

**Медицинский институт**

**Возбудители бактериальных кишечных  
инфекций: характеристика, особенности  
патогенеза, микробиологическая  
диагностика.**

**Методическое пособие**

## **Общая характеристика энтеробактерий.**

Острые кишечные бактериальные инфекции – диареи – относятся к числу наиболее распространенных заболеваний. Их возбудителями являются многие виды бактерий, но наиболее часто – представители семейства Enterobacteriaceae. Оно объединяет бактерии, которым присущи следующие признаки:

1. Единство морфологии – грамотрицательные короткие, не образующие спор палочки с закругленными концами, подвижные (перитрихи) или неподвижные, не образующие или образующие капсулы;
2. Ферментация ряда углеводов с образованием кислоты и газа или только кислоты;
3. Факультативные анаэробы, хорошо растут на простых питательных средах;
4. Хемоорганотрофы, каталазопозитивны, восстанавливают нитраты в нитриты.

Семейство насчитывает более 30 родов и более 100 видов. Наиболее важными для человека являются роды:

### **Тема № 1.**

#### **Микробиология брюшного тифа и паратифов.**

Цель занятия: уметь применять знания о биологических свойствах возбудителей брюшного тифа, паратифов А и В, о патогенезе заболевания для постановки лабораторного диагноза и проведения мер специфической профилактики.

#### Основные вопросы темы:

1. Таксономическое положение *S.typhi*, *S.paratyphi* А и В.
2. Морфология и основные биохимические свойства возбудителей.
3. Антигенное строение *S.typhi*, *S.paratyphi* А и В. Строение О-аг, локализация.
4. Особенности антигенной структуры сальмонелл и принципы их классификации (по Кауфману-Уайту).
5. Механизм заражения брюшным тифом? Источник инфекции?
6. Значение адгезии и инвазии сальмонелл в патогенезе брюшного тифа.
7. В каких клетках и органах происходит размножение сальмонелл?
8. Какие реакции в организме вызывает эндотоксин сальмонелл?

9. Роль энтеротоксина в патогенезе заболевания.
10. Динамика антителообразования при брюшном тифе в разные периоды заболевания.
11. Выбор исследуемого материала в соответствии с патогенезом брюшного тифа.
12. Этапы бактериологической диагностики на первой и третьей неделе заболевания и выявление бактерионосителей брюшного тифа (обнаружение возбудителя).
13. Питательные среды применяемые для бактериологического метода диагностики. (Среда Раппопорт, Эндо, Левина, Ресселя).
14. Серологическая идентификация выделенной чистой культуры с помощью адсорбированных монорецепторных О- и Н-агглютинирующих сальмонеллезных сывороток.
15. Серологическая диагностика брюшного тифа.
16. Серологические реакции для определения инфекционной природы брюшного тифа, ранее перенесённой инфекции и наличия иммунитета.
17. Бактерионосительство при брюшном тифе. Серологические реакции, подтверждающие хроническое бактерионосительство.
18. Фаготипирование брюшнотифозных бактерий (эпидемиологическое маркирование).
19. Специфическая профилактика брюшного тифа и паратифов А и В.

### **Методические разработки к теме.**

#### **Принципы классификации сальмонелл**

Антигенная структура сальмонелл сложна. Они имеют О-, Н-, Vi-, М-, К-антигены. При классификации учитывают первые три антигена (классификация сальмонелл по Кауфману и Уайту).

О-антиген - фосфолипидный полисахаридный комплекс. Специфичность обусловлена присутствием на концах полисахаридных цепочек, они формируют антигенные факторы. Все сальмонеллы по О-аг разделены на 67 групп: А, В, С, Д и т.д. Большинство циркулирующих в природе сальмонелл (98%) относится к 5 серогруппам А, В, С, Д, Е, и только 2% к остальным, они называются сальмонеллами "редких" групп. Антигенные варианты обозначаются арабскими цифрами. Одним из компонентов О-аг является Vi-аг, который может экранировать О-аг и вызывать феномен инагглютинабельности.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**О-антигены сальмонелл аналогичны. Разница заключается в строении концевой части полисахаридной молекулы ЛПС. Для *S. typhi* таким концевым сахаром является тивелоза (рец. 9), для *S. paratyphi* А - паратоза (рец. 2), для *S. paratyphi* В-абеквоза (рец. 4). Анализ антигенного строения является обязательным для лабораторной диагностики сальмонеллёзов.**

Н-антиген сальмонелл представлен термолабильным белком, устойчивым к формалину. Он подразделяется на 2 фазы: 1 - специфическую (обозначается строчными латинскими буквами), 2 - неспецифическую (арабскими цифрами или строчными латинскими буквами с цифрами). В природе встречаются как монофазные, так и двуфазные по Н-аг сальмонеллы.

Антигены сальмонелл подвержены мозаичным перестройкам или вариациям. Это происходит в результате перехода гладких форм колоний в шероховатые и обратно, жгутиковых форм бактерий к безжгутиковым, изменениям О-аг в результате лизогении и др. Этим обусловлено постоянное появление новых серологических вариантов сальмонелл. В настоящее время их насчитывают около 2500 сероваров.

Таблица 1.1.

**Сокращенная схема классификации сальмонелл по Кауфману и Уайту**

Серовар	Соматический О-аг	Н-антиген, фаза 1	Н-антиген, фаза 2
<b>Группа А</b>			
<i>S. paratyphi</i> А	1, 2, 12	а	1, 5
<i>S. kiel</i>	1, 2, 12	g, p	-
<b>Группа В</b>			
<i>S. paratyphi</i> В	1, 4 (5), 12	б	1, 2
<i>S. abortus bovis</i>	1, 4, 12, 27	б	е, n, x
<i>S. typhimurium</i>	1, 4 (5), 12	i	1, 2
<b>Группа С</b>			
<i>S. paratyphi</i> С	6, 7, Vi	с	1, 5
<i>S. newport</i>	6, 8	е, h	1, 2
<b>Группа Д</b>			
<i>S. sendai</i>	1, 9, 12	а	1, 5
<i>S. typhi</i>	9, 12, Vi	д	-
<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	1, 7
<b>Группа Е</b>			
<i>S. oxford</i>	3, 10	а	1, 7
<i>S. zanzibar</i>	3, 10	к	1, 5

**Сальмонеллы являются возбудителями заболеваний двух типов:**

- **брюшной тиф и паратифы А, В и С (антропонозные сальмонеллезы) ;**
- **сальмонеллезные гастроэнтериты (зооантропонозные сальмонеллезы) .**

Учитывая развитие инфекционного процесса при брюшном тифе и паратифах, возбудитель выделяют:

- на 1 - 2 неделях заболевания - из крови (гемокультура) ;
- с конца 2 начала 3 недели - из испражнений (копрокультура) ;
- с конца 2 недели - из мочи (уринокультура) ;
- из желчи - со 2 недели заболевания, в течение всего периода болезни.

