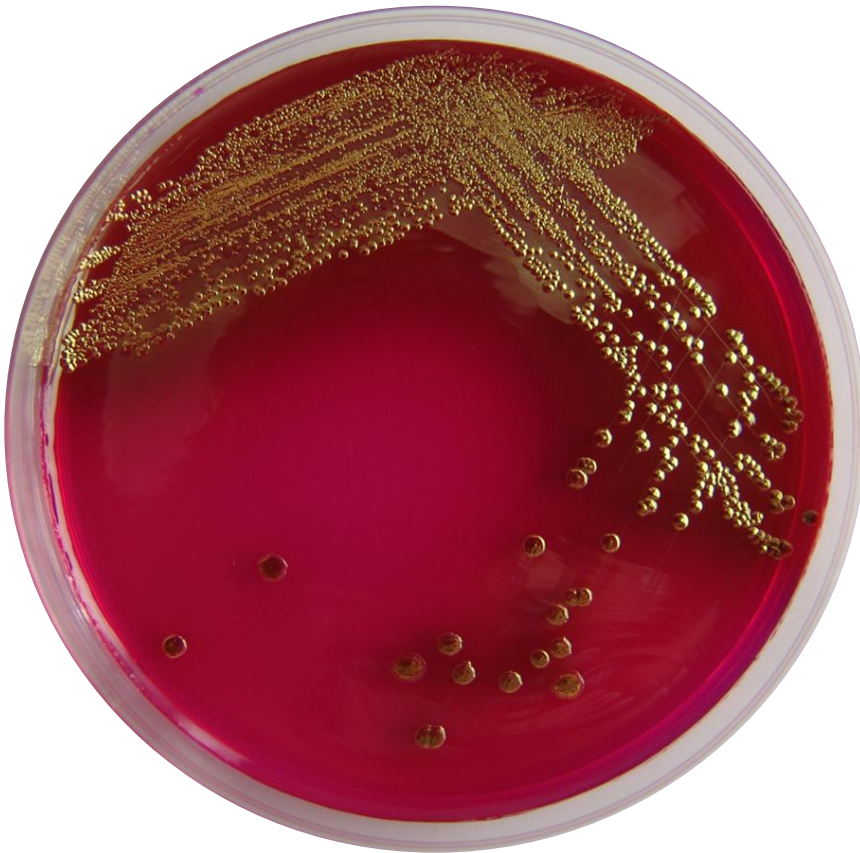


род *Escherichia*



Escherichia coli –

Лактозоположительные малиново-красные колонии с металлическим блеском на среде Эндо

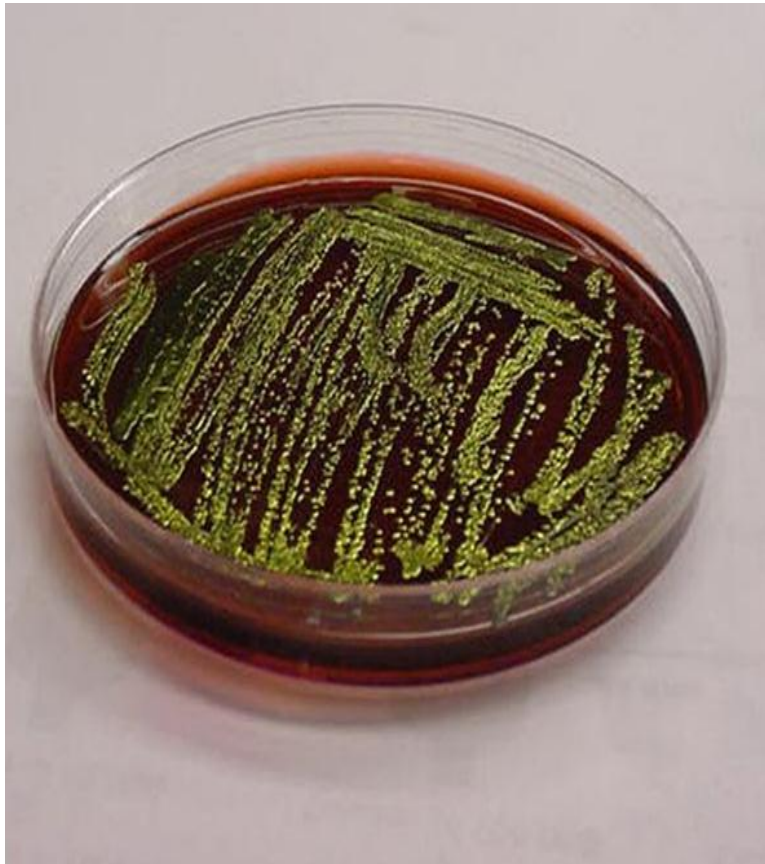


Escherichia coli

*лактозоположительные колонии розового
цвета на агаре Мак-Конки*

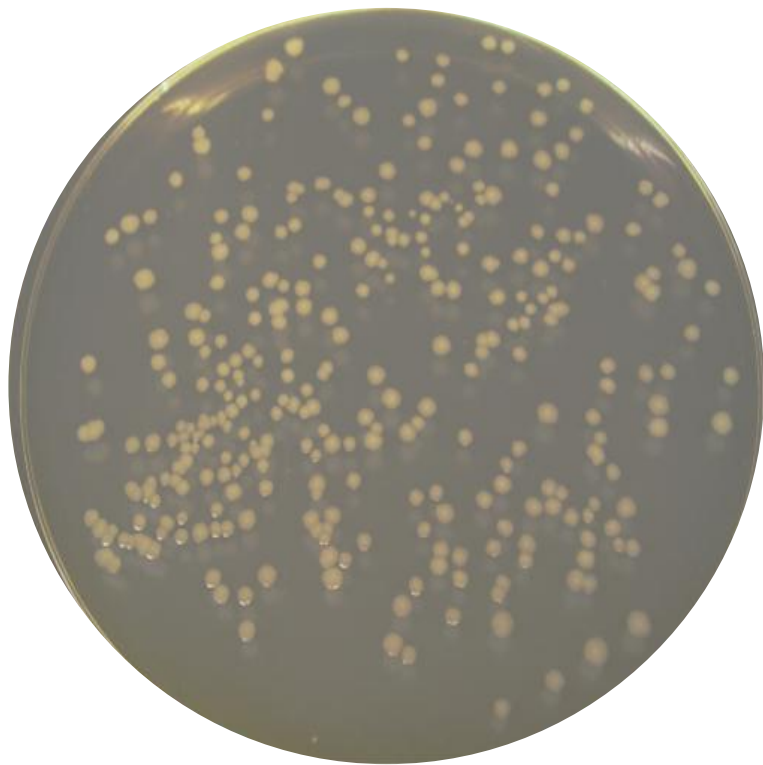


***Escherichia coli* –**
темно-фиолетовые колонии на
(ЕМВ- агаре (Eosin Methylene Blue) (Среда Левина)



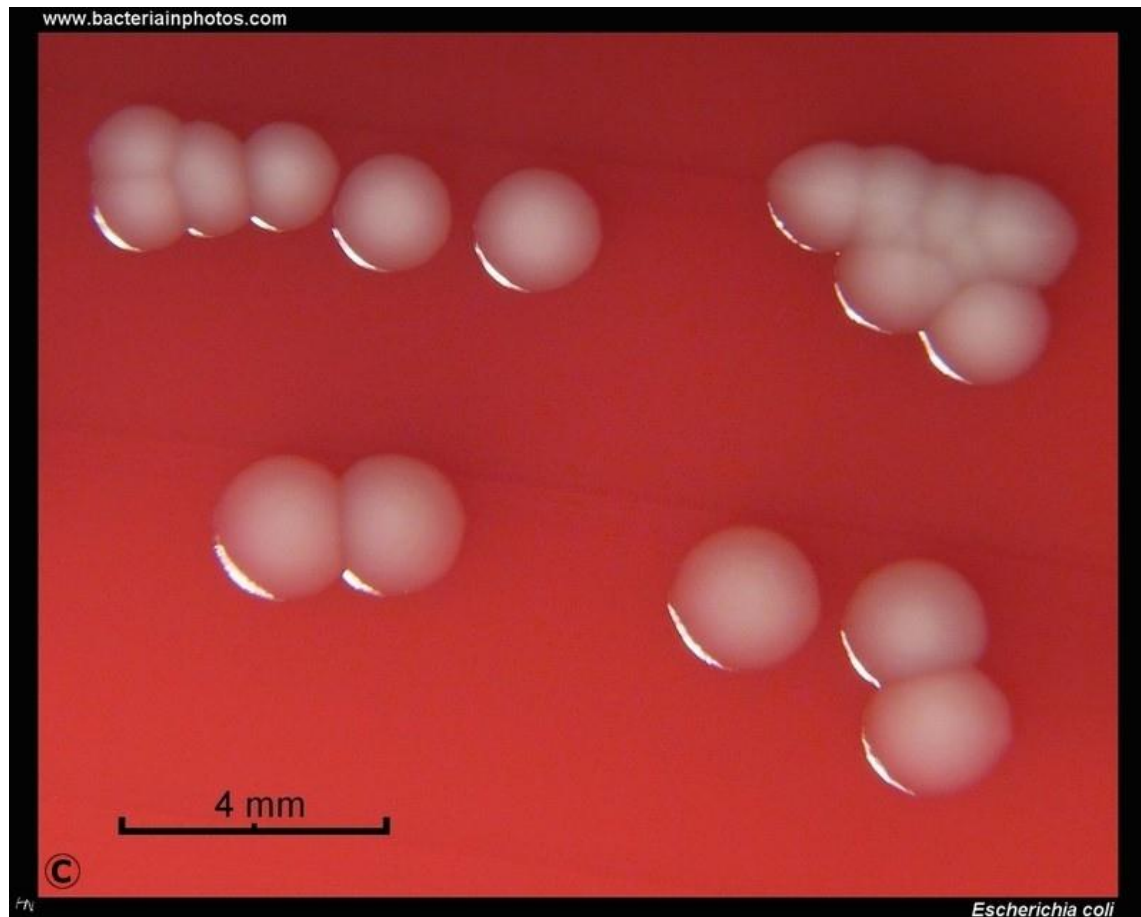
Escherichia coli

на мясо-пептонном агаре образуют гладкие, выпуклые, блестящие, полупрозрачные S- колонии



Escherichia coli

Негемолитические колонии на кровяном агаре



Escherichia coli

(биохимические свойства)

- **Расщепляют глюкозу, лактозу, маннит, мальтозу, сахарозу до кислоты и газа**
- **Образуют индол**
- **Не образуют сероводород**

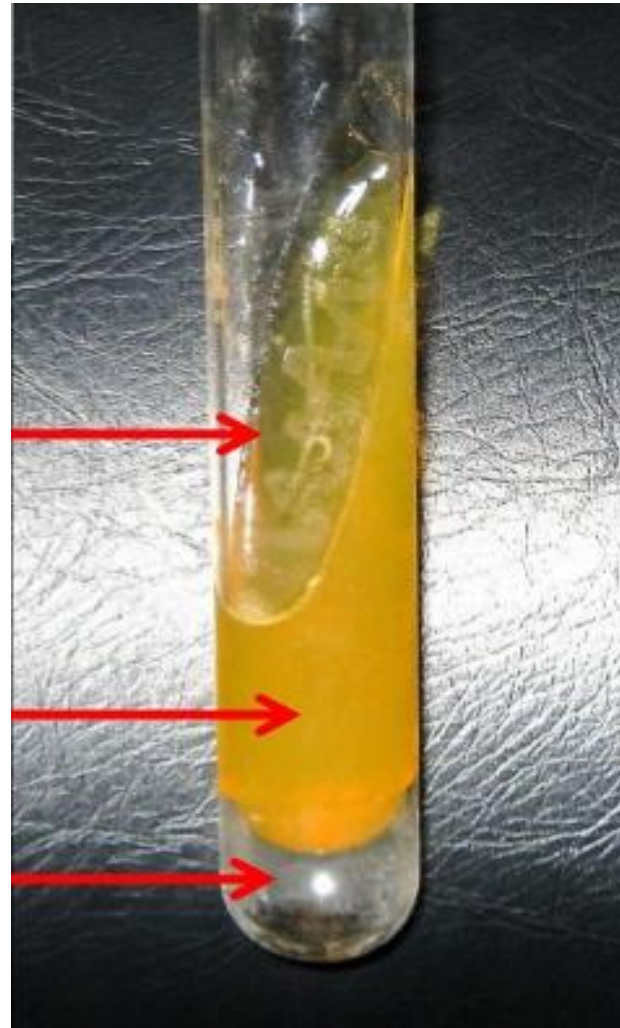
Escherichia coli – (биохимические свойства)