Со 2-ой недели - можно проводить серологическое исследование.

#### **Правила забора крови для получения гемокультуры.**

1. Кровь для посева следует брать в начале озноба при подъеме температуры.
2. Кровь берут в объеме 5-10 мл из локтевой вены.
3. Перед взятием поверхность кожи обрабатывают спиртом, йодом, спиртом.
4. Посев рекомендуется производить непосредственно после взятия крови в 50 - 100 мл среды обогащения.
5. При невозможности проведения посева сразу после забора крови, ее помещают в стерильную пробирку, содержащую антикоагулянт, и транспортируют в лабораторию.
6. Хранить материал можно не более 2 часов в холодильнике при +4°C.

#### **Правила забора испражнений у больных брюшным тифом, паратифами и сальмонеллезом для получения копрокультуры.**

1. Посев испражнений для выделения сальмонелл производят из жидкой части фекалий.
2. Посев можно производить прямым способом - на плотные питательные среды и среды обогащения.
3. Усвойте, что для культивирования *S.typhi*, *S.paratyphi A* и *B* используют накопительные (Среда Мюллера, 10% желчный бульон) и дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Левина, висмут-сульфит агар).

Для прямого посева небольшое количество испражнений размешивают в физиологическом растворе. Оставляют на 30 минут для оседания крупных частиц. С поверхности берут одну каплю материала, которую засевают на элективные среды для выделения сальмонелл: агар Плоскирева, висмут-сульфит агар.

После выделения чистой культуры и ее идентификации по биохимическим свойствам проводят реакцию агглютинации (РА) для определения вида сальмонеллы.

Для этого:

1. Ставят РА с поливалентной сальмонеллезной сывороткой или со смесью А, В, С, Д, Е сальмонеллезных сывороток для идентификации О-аг выделенного возбудителя. Если культура дает положительную РА, то...

2. ... определяют обязательный для каждой серологической группы сальмонелл О-аг, используя для этого только 6 сывороток.

3. Когда устанавливают принадлежность культуры к определенной серогруппе, определяют наличие других О-аг, характеризующие сальмонеллы данной группы. По схеме Кауфмана-Уайта можно легко определить, что сальмонелла, принадлежащая к гр. А и дающая агглютинацию с 02 сывороткой, должна обладать О-аг 1 и 12, а сальмонелла из гр. Д, агглютинирующая с сывороткой 09, должна дать агглютинацию и с 01 и 012-сывороткой. **Определение полного комплекса О-рецепторов у сальмонелл обязательно!** Это позволяет установить серологическую подгруппу, что необходимо для установления серологического типа возбудителя и позволяет в пределах серологических групп А, В и Д выявить сероварианты для эпидемиологического прогноза.

4. После определения О-аг определяют 1-ую фазу Н-аг с помощью соответствующих монорецепторных сальмонеллезных агглютинирующих сывороток.

5. Определяют вторую фазу Н-аг, и таким образом составляют антигенную формулу сальмонеллы. После этого по схеме Кауфмана - Уайта легко найти видовое название сальмонеллы.

\*\*\* Для определения антигенной формулы некоторых сероваров из группы С и Д необходимо проводить испытания с Vi-сывороткой, так как эти сальмонеллы обладают Vi-антигеном.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**В начале заболевания нарастает активность О- и Vi-антител, в то время, как Н-антитела появляются позднее. Для оценки динамики антителогенеза сыворотка больного с подтвер-**

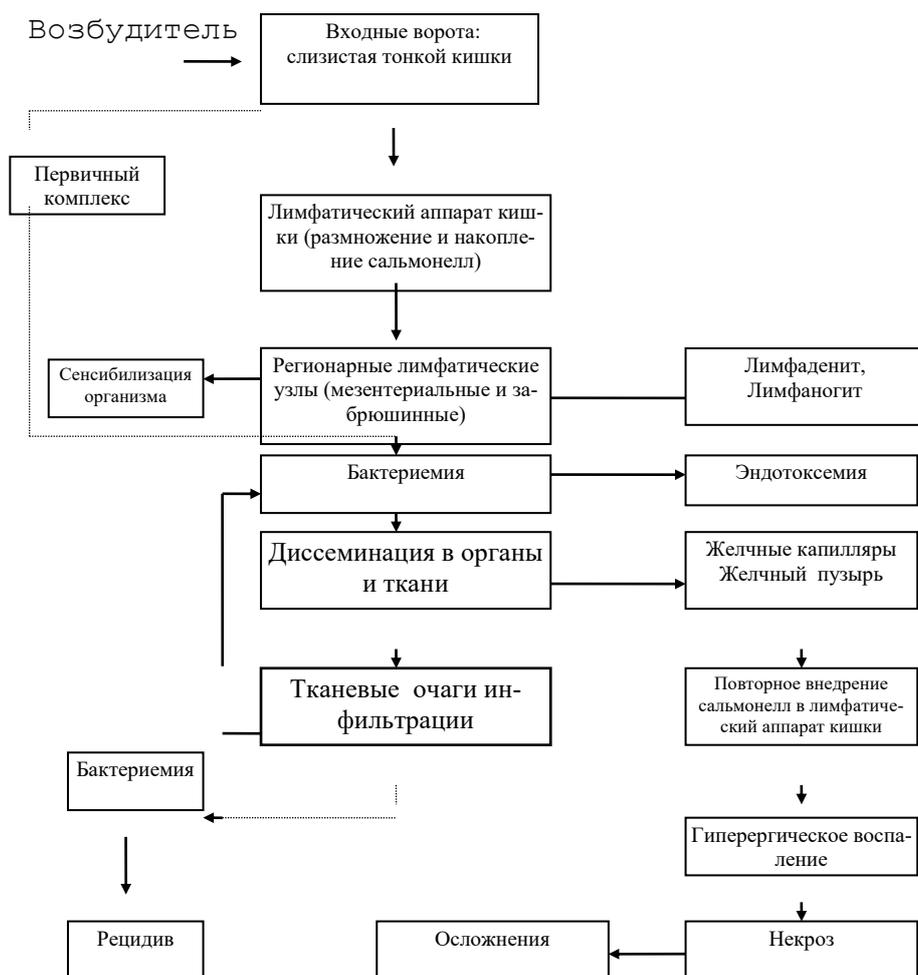
ждённым диагнозом обрабатывается солянокислым цистеином и исследуется в РПГА. Установлено, что в начале заболевания выявляются в основном IgM (19S), чувствительные к солянокислому цистеину а затем IgG (7S), устойчивые к солянокислому цистеину.

Поэтому в сыворотках, обработанных солянокислым цистеином, определяют активность IgG(7S).

Знайте, что для выявления реконвалесцентов и бактерионосителей используют РПГА с Vi-антигеном (диагностикумом - взвесь эритроцитов человека, обработанных формалином и сенсibilизированных Vi-антигеном *S.typhi*). Испытуемую сыворотку разводят от 1:10 до 1:1260. Диагностическое значение имеет положительная реакция, начиная с разведения 1:40 и выше.

Лиц, сыворотки которых дают положительный результат, рассматривают как подозрительных на носительство *S.typhi*, и многократно обследуют, применяя бактериологический метод.

### Схема патогенеза брюшного тифа



## Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов.

Для обнаружения специфических антител в крови больных заболеваниями тифо-паратифозной группы и бактерионосителей используют **реакцию агглютинации Видаля**.

Необходимо дифференцировать прививочную реакцию от инфекционной. Для этого реакцию ставят в парных сыворотках.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

Для профилактики брюшного тифа используют:

\* **вакцина брюшнотифозная спиртовая, обогащенная Vi-антигеном** – применяется для профилактики брюшного тифа среди детей 7 – 14 лет.

\* **бактериофаг брюшнотифозный сухой с кислотоустойчивым покрытием**. Применяется в массовом порядке для профилактики брюшного тифа, а также предупреждения вторичных случаев заболевания в эпидемических очагах.



### Задания для самостоятельной работы студентов.

#### Работа в аудитории.

1. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов (метод гемокультуры).

Ход исследования и полученные результаты оформить в виде протокола по образцу таблицы 1.4.

1. Произвести посев 5 мл крови в 50 мл 10% желчного бульона.

2. Произвести высев с желчного бульона на среду Эндо (из колбы с демонстрационным материалом);

3. Оценить результаты посева на среде Эндо (по демонстрационной чашке);

4. Произвести посев лактозонегативной колонии на скошенный агар для накопления чистой культуры;

5. Учесть результаты биохимической активности выделенной культуры;

6. Произвести серотипирование выделенной гемокультуры путем постановки реакции агглютинации с сальмонеллезными агглютинирующими сыворотками.

7. Дать заключение.

8. Зарисовать схему микробиологической диагностики брюшного тифа и паратифов А и В.

Оснащение: - шприц с кровью больного;

- колба на 250 мл с 100 мл 10% желчного бульона;
- колба с желчным бульоном, засеянным кровью (демонстрационный материал);
- чашка Петри со средой Эндо стерильная;
- чашка Петри со средой Эндо с характерным ростом лактозонегативных колоний;
- пестрый ряд Гисса (демонстрация);
- поливалентная агглютинирующая сальмонеллезная сыворотка, монорецепторная агглютинирующая О- и Н-сыворотки для серологической идентификации;
- предметные стекла, пипетки.

## 2. Серодиагностика брюшного тифа.

2.1. Произвести учет демонстрационной РПГА, сделать заключение, если учесть, что **диагностический титр = 1/40**.

Титр сыворотки	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	К
Эр. д-м O <sub>2</sub>							
Эр. д-м O <sub>4</sub>							
Эр. д-м O <sub>9</sub>							
Эр. д-м H <sub>a</sub>							
Эр. д-м H <sub>b</sub>							
Эр. д-м H <sub>d</sub>							

Заключение:

2.2. Произвести учет демонстрационной реакции Видаля, сделать заключение о причине заболевания, стадии заболевания (**диагностический титр = 1/200, при выраженной клинической картине - 1/100**).



### **ЗАПОМНИТЕ!**

**У детей младшего возраста реакция Видаля бывает в низких титрах, поэтому сыворотки детей следует разводить начиная с 1:25.**

--	--	--	--	--	--	--	--

Ингредиенты	1 про- бирка 1:50	2 про- бирка 1:100	3 про- бирка 1:200	4 про- бирка 1:400	5 про- бирка 1:800	Кон- троль сыв-ки	Кон- троль диагно- стикума
О- диагн. S.typhi							
Н- диагн. S.typhi							
ОН- диагн. S.parat yphi A							
ОН- диагн. S.parat yphi B							

Заключение :

**☞ Домашнее задание :**

**Задание №1.**

1. Определите таксономическое положение S.typhi, S.paratyphi A и B: 1) семейство; 2) род; 3) вид; 4) серогруппу по схеме Кауфмана-Уайта.

Ответ: 1..... 2..... 3..... 4.....

2.

**Решите вопрос:** можно ли в окрашенном по Граму мазке определить вид возбудителя? Если нельзя, то почему? Какую цель преследует микроскопия мазка, окрашенного по Граму?

3. Укажите среды, которые необходимо использовать для бактериологического метода исследования при диагностике брюшного тифа.

1. Ср. Раппопорт
2. Селенитовая среда
3. Среда Мюллера
4. МПА
5. Эндо
6. Левина
7. Плоскирева
8. Ресселя
9. Косой агар

4. Сравните по таблице биохимические свойства S.typhi, S.paratyphi A и B и определите признаки по которым их можно отличить.



1. Изучите схему Кауфмана-Уайта. Определите серогруппу *S.typhi*, *S.paratyphi* А и В.
2. Составьте антигенную формулу *S.typhi*, *S.paratyphi* А и В. Обратите внимание на наличие у сальмонелл Vi-аг, который встречается у вирулентных штаммов.
3. Какие методы лабораторной диагностики используют при подозрении на тифо-паратифозные заболевания.

#### **Задание №4**

Решите задачи:

1. Из анамнеза больного стало известно, что он болен 4 дня. Жалобы на высокую температуру, головную боль, слабость. Врач поставил диагноз "Брюшной тиф" и направили кровь на бактериологический анализ; присутствовавший субординатор возражал, полагая, что кровь нужно направить для серологического исследования.
  - а) кто из врачей прав?
  - б) почему?
  - в) перечислите этапы бактериологического способа исследования.
  - г) какую цель преследует серологическая идентификация выделенной чистой культуры при этом способе исследования?
  - д) какими методами вы будете определять чувствительность выделенной чистой культуры к лекарственным препаратам? Опишите.
2. Больной поступил в инфекционное отделение на 8-ой день с момента заболевания. Врач поставил диагноз "Брюшной тиф" и направил кровь для серологического исследования.
  - а) исходя из патогенеза данного заболевания, правильно ли врач выбрал материал для исследования;
  - б) какие реакции иммунитета целесообразно использовать для постановки диагноза;
  - в) какое разведение сыворотки будет определять диагностический титр?
  - г) опишите технику постановки этих реакций.
3. Для диагностики и специфической профилактики брюшного тифа и паратифа А и В применяются...