Агар Клиглера

СКОС АГАРА: КИСЛОТА(+)

СТОЛБИК АГАРА: КИСЛОТА(+)

ГАЗОБРАЗОВАНИЕ (+)



Эшерихиозы:

➤ Внекишечные эшерихиозы

- Сепсис
- Нагноение ран
- Вторичная пневмония
- Менингит
- Инфекции мочевыводящих путей
- Внутрибольничные инфекции

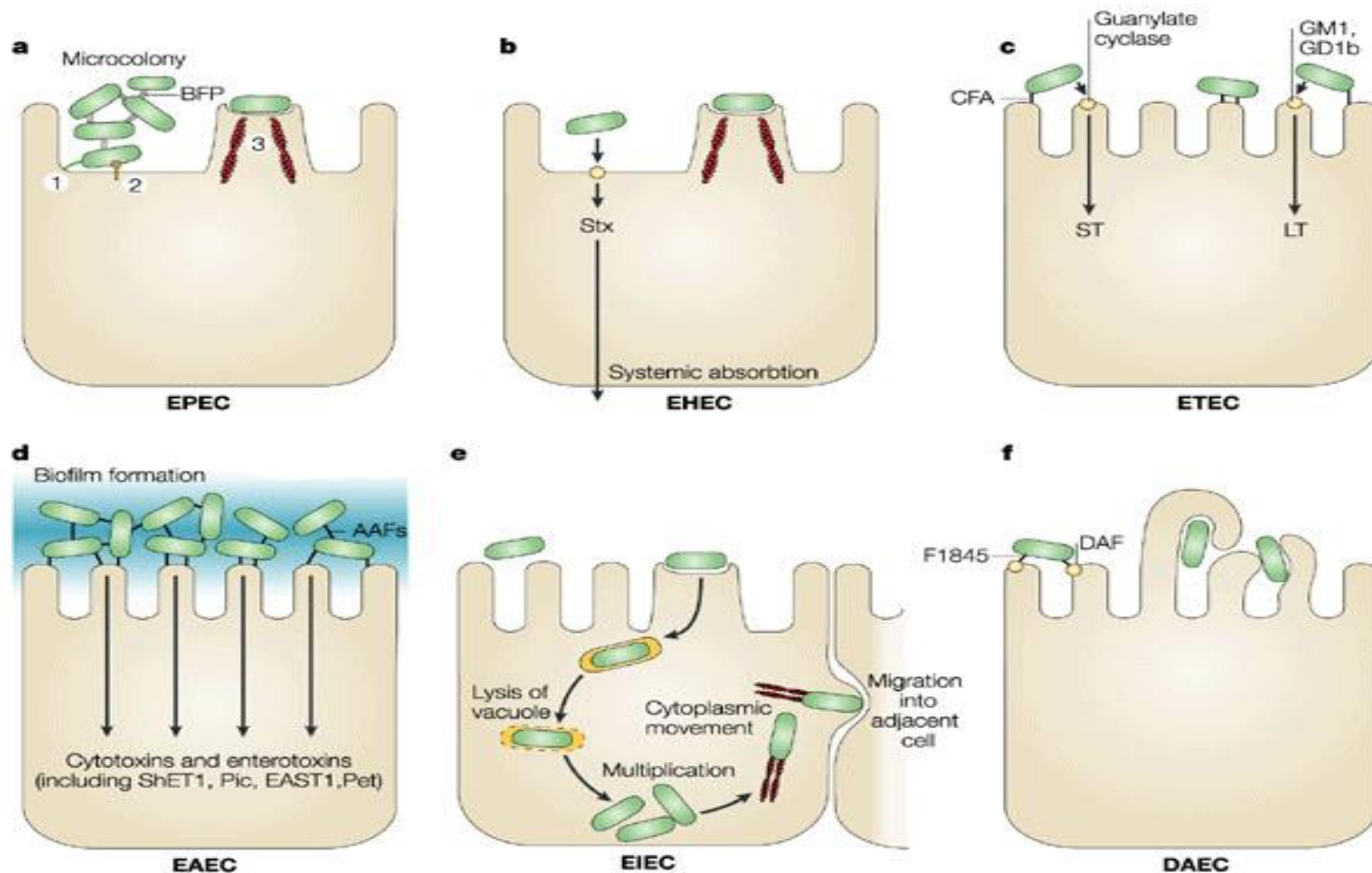
➤ Кишечные эшерихиозы

- *Диареегенные штаммы*

Диареегенные штаммы *Escherichia coli*

1. ЭПКП – ЭНТЕРОПАТОГЕННЫЕ
2. ЭТКП – ЭНТЕРОТОКСИГЕННЫЕ
3. ЭИКП – ЭНТЕРОИНВАЗИВНЫЕ
4. ЭГКП – ЭНТЕРОГЕМОРРАГИЧЕСКИЕ
5. ЭАКП – ЭНТЕРОАДГЕЗИВНЫЕ

Механизм патогенности диареегенных штаммов



Микробиологическая диагностика:

Материалы для исследования :

- Испражнения (при кишечных эшерихиозах)
- Моча (при парентеральных эшерихиозах)
- Спинномозговая жидкость
- Раневое отделяемое
- Кровь

Микробиологическая диагностика

➤ *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 37°C
- идентификация выросших колоний на основании биохимических свойств. Определение сероваров с помощью поливалентных ОК-сывороток
- определение чувствительности к антибиотикам

Классификация

Род *Salmonella*

Семейство : *Enterobacteriaceae*

Род : *Salmonella*

Виды : *S.typhi*, *S.paratyphi A*, *S.paratyphi B*

Морфология

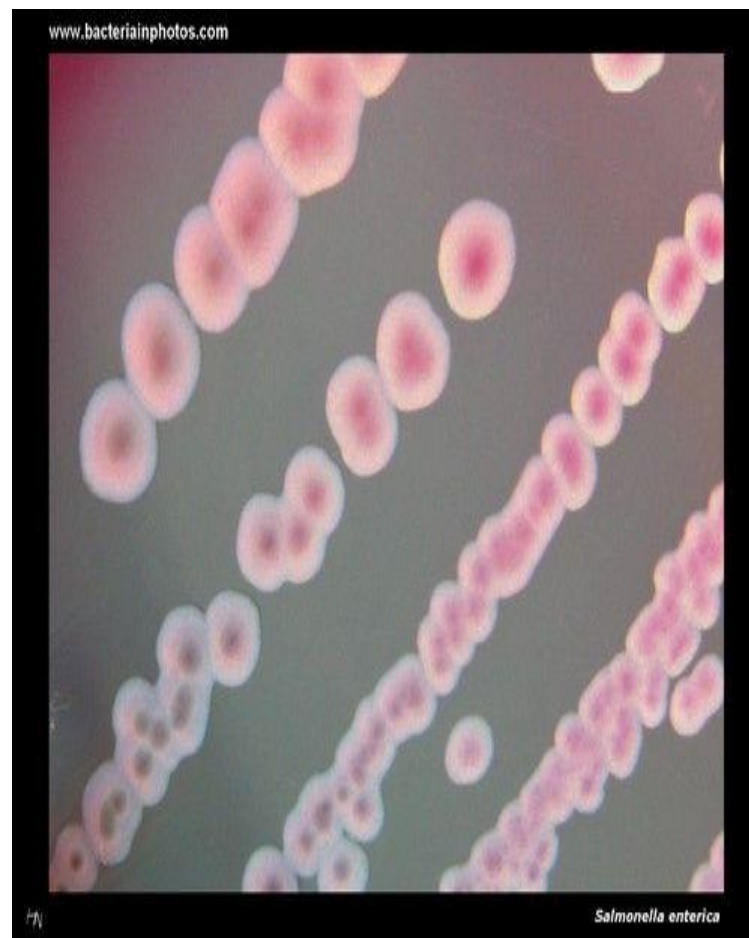
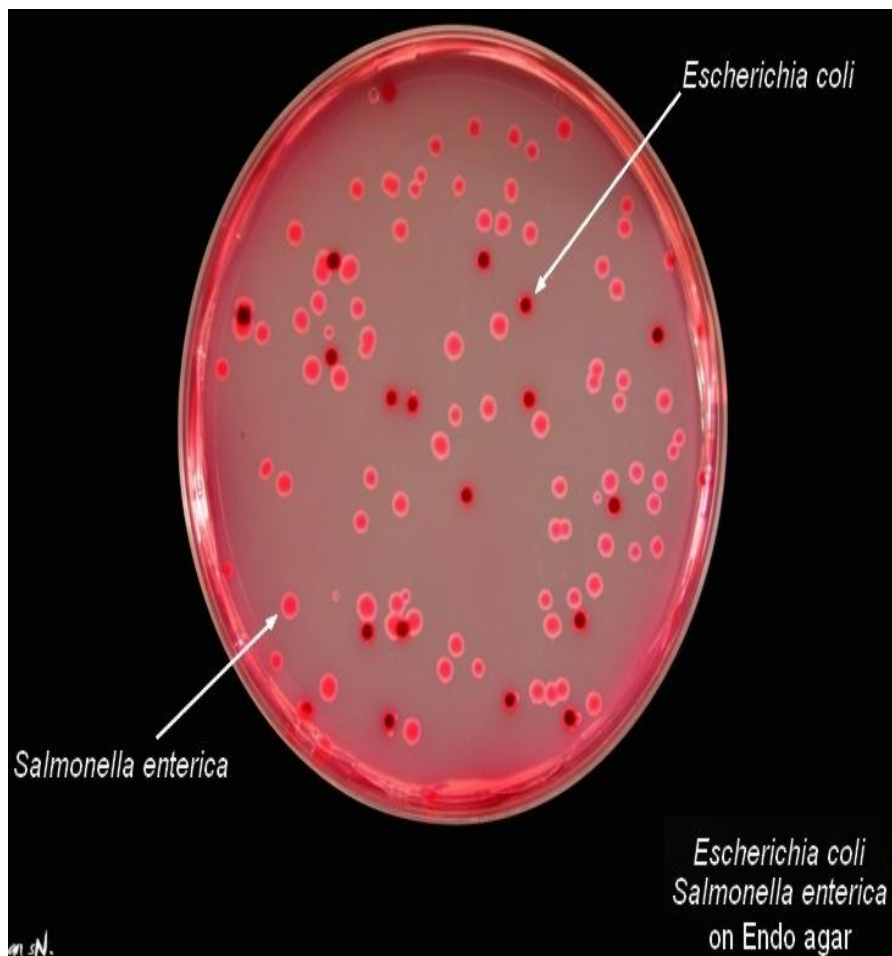
Род *Salmonella* -

*Грамотрицательные
подвижные
(перитрихи), палочки с
закругленными концами,
не образующие капсулу и
споры*