Составьте таблицу 1.9.

Название препарата	Способ получения	Назначение

**Тема №2.**  
**Микробиология шигеллезов.**

Цель изучения темы: На основе полученных знаний о свойствах возбудителей дизентерии, факторов патогенности и патогенеза научиться ставить лабораторный диагноз дизентерии и осуществлять специфическую профилактику.

Основные вопросы темы:

1. Таксономическое положение шигелл, международная классификация шигелл.
2. Особенности морфологии, антигенного строения шигелл.
3. Культуральные свойства. Основные и дифференциальные биохимические тесты.
4. Факторы патогенности (адгезия, колонизация, токсины: энтеротоксины и цитотоксины) и патогенетические особенности при дизентерии, характер иммунитета.
5. Источник и пути передачи дизентерии.
6. Лабораторные методы диагностики дизентерии. Бактериологический метод: последовательность этапов.
7. Серологическая идентификация выделенной чистой культуры из материала от больного.
8. Серологический метод диагностики дизентерии. РПГА. Значение.
9. Аллергический метод диагностики и его значение.
10. Биопрепараты, применяемые для диагностики и профилактики дизентерии.
11. \*Возрастные особенности диагностики дизентерии у детей.

\* для педиатрического факультета

**Методические разработки к теме.**

При инвазии шигеллами слизистой оболочки толстой кишки эпителиоциты поражаются неравномерно, при этом уменьшается количество бокаловидных клеток, отторгаются эпителиальные клетки, что ведет к появлению поверхностных микроэрозий. Липополисахаридная часть эндотоксина и цитотоксина обладает выраженным энтеротропизмом и поражает слизистую оболочку толстой кишки. При этом возбудитель и его токсины, повреждая фагоциты и клетки слизистой оболочки, способствуют выходу биологически активных веществ (гистамин, серотонин, кинины,

простагландины), которые нарушают микроциркуляцию, повышают интенсивность воспалительного процесса и приводят к расстройству функций кишечника (моторики, секреции, всасывания).



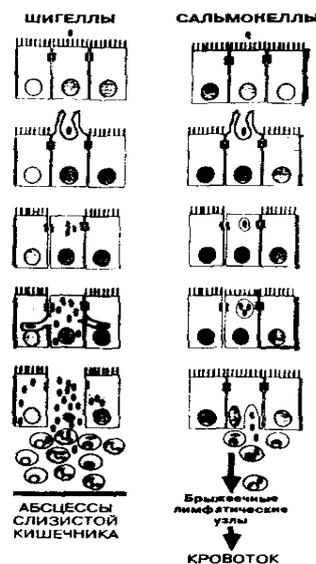
### **ЗАПОМНИТЕ!**

**Лишь инвазивные штаммы шигелл могут вызывать развитие типичного инфекционного процесса. Токсигенные, но малоинвазивные формы шигелл не вызывают заболевания.**

**Факторы патогенности шигелл:**

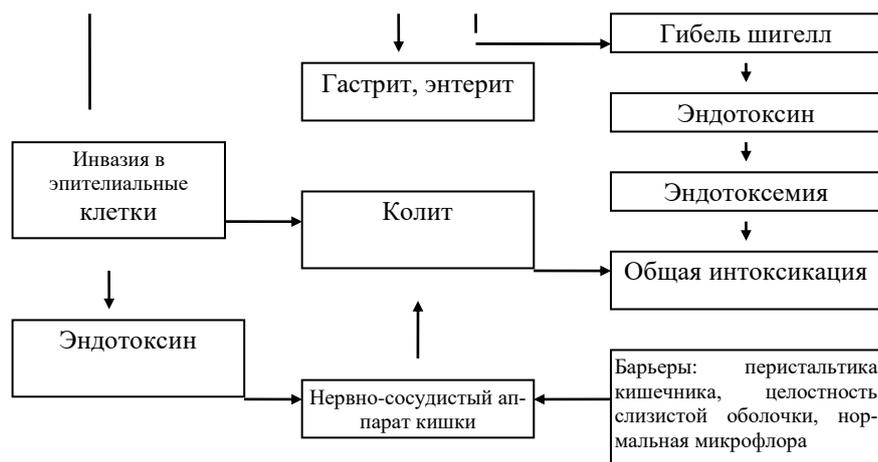
- **вирулентные поверхностные белки инвазии, кодируемые плазмидой;**
- **токсин Шига (нарушает синтез белка, всасывание  $Na^+$  и воды и вызывает гибель клетки);**
- **эндотоксин.**

**Патогенез** поражений обусловлен способностью шигелл проникать в клетки слизистой оболочки толстой кишки, размножаться в них, инфицировать соседние клетки, а также покидать фагосомы и выходить в цитоплазму нейтрофилов и макрофагов. Размножение шигелл в эпителиальных клетках приводит к их гибели и прорыву бактерий в подлежащие ткани с развитием дефектов слизистой оболочки, воспалительной реакции подслизистой оболочки и выходом форменных элементов в просвет кишки.



### **Схема патогенеза дизентерии.**





**Диагностика шигеллезов** осуществляется бактериологическим методом. В соответствии с особенностями патогенеза шигеллы локализуются в эпителиальных клетках толстого кишечника, поэтому основным материалом для бактериологического исследования служат испражнения или материал толстой кишки, взятый с помощью ватно-марлевых тампонов при ректороманоскопии.

При сборе испражнений для выделения шигелл следует учитывать:

1. Шигеллы находятся главным образом в слизистой и гное, поэтому отбирают пробы, содержащие слизь и гной.

2. Первые порции кала представляют пробку в нижней части кишки, где микробы могли погибнуть. Поэтому для посева отбирают последующие порции кала, происходящие из верхней части прямой и сигмовидной кишки.

3. Для исследования не следует брать последние жидкие порции испражнений, которые являются содержимым нижнего отрезка тонких кишок.

4. Прямой посев фекалий для выделения шигелл можно производить только в том случае, если его производят непосредственно в палате, иначе в постоявших испражнениях, возникают процессы брожения, обуславливающие кислую реакцию, при которой гибнут шигеллы.

Собранный материал доставляют в лабораторию в специальной транспортной среде или консервирующей смеси, которые наливают в стерильные пробирки в количестве 5-10 мл. Транспортной средой служит среда обогащения (20% желчный или селенитовый бульон). Консервантом является глицериновая смесь. Объем вносимых испражнений не должен превышать 1/5 объема транспортной Среды. Испражнения, доставленные в консерванте, хранят до посева при +4<sup>0</sup>С.

Правила посева испражнений для выделения шигелл.

1. Посев осуществляется только шпателем.

2. Посев осуществляется одновременно на несколько сред: Плоскирева, Левина. Кроме того, для повышения высеваемости шигелл используют среды Левина, Плоскирева с добавлением антибиотиков левомицетина и тетрациклина в связи с циркуляцией штаммов, устойчивых к антибиотикам.

Техника посева.

1. Из материала, доставленного в транспортной среде, на поверхность питательной среды наносят каплю суспензии, растирают шпателем. Шпатель, не прожигая, переносят на вторую и третью чашки, где делают равномерный посев.

2. При прямом посеве испражнений, крупной петлей отбирают слизисто-гнойные кусочки фекалий, промывают в двух чашках Петри, содержащих стерильный физиологический раствор, переносят на поверхность плотной питательной Среды и производят посев, как описано в п.1.

3. Чашки с посевами инкубируют при 37<sup>0</sup>С в течение 18-24 часов.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**При выделении чистой культуры шигелл от больного острой и особенно хронической дизентерией не всегда удаётся выделить возбудитель (процент высеваемости колеблется от 30%- до 50%). Это связано:**

- 1) с механизмом взаимодействия шигелл с эпителием толстого кишечника (внутриклеточное размножение),
- 2) с большой чувствительностью шигелл к дезинфектантам (гибель бактерий во время транспортировки)
- 3) с приёмом антибиотиков больным до взятия фекалий на исследование.

4. На этапе идентификации бактериологического метода диагностики изучают биохимические и антигенные свойства выделенной культуры. Сравнительные данные биохимической активности различных возбудителей ОКИ представлены в таблице 1.10.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**Подтверждение клинического диагноза бактериальной дизентерии осуществляется бактериологическим (обнаружение возбудителя) и серологическим (обнаружение антител) способом в**

**реакции РПГА с эритроцитарным диагностикумом. Важно учитывать не только высоту титра реакции, но и динамику нарастания антител. Антитела в крови больных появляются поздно, поэтому повторное исследование крови рекомендуется проводить в конце 2-3 недели болезни.**

Таблица 1.10.

**Сравнительные данные биохимической активности различных возбудителей ОКИ**

Возбудитель	H <sub>2</sub> S	Маннит	Лизин	Индол	Орнитин	Цитрат	Уреаза	ОНФГ	Ф-П	Инозит	Липаза	Ф-А
<i>E. coli</i>	-	+	+	+	+/-	-	-	+	-	-	-	-
Род <i>Salmonella</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-/+	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. sonnei</i>	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-
<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	+/-	-	-	-	-/+	-	-	-	-
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>Y. enterocolitica</i>	-	-	-	+/-	+	-	-	+	-/+	-	-	-

Примечание: лизин - лизиндекаоксидаза  
 орнитин - орнитиндекарбоксилаза  
 ф-п - реакция Фогес - Проскауэра  
 ф-а - фенилаланиндезаминаза  
 ОНФГ - орто-нитро-фенил -Д-галактопиранозид



**ЗАПОМНИТЕ!**

**При серологическом методе диагностики в РПГА у детей с длительным вялым течением болезни диагностическим титром является рост антител в 4 и более раза ко 2-ой неделе заболевания. Появление антител в титрах 1:200 и выше у детей старше года и 1:100 и выше у больных детей до года также является диагностически значимым.**



**ЗАПОМНИТЕ!**

Для лечения и профилактики дизентерии применяют:

\* **бактериофаг дизентерийный поливалентный в таблетках с кислотоустойчивым покрытием и свечах.** Содержит фаголизаты, активные против шигелл Зонне, Флекснера сероваров 1, 2, 3, 4, 6, лиофилизированный и спрессованный в таблетки или сформированный в свечи. Применяют для профилактики и лечения дизентерии, санации реконвалесцентов. Профилактику проводят среди детей и обслуживающего персонала в школьных учреждениях во время сезонного подъема заболеваемости. Препарат можно применять с 6-месячного возраста.

\*



### Задания для самостоятельной работы студентов

#### Работа в аудитории.

##### 1. Бактериологическая диагностика шигеллеза.

Ход исследования и полученные результаты оформить в виде протокола по образцу таблицы 1.5. (см. Тему №1-2).

1. Произвести посев испражнений, доставленных в транспортной среде, шпателем на чашки со средами Эндо, Левина, Плоскирева.

2. Оценить результаты посевов на демонстрационных средах Эндо, Левина, Плоскирева. Отметить наличие бесцветных колоний.

3. Произвести пересев бесцветных колоний на среду Гисса с маннитом;

4. Учесть результат на демонстрационной среде с маннитом;

5. Учесть результат биохимической активности выделенной культуры в тест-системе "Энтеротест-1". Используя таблицу, сделать заключение о выделенной чистой культуре.

6. Зарисовать схему микробиологической диагностики дизентерии.

Оснащение: - испражнения в пробирке с транспортной средой;

- шпатель в стакане со спиртом;

- чистые чашки со средами Эндо, Левина, Плоскирева;

- чашки со средами Эндо, Левина, Плоскирева с демонстрационными посевами;

- Среда Гисса с маннитом чистая и Среда Гисса с демонстрационными посевами;

- тест-система "Энтеротест-1".

## **☞ Домашнее задание:**

### **Задание №1.**

1) Установите таксономическое положение возбудителей дизентерии, указав: семейство, род, виды и серовары, пользуясь международной классификацией шигелл.

2) Нарисуйте с учётом размеров, расположения, характера концов какой-нибудь вид шигелл, E.coli, Staphylococcus, одного из представителей диплококков.

3) Какой метод микроскопии и какой препарат позволяет выявить подвижность шигелл.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**Определение подвижности является дифференциальным признаком, позволяющим отличить шигеллы от сальмонелл и эшерихий.**

4) Выберите дифференциальные признаки для S.flexneri, S.sonnei (таблица 1.10) и сопоставьте с биохимической активностью E.coli. Обратите внимание, что шигеллы менее ферментативно активны и, как правило, при расщеплении углеводов не образуют газообразных продуктов. Исключение - медленное расщепление лактозы S.sonnei (2-3 сутки).

6) Перед Вами перечислены символы антигенов: O, H, K, Vi, M, A. Укажите АГ, входящие в состав микроорганизмов рода шигелл.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**Шигеллы имеют перекрёстные антигенные связи с ЭИКП.**

### **Задание №2**

1. Исходя из знания патогенеза дизентерии, укажите:  
- что является материалом для исследования при бактериологическом методе диагностики...?

- что является материалом для исследования при серологическом методе диагностики...?

2. Какова цель проведения этих методов диагностики дизентерии?

### **Задание №3**

1) Как нужно правильно взять материал на исследование и его транспортировать?

2) Сколько раз нужно провести бактериологическое исследование для подтверждения отрицательного результата?