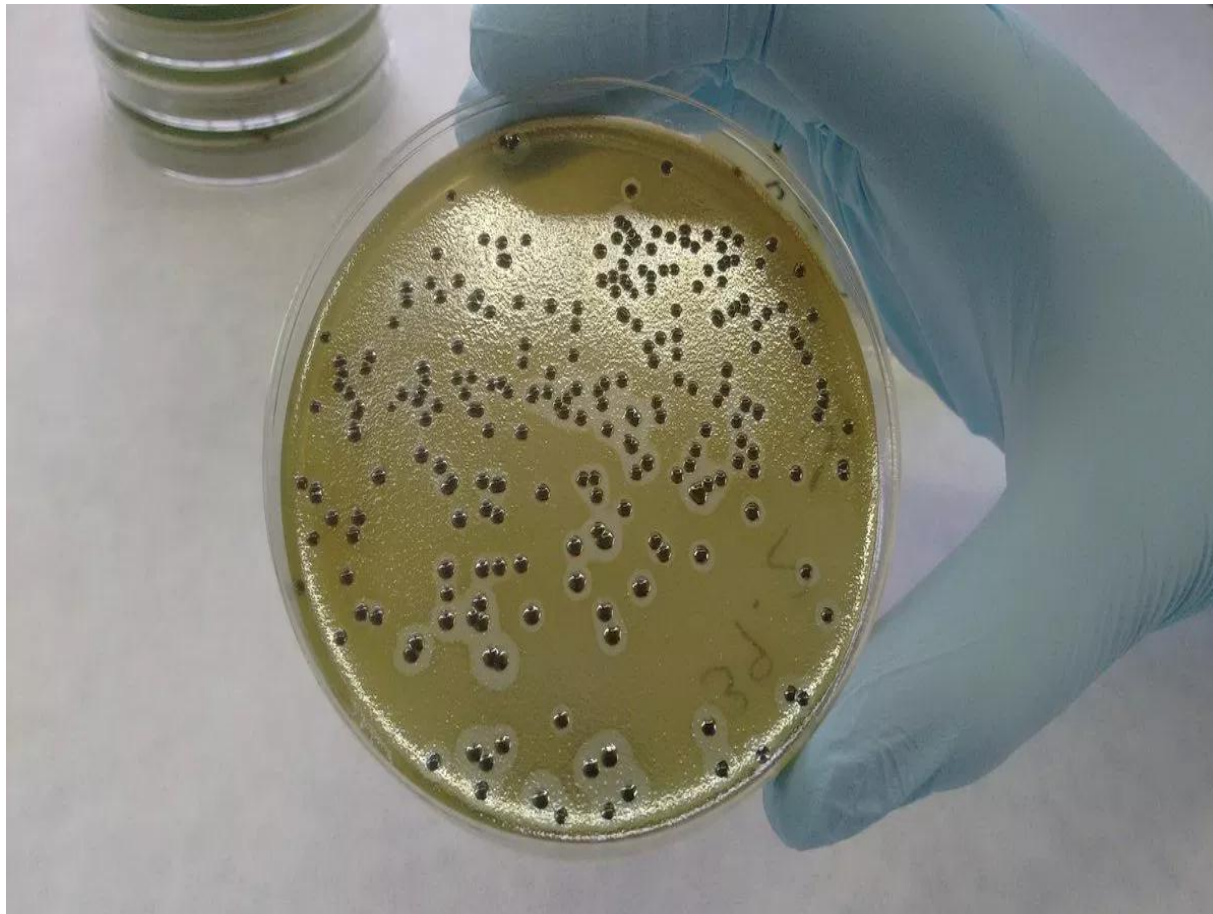
Род *Salmonella*

На среде Эндо образуют лактозонегативные бесцветные колонии



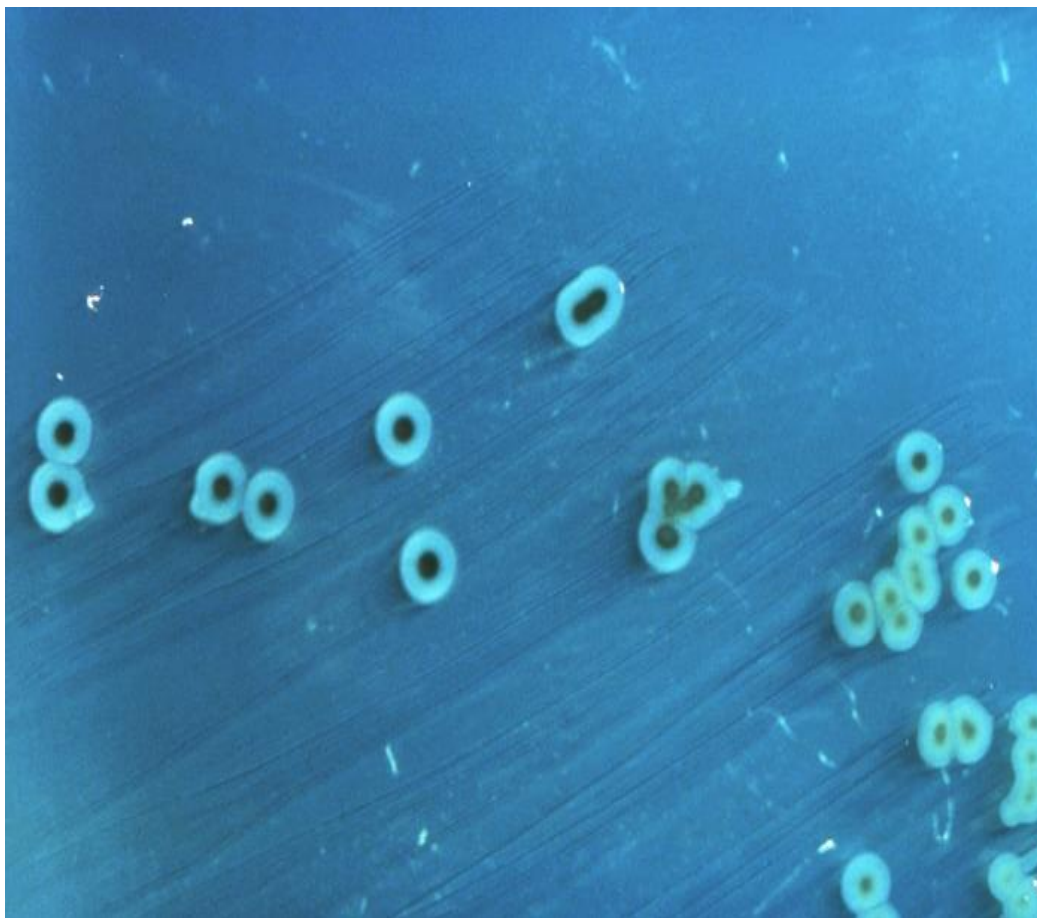
Salmonella

(черные колонии на висмут-сульфитном агаре)

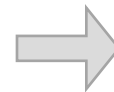


Salmonella paratyphi B

***при росте на плотных питательных средах образуют
слизистые валики***



Род *Salmonella*
(лактозонегативные бесцветные колонии на
агаре Мак-Конки)



Род *Salmonella*

– колонии на *salmonella-shigella* (SS) агаре



Род Salmonella
(черные колонии)



Род Shigella
(бесцветные колонии)

Род *Salmonella*

(факторы патогенности)

- **механизм транскитоза**
- **инвазины**
- **устойчивость к фагоцитозу**
- **ЭНДОТОКСИН**

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**

Род *Salmonella*

(биохимические свойства)

TSI – Triple Sugar Iron agar –

Рост на трехсахарном (глюкоза, лактоза, сахароза) агаре с солями железа



TSI агар– до посева



salmonella
on TSI slant



→ **СКОС АГАРА:**
Лактоза/ сахароза (-)

→ **Сероводород (+)**

→ **ГАЗ (+)**

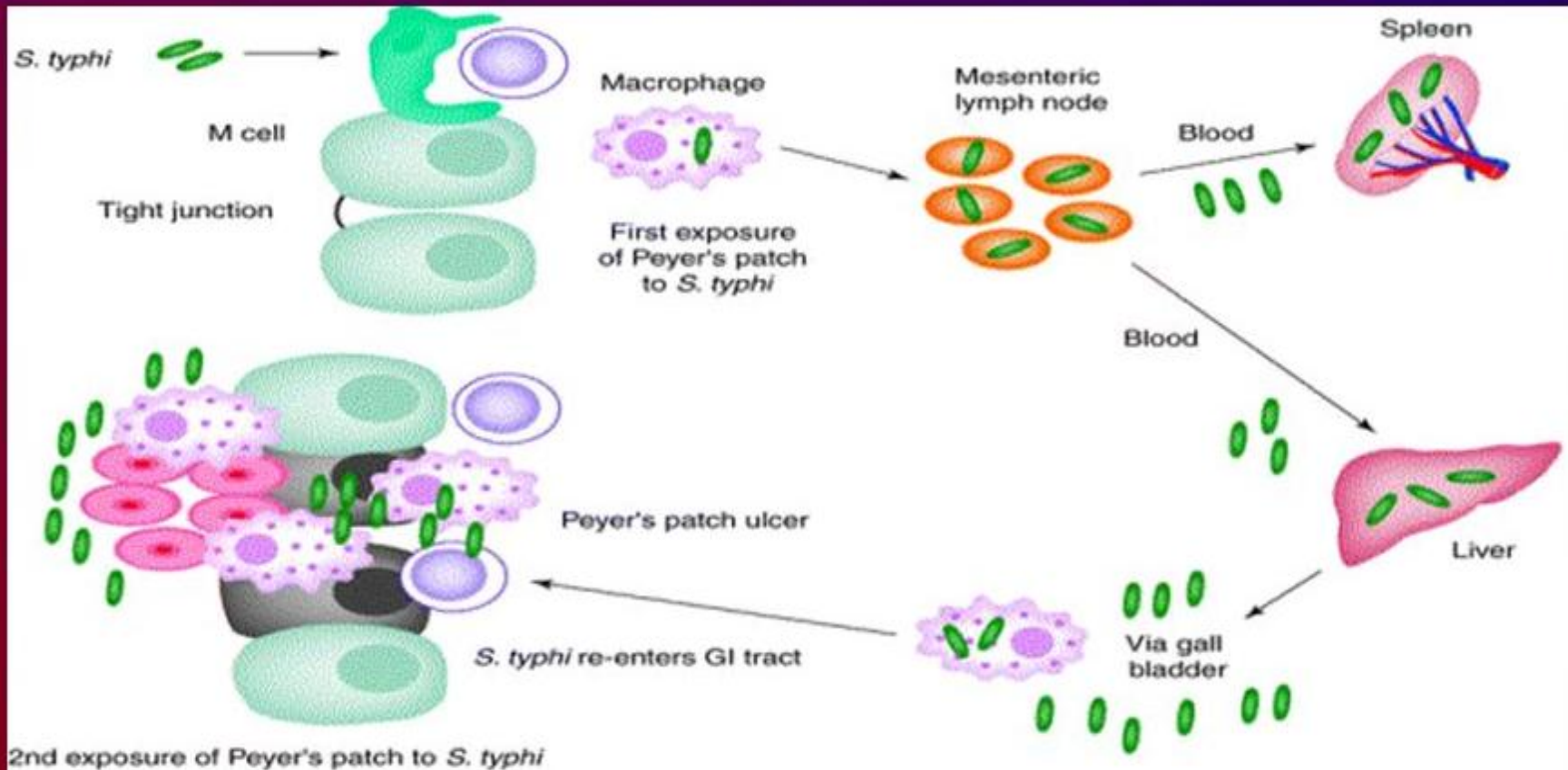
→ **СТОЛБИК АГАРА:**
*Расщепление глюкозы
до кислоты (+)*

Заболевания, вызываемые представителями рода *Salmonella*

- Брюшной тиф (*S.typhi*)
- Паратифы (*S.paratyphi A* и *B*)
- Сальмонеллезы (пищевые токсикоинфекции) —
S.enteritidis, S.typhimurium, S.choleraesuis)
- Септицемия (*S.choleraesuis*)
- Внутрибольничный сальмонеллез (*S.typhimurium*)

Род Salmonella

(патогенез брюшного тифа)



Key:

- | | |
|-------------------------|------------------------|
| Peyer's patch | Red blood cells |
| <i>Salmonella typhi</i> | Necrotic Peyer's patch |
| Macrophage | T cells |
| Lymph node | |

Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования :

- *Кровь (для получения гемокультуры в первые 2 недели заболевания)*
- Испражнения (копрокультура)
- Моча (уринокультура)
- Дуоденальное содержимое (при бактерионосительстве)

Микробиологическая диагностика

➤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 О-, Н-, Vi- диагностикумами

Сальмонеллёзы (пищевые токсикоинфекции)

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

Микробиологическая диагностика

Материалы для исследования

- Промывные воды желудка
- Рвотные массы
- Испражнения
- Желчь
- Моча
- Кровь *(при генерализованных формах)*

Микробиологическая диагностика

➤ *Бактериологический (культуральный)*

- посев исследуемого материала на лактозосодержащие дифференциальные среды (Эндо, SS-агар, Левина, Плоскирева, Мак Конки)
- инкубация 18-24 часов при температуре 37°C
- идентификация выросших лактозонегативных колоний по морфологическим, биохимическим свойствам и антигенной структуре
- определение чувствительности к антибиотикам

Род SHIGELLA

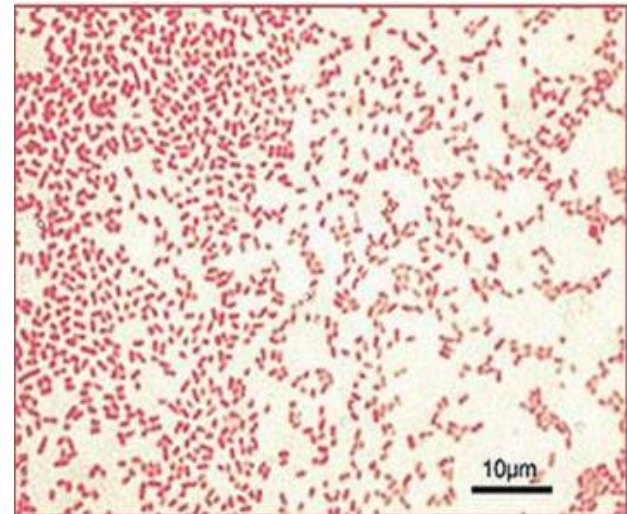
Семейство: Enterobacteriaceae

Род: Shigella

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

Морфо-биологические свойства:

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

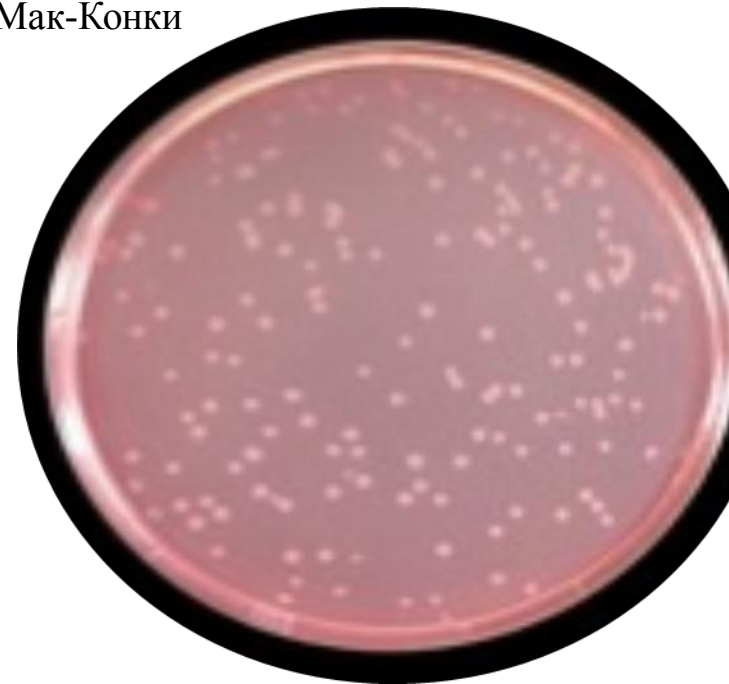


Род Shigella
(культуральные свойства)

На плотных питательных средах образуют мелкие, блестящие, гладкие, полупрозрачные S- колонии диаметром 1-2 мм.

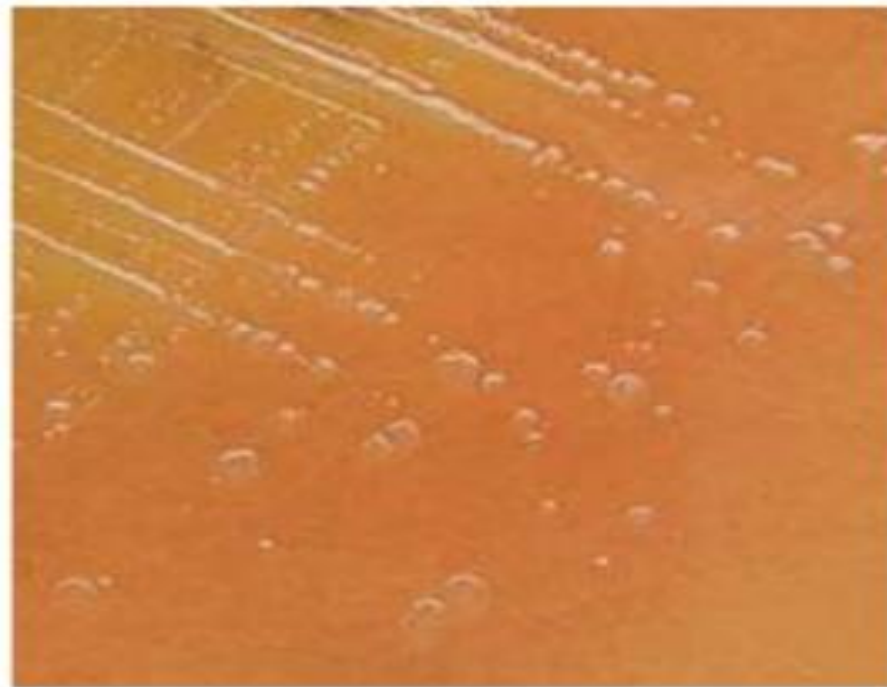
На жидких питательных средах – вызывают диффузное помутнение .

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



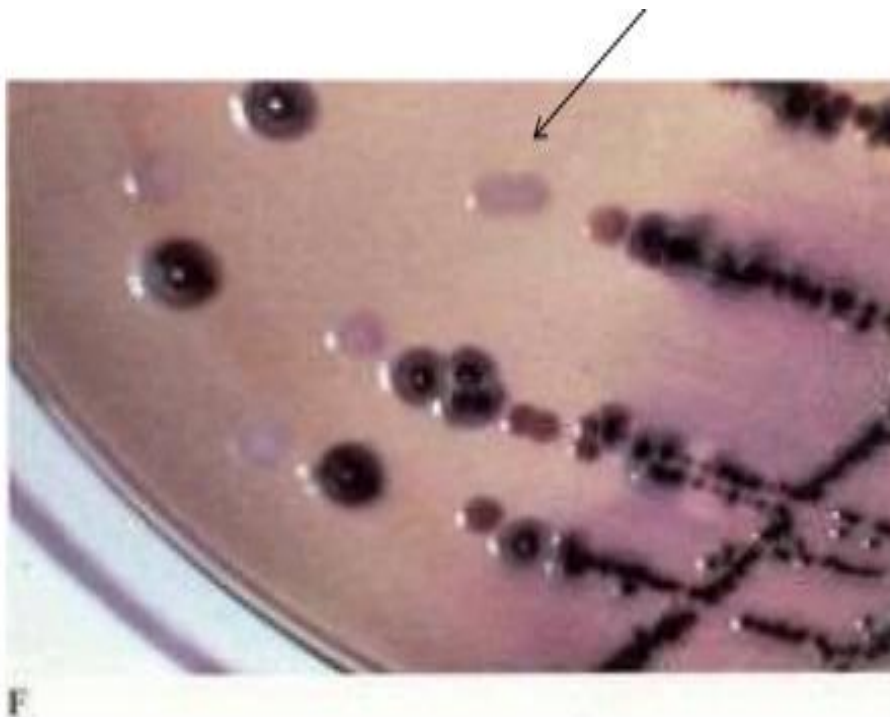
S. sonnei –

(на кровяном агаре образуют негемолитические колонии)



Род Shigella

на ЕМВ (eosin methylene blue) агаре образуют бесцветные колонии



Биохимические свойства бактерий рода *Shigella*

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

Эпидемиология:

Источник инфекции: больные лица и бактерионосители

Путь и механизм передачи: алиментарный путь, фекально-оральный механизм

Вызываемые заболевания:

Бактериальная дизентерия(кровавая диарея)

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

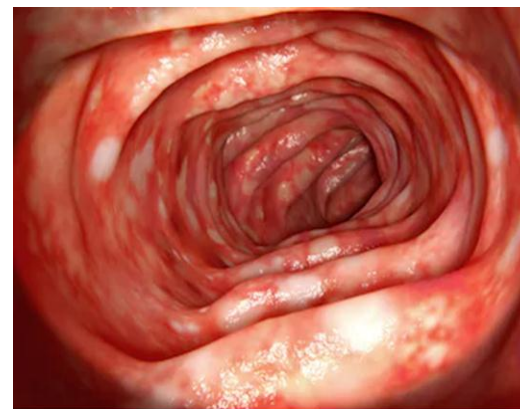
- диарея (с кровью или слизью)
- спазматические боли в животе (судороги)
- тенезмы (ложные позывы на дефекацию)
- лихорадка (нейротоксическое действие)
- язвы — вирулентные шигеллы, взаимодействуя с эпителием слизистой оболочки толстой кишки, пенетрируют через М-клетки в подслизистую, где размножаются 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.

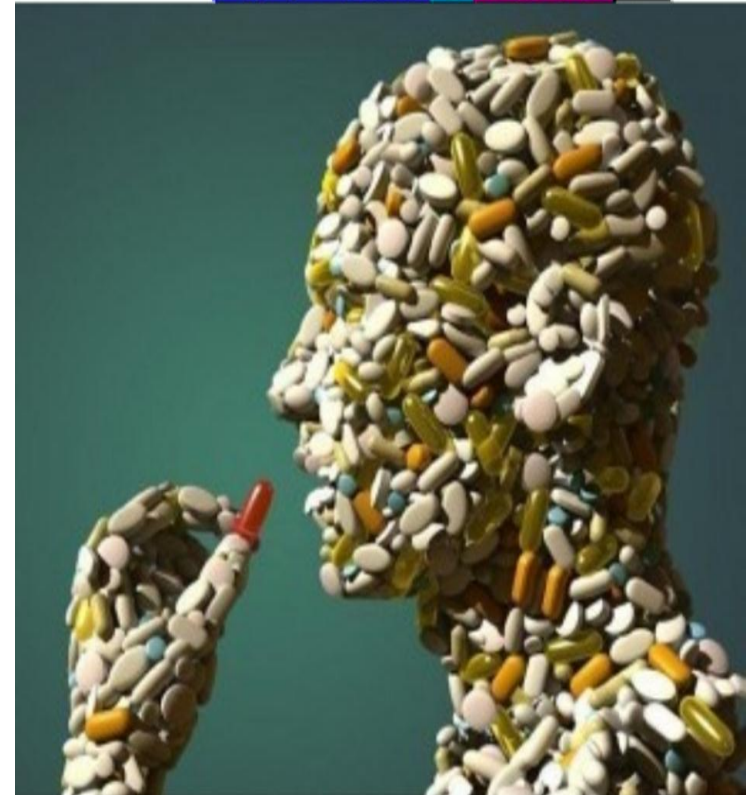
Определение бактерионосительства

- 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:

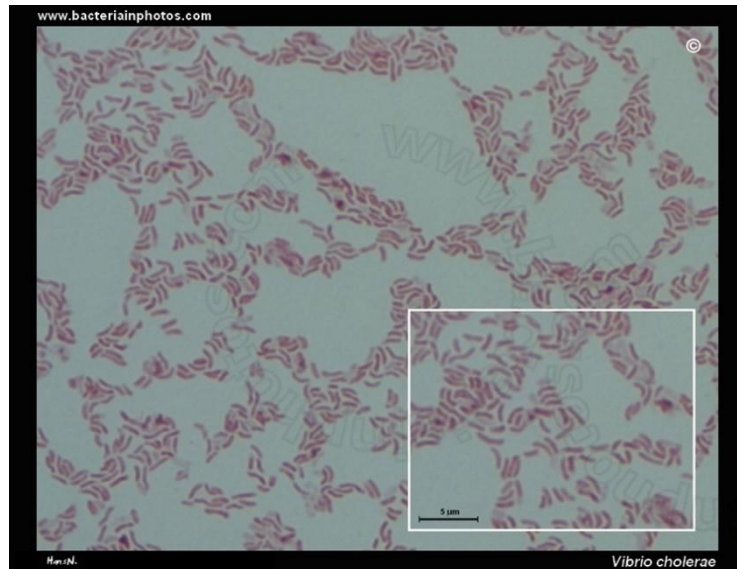
- ✓ Препараты выбора – тетрациклин, доксициклин и хинолоны. По эпидемиологическим показаниям используют бактериофаги, в случае возникновения дисбактериоза – пробиотики для коррекции микрофлоры.
- ✓ Восстановление водно-солевого баланса
- ✓ Специфической профилактики нет !