3) Какие методы экспресс-диагностики используются для обнаружения в фекалиях больных O-антигена шигелл? Как быстро может быть получен ответ?

Решите задачу

Заболела рабочая совхоза при уборке моркови и свеклы. Жалобы на частый стул, тенезмы, боли в животе. Врач поставил диагноз: дизентерия?

Задание

1. Какой материал от больного нужно взять для исследования?
2. Определите цель исследования и метод лабораторной диагностики.
3. Перечислите этапы этого метода лабораторной диагностики.
4. Какое исследование необходимо провести на последнем этапе выделения чистой культуры, результат которого окажет влияние на лечение больного?

**Тема 1. Этиологическая структура ОКИ.**  
**Патогенные эшерихии - возбудители эшерихиозов.**

Цель: Научиться применять знания о биологических свойствах патогенных разновидностей эшерихий для постановки микробиологического диагноза эшерихиоза.

Основные вопросы темы:

1. Этиологическая структура ОКИ - инфекций с фекально-оральным механизмом передачи. Принципы диагностики.
2. Таксономическое положение E.coli в системе микроорганизмов, ее роль в норме и патологии.
3. Морфология и основные биохимические тесты, используемые с целью дифференциальной диагностики.
4. Антигенное строение эшерихий: O, K, H - антигены.
5. Патогенные серовары E.coli: их обозначение при помощи антигенных формул (O111:K58:H4 и т.п.).
6. Факторы патогенности: токсины, адгезины и факторы колонизации эпителия слизистой кишечника.
7. ЭПКП, ЭТКП, ЭИКП, ЭГКП: их отличия и значение в этиологии ОКИ. Возрастные особенности заболеваемости кишечной коли-инфекцией.
8. Типы взаимодействия ЭПКП, ЭТКП, ЭИКП, ЭГКП с эпителием кишечника.
9. Общие принципы бактериологического метода исследования при кишечных инфекциях, как основного метода микробиологической диагностики этих инфекций.

10. Этапы бактериологической диагностики кишечной коли-инфекции.
11. Серологическая идентификация выделенной чистой культуры при кишечной коли-инфекции с ОК- сыворотками.
12. Биопрепараты, применяемые для диагностики и лечения эшерихиозов.

### Методические разработки к теме.

Возбудители острых кишечных инфекций относятся к семейству Enterobacteriaceae родам Escherichia, Salmonella, Shigella и др. Все они представляют морфологически неразличимые грамотрицательные палочки, не образующие спор. В связи с этим **бактериоскопический метод исследования для диагностики не применяется.**

Серологический метод исследования используется при диагностике брюшного тифа и паратифов, и в качестве вспомогательного метода при сальмонеллезах и шигеллезах.

Таблица 1.1.

**Этиологическая структура бактериальных инфекций с фекально-оральным механизмом передачи**

Острые кишечные инфекции	Инфекции с поражением ЖКТ	Пищевые токсикоинфекции	Пищевые интоксикации	Инфекции с несколькими механизмами передачи
<b>Эшерихиозы</b> - диарейные эшерихии	<b>Холера</b> - V.cholerae	бактерии рода Klebsiella	Пищевое отравление - S.aureus (Ent+)	бактерии рода Brucella
<b>Шигеллез</b> - бактерии рода Shigella	<b>Псевдотуберкулез, кишечный иерсиниоз</b> - Y.pseudotuberculosis Y.enterocolitica	бактерии рода Proteus		
<b>Сальмонеллез</b> - бактерии рода Salmonella	<b>Брюшной тиф, паратифы</b> - S.typhi, S.paratyphi A, B	бактерии рода C.perfringens	<b>Ботулизм</b> - C.botulinum	<b>Лептоспироз</b> - Leptospira interrogans

	<b>Кампилобак- териоз -</b> Campylobact er pylori			
--	---	--	--	--

Таблица 1.2.

**Дифференцирующие свойства ОКИ**

Возбу- дитель	Заболе- вание	Матери- ал для иссле- дования	Метод иссле- дования	Биологическая дифференциация			Дифференци- ация внутри рода
				глю	лак	H <sub>2</sub> S	
ЭПКП, ЭТКП, ЭГКП, ЭИКП	Кишеч- ный эшерихиоз	Испраж- нения, (кровь при сепси- се)	Бакте- риоло- гиче- ский	КГ	КГ	-	По антиген- ной струк- туре
Shigell a	Шигел- лез	Испраж- нения	Бакте- риоло- гиче- ский	К	-	-	По способ- ности ути- лизировать маннит, по антигенной структуре
S.typhi S.schot- tmul- leri S.parat- yphi A	Брюшной тиф, паратифы	Испраж- нения, кровь, моча, желчь, сыво- ротка	Бакте- риоло- гиче- ский, сероло- гиче- ский	КГ	-	+	По антиген- ной струк- туре

S. enteritidis и др. сальмонеллы	Сальмонеллез	Испражнения, рвотные массы, кровь, желчь, сывотка	Бактериологический, серологический	КГ	-	+	По антигенной структуре
----------------------------------	--------------	---	------------------------------------	----	---	---	-------------------------

Таблица 1.3.

**Механизмы взаимодействия  
возбудителей ОКИ с эпителием кишечника**

<b>Тип взаимодействия</b>	<b>Возбудители</b>	<b>Факторы патогенности, обеспечивающие процесс взаимодействия</b>
1 ТИП Адгезия, размножение на поверхности эпителия тонкой кишки без повреждения эпителия и инвазии. Выделение энтеротоксина ведет к гиперсекреции эпителия и энтеросорбции жидкости с самоочищением эпителия от бактерий без развития воспаления. Дает холероподобное течение заболевания.	V. cholerae, ЭТКП 06,07,0148, 0153	Поверхностные структуры, связанные с фимбриями 3 типа, факторы колонизации, обусловленные плазмидами
2 ТИП Размножение на по-	ЭПКП: 0125; 0111; 055 и др.	Фимбрии 3 типа, обусловленные плаз-

верхности эпителия тонкой и толстой кишки с разрушением микроворсинок, повреждением апикальной поверхности эпителия, развитием эрозий и умеренного воспаления. Дает заболевание по типу энтерита	ЭГКП	мидой Шига
3 ТИП Внедрение и размножение в эпителиальных клетках толстой кишки, цитотоксическое повреждение и гибель эпителиоцитов. При этом наблюдается выраженное воспаление, эндотоксемия, цитотоксемия. Дизентериеподобное течение болезни.	Shigella, ЭИКП: 0124; 0135; 0144	Контактный гемолизин, обусловленный плазмидой, цитотоксин
4 ТИП Трансцитоз через эпителий с инфицированием Пейеровых бляшек с последующим размножением в лимфоузлах	Salmonella, Yersinia	Белки наружной мембраны, детерминированные хромосомой

Для построения антигенно-диагностических схем эшерихий наиболее важное значение имеют О-, К-, и Н-антигены.

О-антиген эшерихий представляет собой термостабильный липополисахарид, который не разрушается при кипячении в течение 2,5 часов. Насчитывается более 167 разновидностей О-аг, однако это количество может увеличиться, так как в природе встречаются штаммы *E.coli*, которые не идентифицируются сыворотками к известным О-аг.

Агглютинабельность штаммов, содержащих К-антиген, имеет своеобразие. Известно около 100 сероваров эшерихий, обладающих К-антигеном. К-аг локализован в оболочке бактерии или за

ее пределами в капсульном веществе. К-аг термостабилен, разрушается лишь при 2-часовом автоклавировании при 1 атм. (121°C). Наличие К-аг у многих сероваров эшерихий экранирует О-аг и препятствует агглютинации О-аг специфическими О-сыворотками. **Это явление называют инагглютинабельностью**

Таблица 1.4.

**Серогруппы E.coli,  
наиболее часто вызывающие поражения у человека**

<b>Поражения</b>	<b>О-АГ</b>	<b>Н-АГ</b>	<b>К-АГ</b>
Кишечные : энтеротокси- генные	06, 08, 011, 015, 020, 025, 027, 063, 078, 080, 085, 0114, 0115, 0126, 0128, 0139, 0148, 0153, 0159, 0166, 0167	H4, H7, H9, H11, H12, H19, H20, H21, H28, H40	
энтеропатогенные	018, 026, 044, 055, 086, 0111, 0112, 0114, 0119, 0125, 0127, 0128, 0142, 0158	H2, H6, H7, H11, H12, H14, H18	
энтероинвазивные	028, 029, 0112, 0115, 0124, 0135, 0136, 0143, 0144, 0152, 0164, 0167	H6, H7, H8, H11	
энтерогеморрагические	026, 0111, 0157		
<b>Инфекции мочевых путей</b>	01, 02, 04, 06, 07, 08, 09, 011, 018, 022, 025, 062, 075		K1, K2, K5, K12, K13
<b>Бактеремии</b>	01, 02, 04, 06, 07, 08, 09, 011, 018, 022, 025, 075		K1, K2, K5, K12, K15, K23
<b>Менингиты</b>	01, 06, 07, 016, 018,		K1

**Энтеротоксигенные E.coli** – факторы патогенности:

– **пили** или **фимбрии** (СFА/І, СFА/ІІ,СFА/ІV), облегчающие адгезию и способствующие колонизации нижних отделов тонкой кишки, а также определяющие способность к токсинообразованию; СFА закодированы в плазмидах “по соседству” с генами энтеротоксинов, и лишь одновременная экспрессия *sfa*- и *tox*-генов обеспечивает вирулентность ЭТКП. Без колонизирующих факторов энтеротоксины патогенетически инертны; точно так же как СFА-адгезины без токсигенности

– **энтеротоксины – LT и ST**, один из которых (**LT**) термолабилен, аналогичен действию холерного токсина; **ST** – термостабильный токсин, также увеличивает синтез цАМФ.

Определить наличие термостабильного у ЭТКП можно по способности продуцировать токсины на мышатах-сосунках, термолабильный – на культуре клеток надпочечников

**Энтероинвазивные E.coli** – инвазивность обусловлена наличием плазмид, кодирующих синтез соответствующих белков. Поражения, вызванные ЭИКП, характеризуются абдоминальными болями, профузной водянистой диареей с примесью крови.

**Энтеропатогенные E.coli** – имеют плазмиду, кодирующую синтез белка, обозначаемого как **фактор адгезивности**. ЭПКП способны адгезироваться на эпителиальных клетках кишечника и повреждать микроворсинки, но инвазироваться в клетки они не могут. Поражения характеризуются болями в животе, рвотой, водянистым стулом, без примеси крови. Среди прочих ОКІ заболевание протекает наиболее тяжело и может продолжаться 2 недели и более.

**Энтерогеморрагические E.coli** – выделяют цитотоксин (шигаподобный), ген которого переносится бактериофагом. Имеют плазмиды, кодирующие образование пилей, облегчающих адгезию бактерий к эпителию кишечника.

Вызывают диарею с примесью крови (геморрагический колит) в сочетании с гемолитико-уремическим синдромом (гемолитическая анемия и почечная недостаточность).

**Энтероадгезивные E.coli** – имеют факторы адгезии. Структурная основа и патогенетическая значимость неизвестны.



**ЗАПОМНИТЕ!**

**Основным методом диагностики ОКИ является бактериологический. Материал для бактериологического исследования определяется патогенезом заболевания, основу которого составляет характер взаимодействия с эпителием кишечника.**

Таблица 1.5.

**Схема оформления  
протокола бактериологического исследования**

Материал для исследования \*\*\*:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

<b>Этап исследования</b>	<b>Ход исследования</b>	<b>Результат исследования с выводами</b>

Заключение:

\*\*\* При взятии материала следует придерживаться следующих правил:

1. Материал берут до начала антибиотикотерапии или через промежуток времени после введения лекарственного препарата, необходимого для его выведения из организма.
2. Материал собирают в стерильную посуду:
  - стерильные одноразовые шприцы;
  - судна для испражнений дезинфицируют хлорной известью, а затем тщательно промывают горячей водой для полного удаления дезинфектанта;
  - транспорт материала в лабораторию осуществляют в стерильной посуде, лучше однократного применения;
3. Материал доставляется в лабораторию как можно скорее. Можно хранить не более 2 часов в холодильнике при температуре +2 - +4<sup>0</sup>С.



**Задания для самостоятельной работы студентов.**

**Работа в аудитории.**

1. Лабораторная диагностика эшерихиозов. Бактериологический метод исследования.

Произвести посев исследуемого материала, изучить культуральные, биохимические свойства выделенной культуры, поставить реакцию агглютинации данной культуры с эшерихиозными

агглютинирующими ОК-сыворотками. Дать заключение. Результаты занести в протокол.

Материал для исследования:

Предполагаемый диагноз:

Цель исследования:

Этап исследования	Ход исследования	Результат исследования с выводами
1 этап	Посев испражнений на среду Эндо	
2 этап		
3 этап		
4 этап		

### Заключение :

Оснащение: - исследуемый материал - испражнения больного в разведении  $10^{-6}$ ;

- чистая чашка Петри со средой Эндо;
- чашка Петри со средой Эндо с характерным ростом колоний E.coli (демонстрационный материал);
- пестрый ряд Гисса (демонстрационный материал);
- набор эшерихиозных агглютинирующих ОК-сывороток для серологической идентификации эшерихий.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

Выделение эшерихий, относящихся к ЭТКП возможно:

**1) при массивности их роста -  $10^6$  и выше в 1г испражнений (превышает таковую у др. выделенных представителей условно-патогенной флоры);**

**2) при способности выделенных эшерихий к продукции энтеротоксинов.**

### ☞ Домашнее задание:

#### Задание №1

1. Определите таксономическое положение E. coli, указав семейство, род, вид. Опишите положительную роль кишечной палочки в организме.