ANTIBIOTICS:-



Вибрионы

- Семейство: **Vibrionaceae**
- Род: **Vibrio, Aeromonas, Plesiomonas**
- Вид: **V. cholerae, V. parahaemolyticus, V. vulnificus**



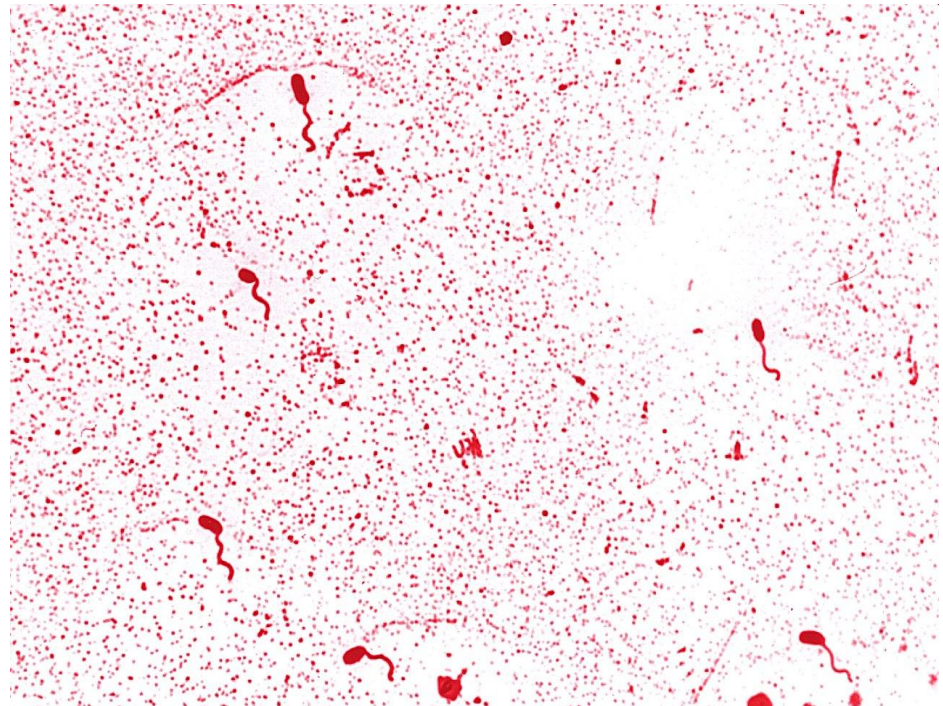
Род **Vibrio**
(мазок из чистой культуры. метод Грама , x100)



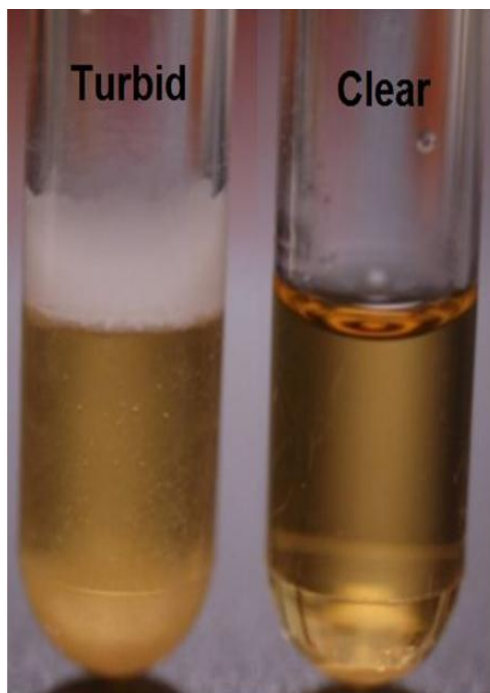
Морфо-биологические свойства:

Род Vibrio -

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



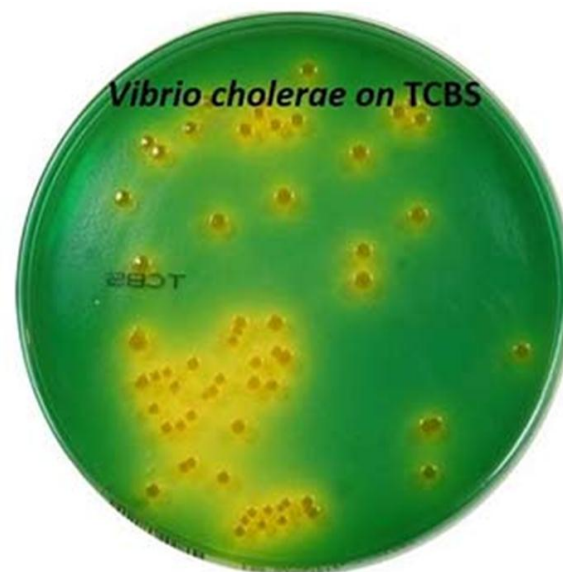
***Род Vibrio –
(культуральные свойства)***



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:**

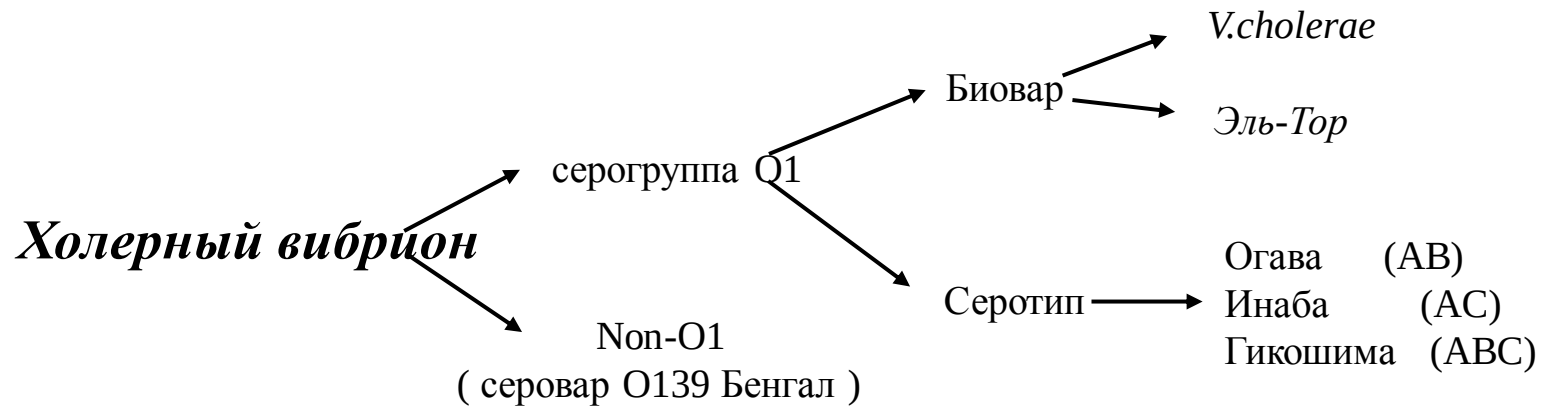
- образуют индол
- гидролизуют казеин
- разжижают желатин
- не образуют сероводород

✓ **Оксидаза-положительны**

Дифференциальные признаки возбудителей холеры:

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

Холерный вибрион

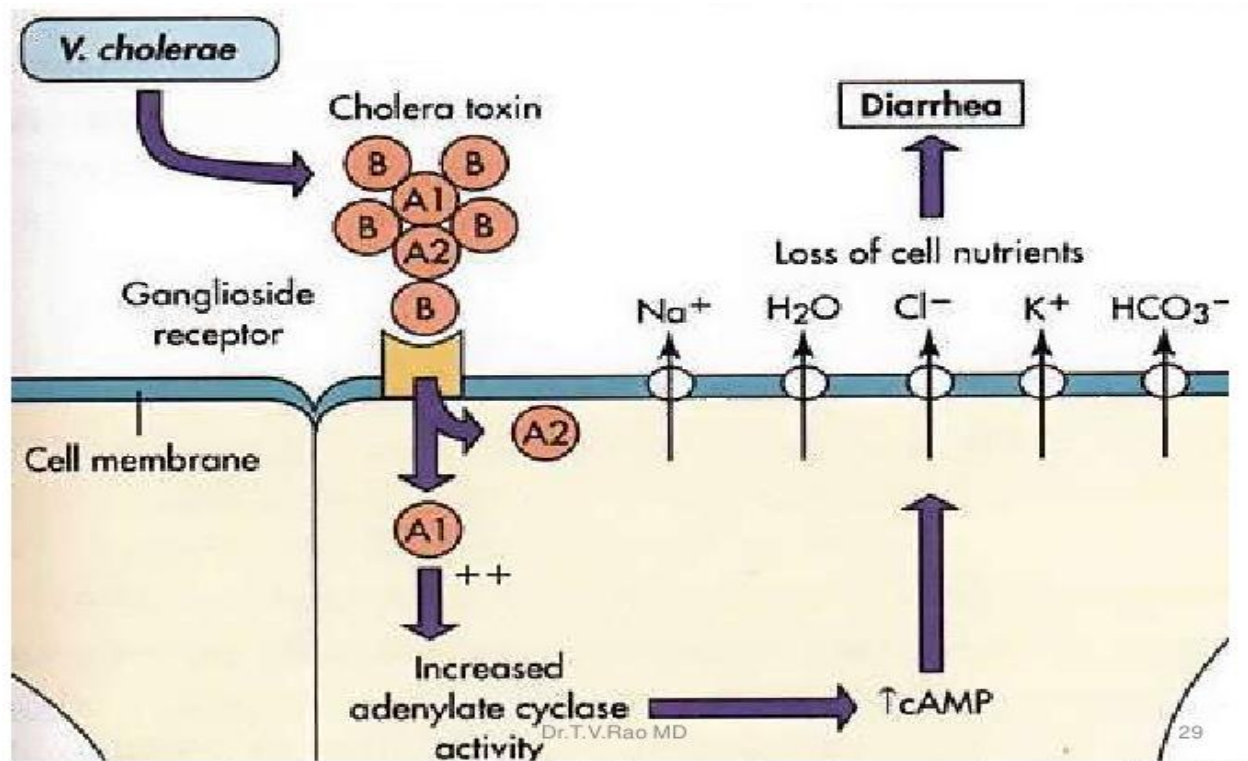


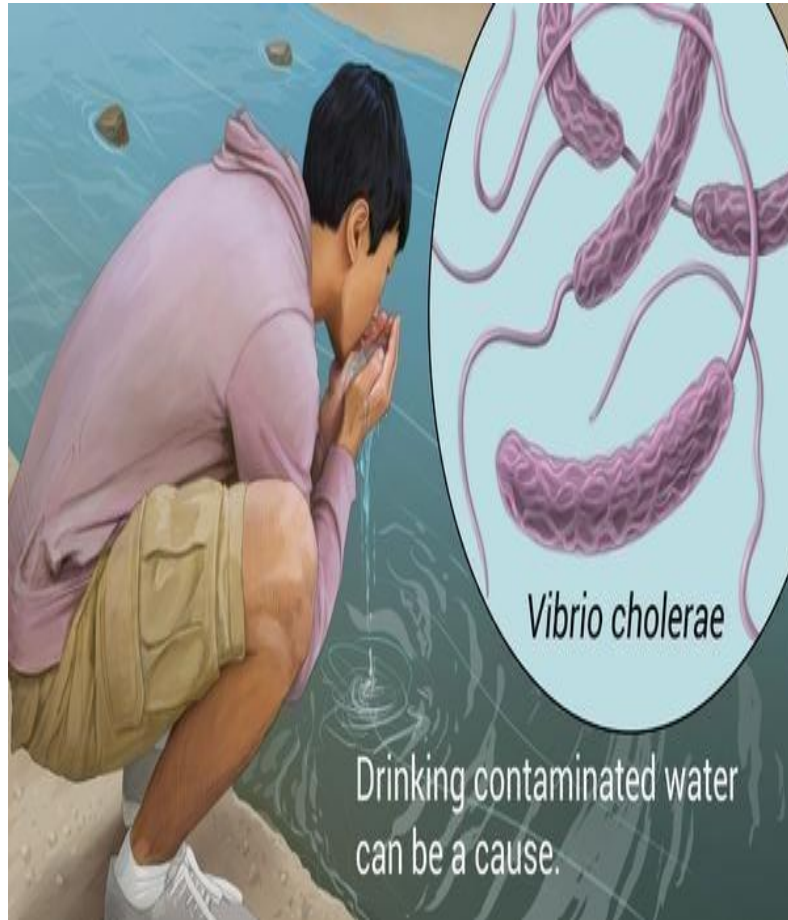
Род Vibrio – (факторы патогенности)

- жгутик
- адгезивные пили (колонизация микроворсинок, образование биопленок)
- муциназа, нейраминидаза (способствуют реализации действия токсина)
- ЭНДОТОКСИН (запускает синтез простагландинов, которые вызывают сокращение гладкой мускулатуры и развитие тенезмов)
- 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

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° C

Клинические проявления:

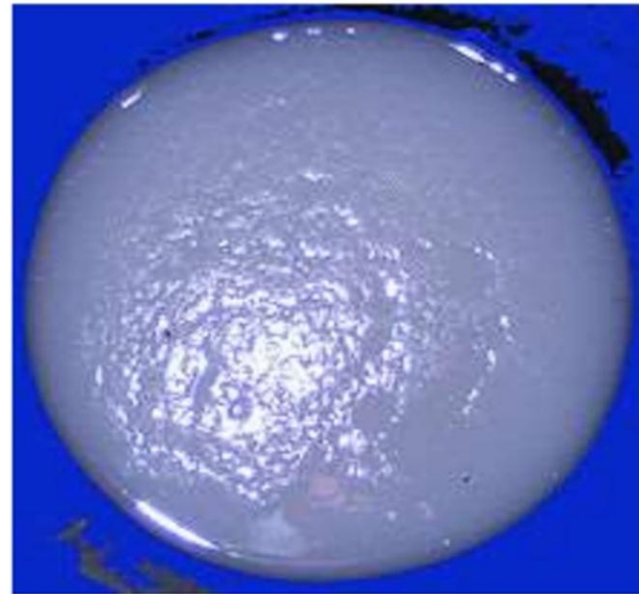
«рука прачки»

«симптом заходящего солнца»

«гиппократово лицо»

«холерный алгид»

*(снижение температуры тела до
34° С)*



Стул носит характер «рисового отвара»

Клинические проявления:

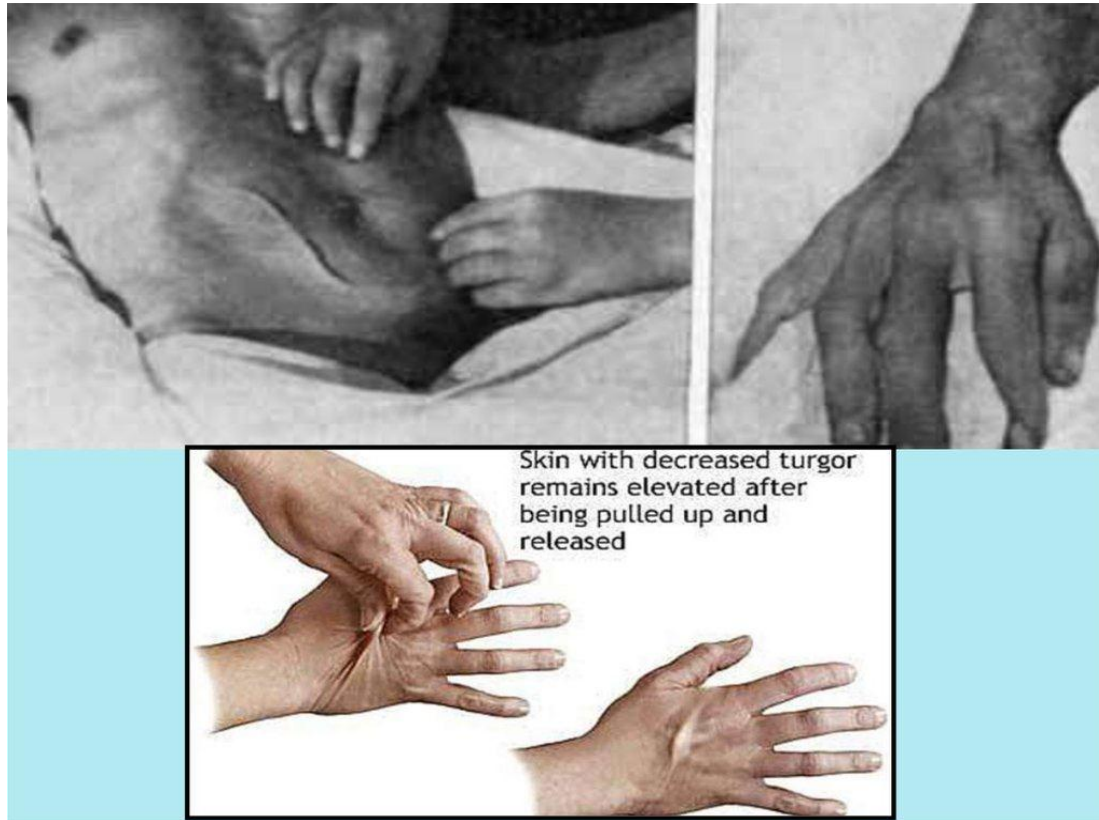


«гиппократово лицо»



«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 .

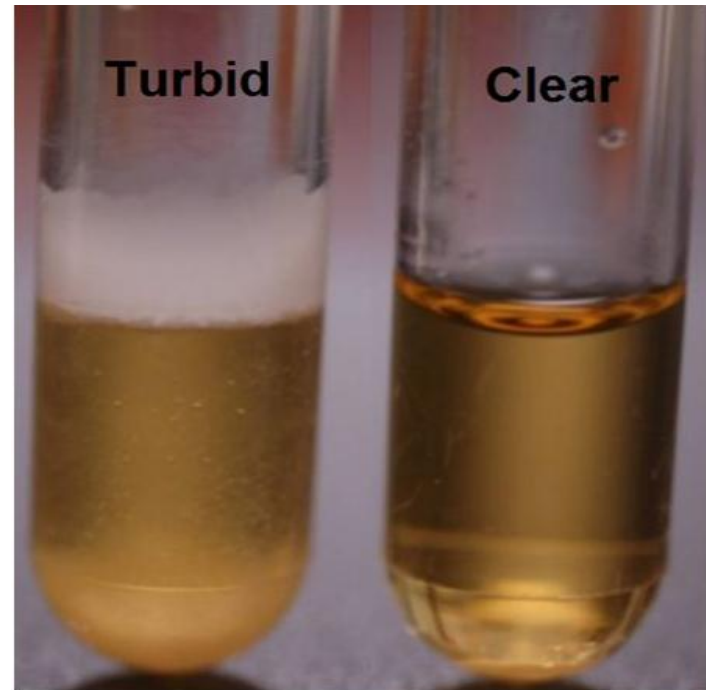
➤ *Бактериологический (культуральный)*

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

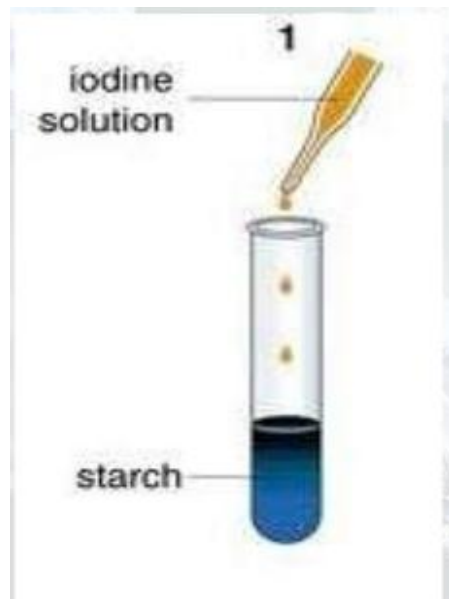
Рост на щелочном кровяном агаре

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



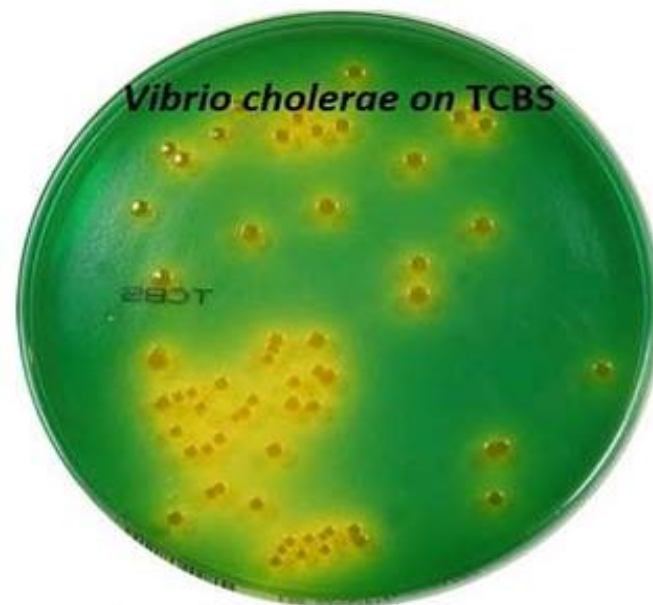
Тест на крахмал

- 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 .



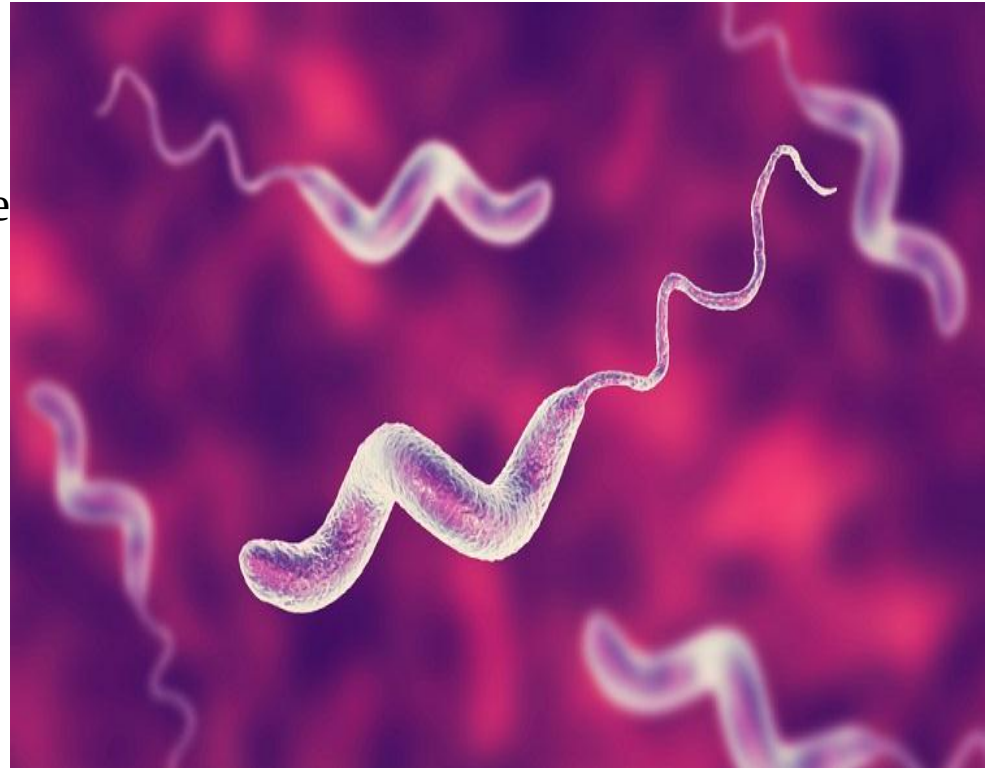
Кампилобактерии

Род Campylobacter -

Семейство : Campylobacteraceae

Род : *Campylobacter*

Вид : *C.jejuni*

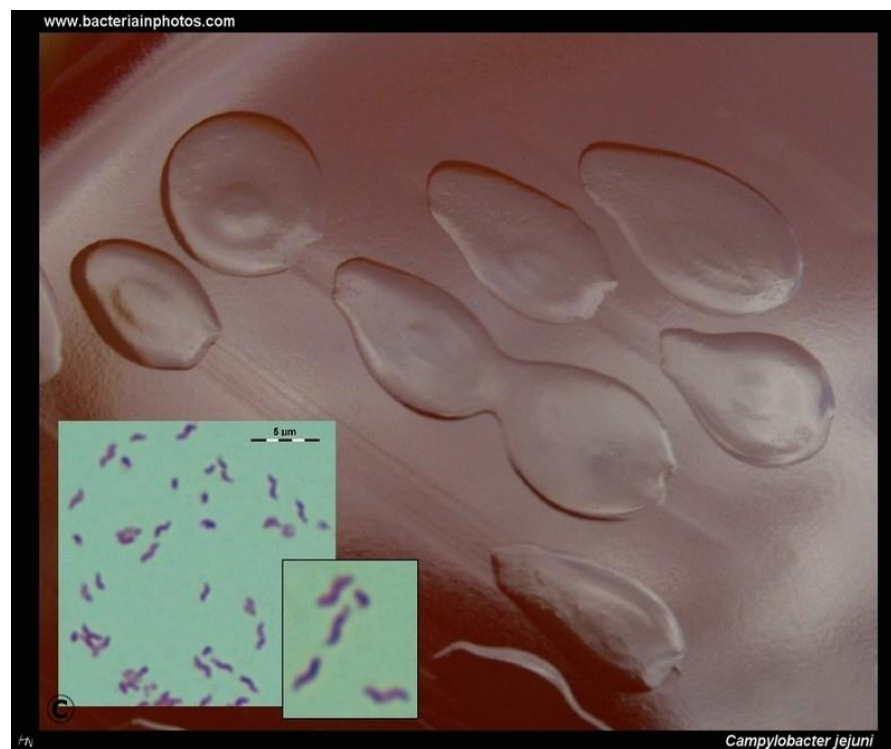


Род *Campylobacter* – изогнутые , грамотрицательные бактерии S-образной формы, подвижны, спор и капсулы не образуют.



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

***Campylobacter jejuni* –**
(колонии на кровяном агаре)



***Род Campylobacter* —**
(биохимические свойства)

✓ Слабая сахаролитическая активность:

- Сахара не сбраживают

✓ Протеолитически активны:

- Восстанавливают нитраты
- Образуют сероводород

✓ Оксидаза- , каталазаположительны.

Род Campylobacter –
(факторы патогенности)

- *специфические адгезины*
- *жгутики*
- термолабильный энтеротоксин
- ЦИТОТОКСИН
- ЭНДОТОКСИН

Род Campylobacter –
(вызываемые заболевания)

Клинические проявления:

- *Энтероколит*
- *Менингит*
- *Заболевания ротовой полости*
- *ГВЗ*
- *Полирадикулоневритный синдром*
- *Реактивный артрит*

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

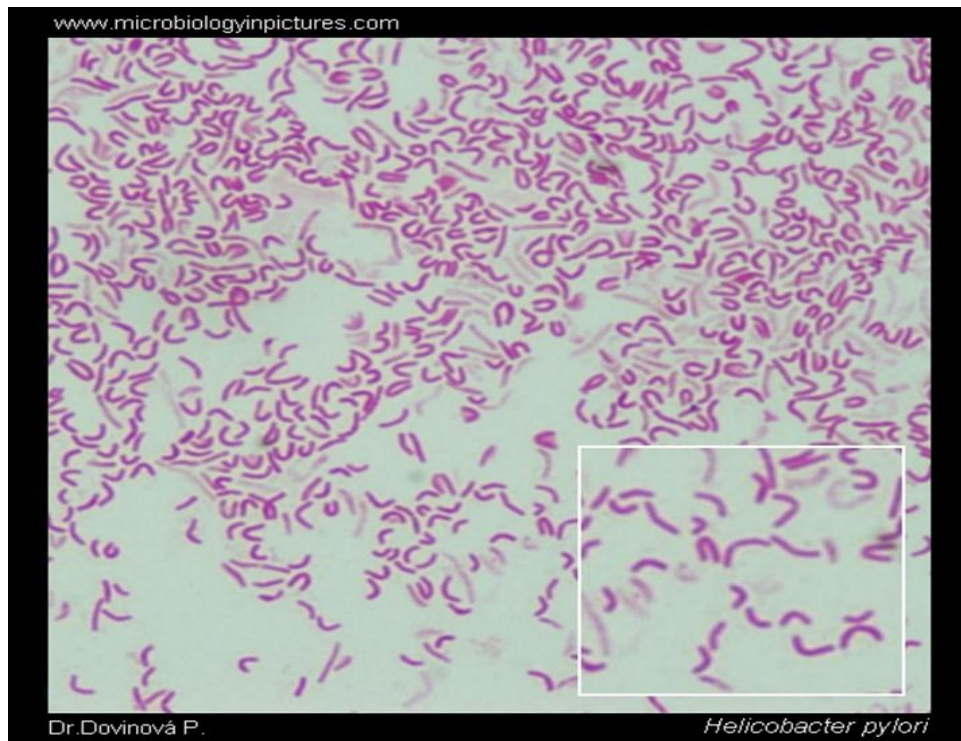
Семейство: Helicobacteriaceae

Род: Helicobacter

Вид: H.pylori

 Сейчас не удается отобразить рисунок.

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



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

***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 :

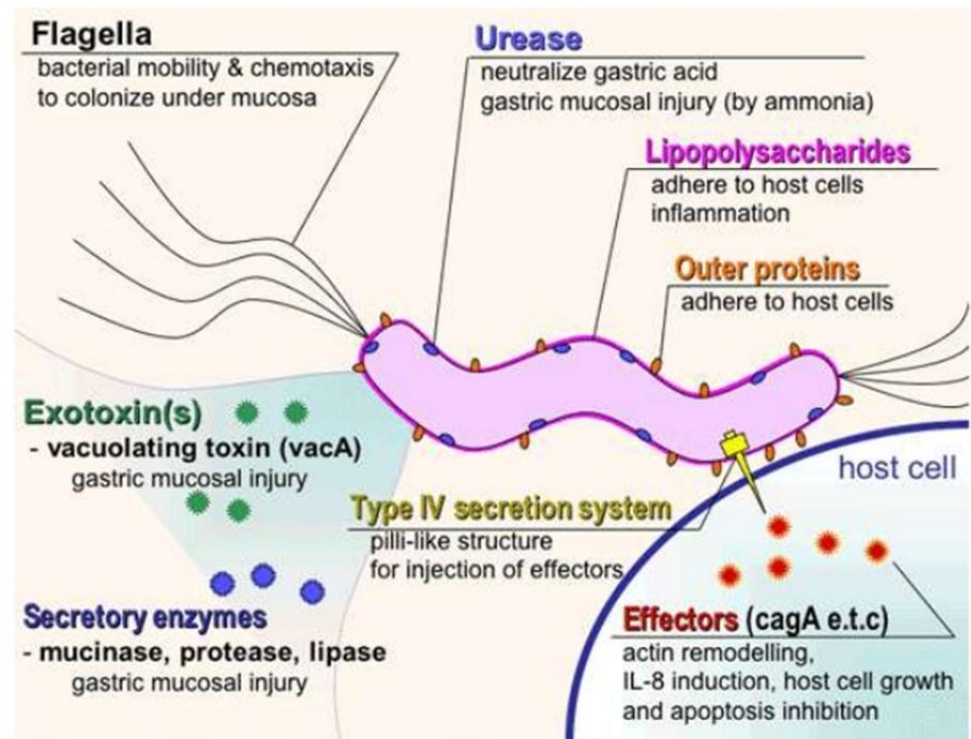
- Не восстанавливает нитраты
- образует сероводород

✓ оксидаза- и каталазаположителен

✓ обладает уреазной, транспептидазной и фосфатазной активностью

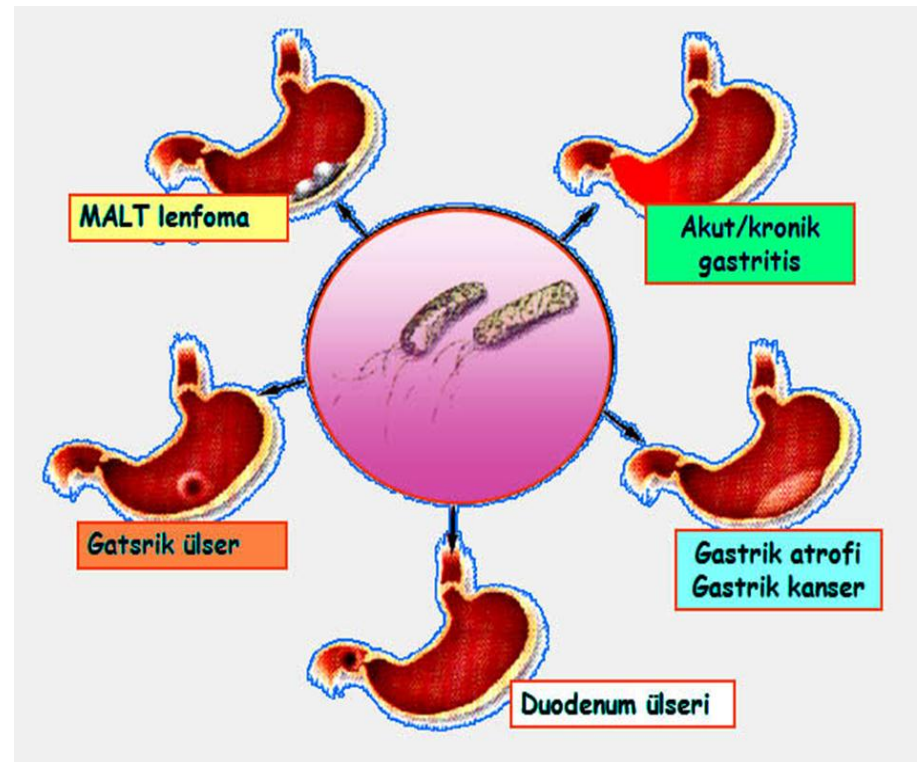
Helicobacter pylori – (факторы патогенности)

- фермент уреаза
- *жгутик*
- *протеаза*
- *цитотоксины*
(полипептидный цитотоксин (CagA), вакуолизирующий цитотоксин (VacA))
- адгезины
- белки наружной мембраны
- пептидогликаны
- липополисахарид (ЛПС)

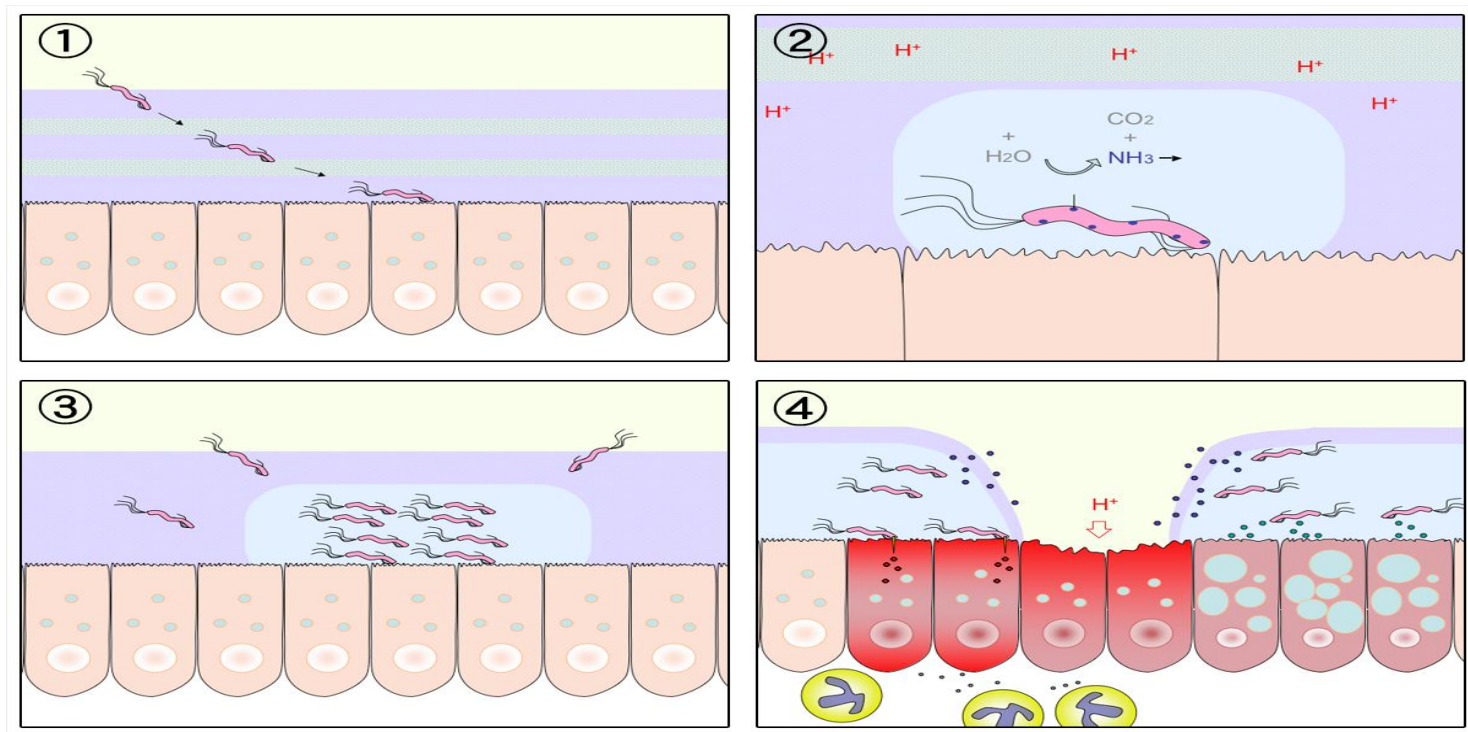


Helicobacter pylori– (вызываемые заболевания)

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

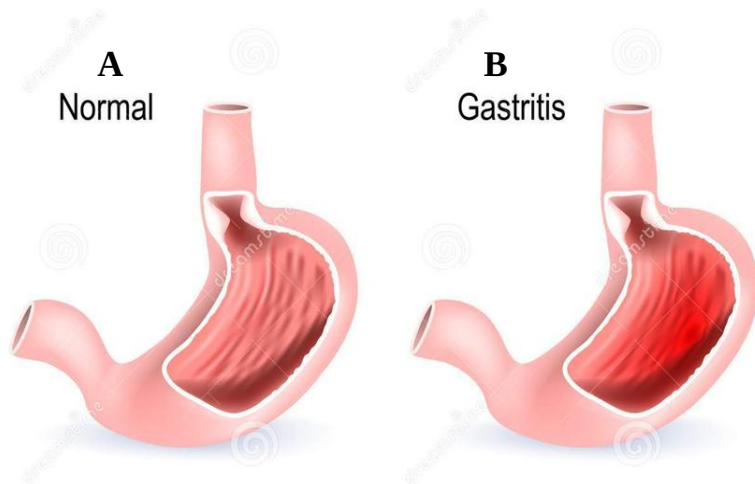


ПАТОГЕНЕЗ:



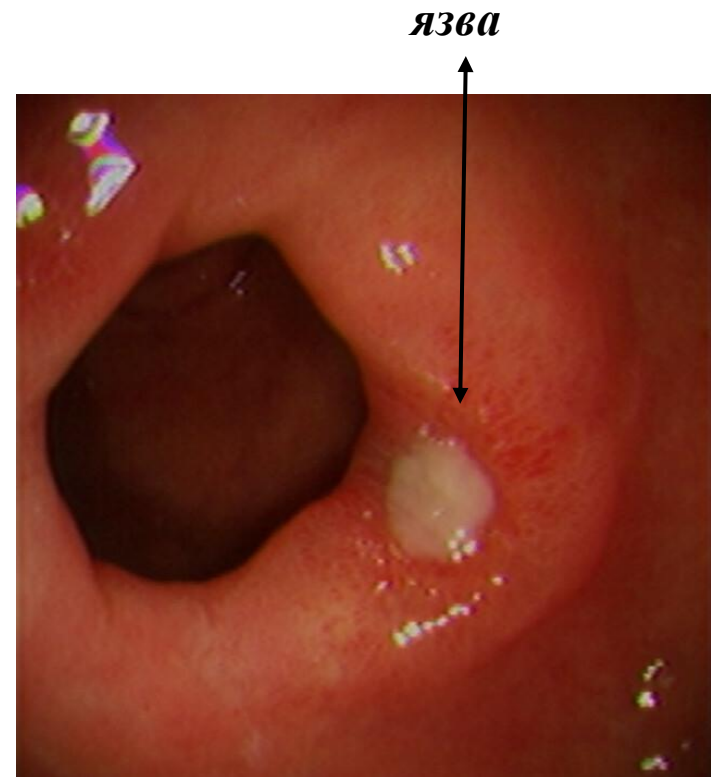
1. Внедрение *H. pylori* в слизистую оболочку.
2. Продукция уреазы *H. pylori* создает облако аммиака вокруг бактерии
3. Колонизация *H. pylori*
4. Слизистая подвергается действию желудочного сока и пепсина. В результате развивается химический ожог данной области слизистой оболочки, что в дальнейшем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

Эндоскопия



Эндоскопия желудка

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



Язва пилорического канала желудка

Микробиологическая диагностика хеликобактериоза:

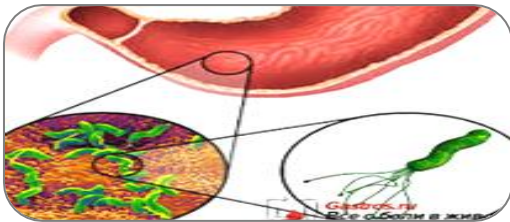
Материалы исследования:

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

ДИАГНОСТИКА

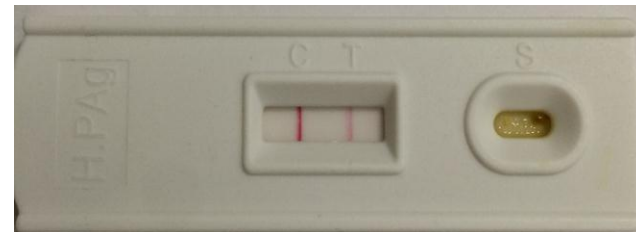
инвазивный

- 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

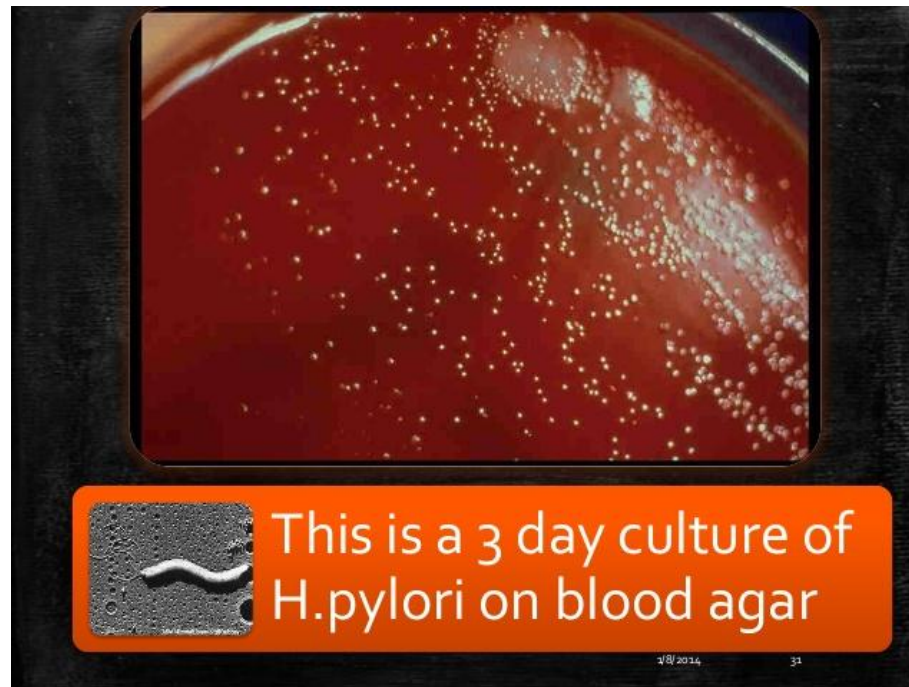
- *Питательные среды:*

- 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).

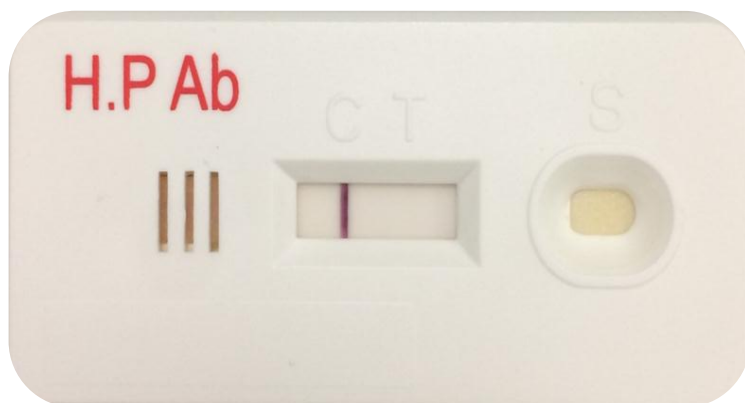
Микроаэрофилы (80-90% N₂, 5-10% CO₂, 5-10% O₂). Растут на сложных питательных средах при 35-37°C в течение 5-7 дней. В жидких средах образуют поверхностную голубовато-серую пленку.



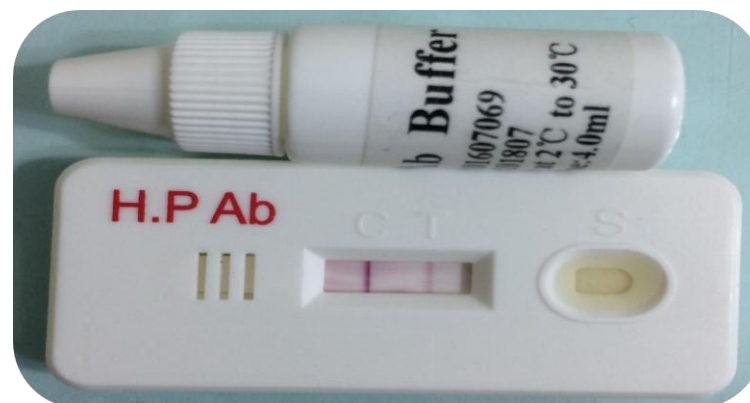
Серологический метод:

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

Экспресс-тест на антитела в сыворотке крови:



Отрицательный результат

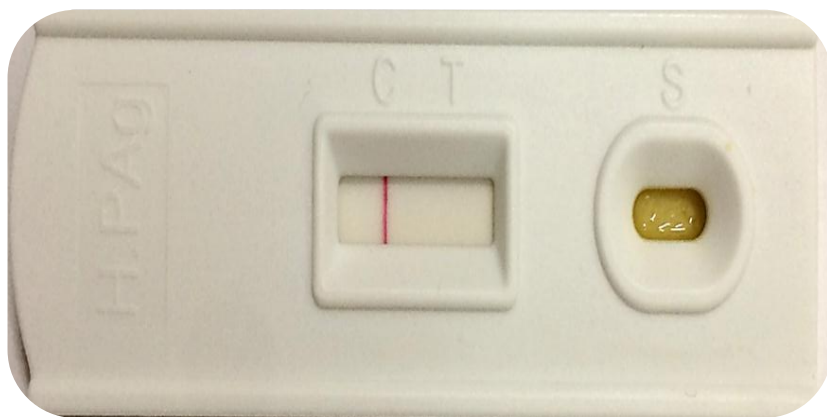


Положительный результат

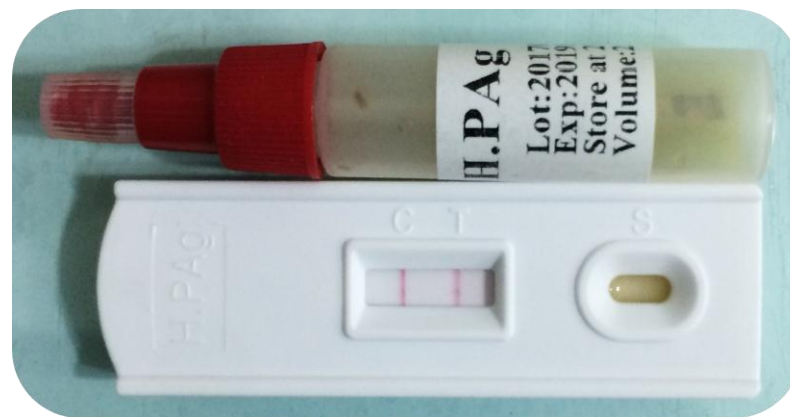
Метод определения антигенов в кале

- ***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

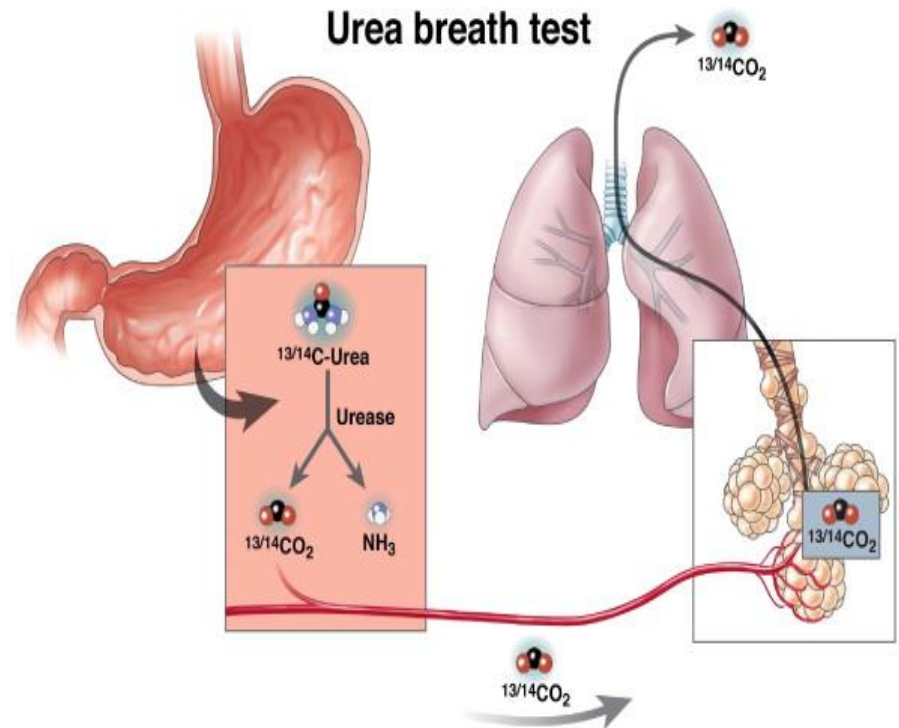


Положительный результат

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!**