Вспомните роль E. coli как показателя санитарного состояния объектов внешней среды. Объясните роль воды как фактора передачи кишечных инфекций, как определяется коли-титр и коли-индекс данного объекта?

2. Какие среды используют при проведении бактериологического метода исследования кишечной коли-инфекцией?

Заполните таблицу 1.6.

Название среды	Компоненты, входящие в состав среды	Назначение компонентов	Методы стерилизации

3. Приведите примеры патогенных эшерихий. Сочетание каких антигенов позволит определить серологическую группу и серовары? Вспомните, что К-антиген располагается поверхностнее О-антигена. Это обуславливает феномен О-инагглютинабельности.

4. Зная механизм действия энтеротоксина и патогенез эшерихиозов, подтвердите:

1. ЭПКП (O111:K58, O55:K58) вызывают.....

2. ЭИКП (O25, O124:K78) вызывают .....

3. ЭТКП (O1, O15, O48) вызывают.....

4. Механизм действия энтеротоксина заключается в .....

5. Какие методы лабораторной диагностики используют при подозрении на заболевания, вызываемые патогенными E.coli.

6. Каковы принципы лечения эшерихиозов? Назовите биопрепараты для коррекции кишечной микрофлоры.

## **Задание № 2**

### **Решите задачу:**

Врач был вызван к больному с жалобами на высокую температуру, общую слабость, боли в животе, частый обильный жидкий стул. Врач поставил диагноз: ОКИ. Эшерихиоз?

Задание	Ответ
1. Выберите материал для исследования.	
2. Определите цель исследования, и метод лабораторной диагностики.	
3. Перечислите этапы этого метода и дайте подробное описание серологической идентификации выделенной чистой культуры.	
4. Как можно определить наличие О- и К-антигенов у выделенной чистой культуры?	
5. Какое разведение будет определять диагностический титр с живой и убитой культурами?	
6. Чем можно объяснить жидкий стул у больного?	
7. В чём заключается сущность действия энте-	

#### **Тема №4. Патогенные вибрионы - возбудители холеры.**

Цель изучения темы: Уметь применять знания о свойствах патогенных вибрионов для постановки лабораторной диагностики холеры и специфической профилактики.

##### Основные вопросы темы:

1. Таксономическое положение возбудителей холеры.
2. Особенности морфологии возбудителей холеры.
3. Биохимические свойства. Деление вибрионов на группы по отношению к сахарозе, рамнозе, арабинозе.
4. Антигенное строение холерного вибриона (O- и H- антигены). Серогруппы, серовары: Огава (AB), Инаба (AC), Гикошима (ABC).
5. Токсические субстанции холерного вибриона: эндотоксин, энтеротоксин (холероген) и их свойства.
6. Механизм действия энтеротоксина при взаимодействии с рецепторами (GM1-ганглиозидами) эпителиальной клетки кишечника. Внутриклеточные процессы, происходящие при взаимодействии холерогена с клетками эпителия.
7. Ферменты патогенности (значение нейраминидазы, протеаз, муциназ) в цепи патогенеза холеры.
8. Бактериоскопическое исследование. Этапы бактериологической диагностики холеры.
9. Питательные среды, применяемые для бактериологической диагностики холеры (щелочные среды: 1% щелочная пептонная вода, щелочной МПА и селективные среды).
10. Дифференциальные признаки, характерные для рода *Vibrio*.
11. Серологическая идентификация выделенной чистой культуры в реакции агглютинации с O-сывороткой и типовыми сыворотками.
12. Ускоренные методы диагностики холеры: иммобилизация вибрионов O-холерными сыворотками, иммунофлуоресцентные исследования.
13. Специфическая профилактика холеры.

##### **Методические разработки к теме.**

На основании биохимических и биологических различий холерные вибрионы разделяют на 2 биовара: классический - **V.cholerae asiatica** и Эль-Тор - **V.cholerae eltor**.

Таблица 1.11.

**Дифференциальные признаки возбудителей холеры**

Признак	V.cholerae asiatica	V.cholerae eltor
Реакция Фогеса-Проскауэра	-	+
Чувствительность к полимиксину В (50 ЕД)	+	-
Гемолиз эритроцитов барана	-	+
Агглютинация куриных эритроцитов	-	+
Чувствительность к классическому монофагу	+	-
Чувствительность к монофагу Эль-Тор	-	+
Гексаминовый тест	-	+

У холерных вибрионов выделяют термостабильные О- и термолabile H - антигены. H-АГ - общие для большой группы вибрионов.

По структуре О-АГ выделяют **139 серогрупп. V.cholerae** и **V.cholerae eltor** объединяют в серовар О1 и О139 (мутант О1). О-антиген О1 группы неоднороден и включает **А,В,С компоненты**. Разные сочетания этих компонентов присущи сероварам **Огава (АВ), Инаба (АС), Гикошима (АВС)**.

Холерные вибрионы, неагглютинирующиеся видоспецифической О1-сывороткой, их обозначают как **неагглютинирующиеся** или **НАГ вибрионы**.



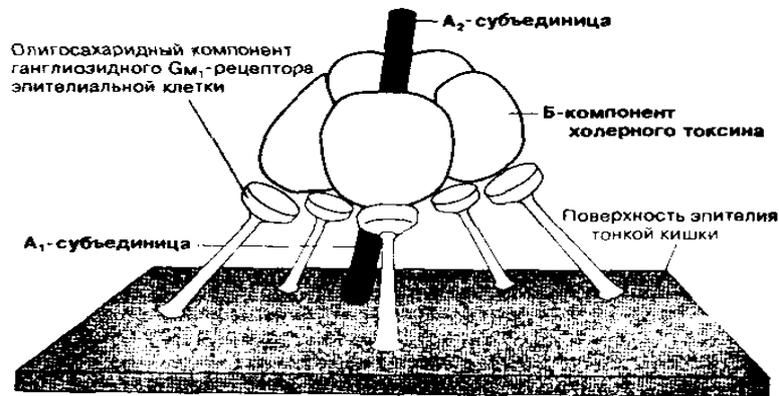
**ЗАПОМНИТЕ!**

**Для бактериологической диагностики холеры решающую роль играет серологическая идентификация выделенной чистой культуры с О-холерной сывороткой.**

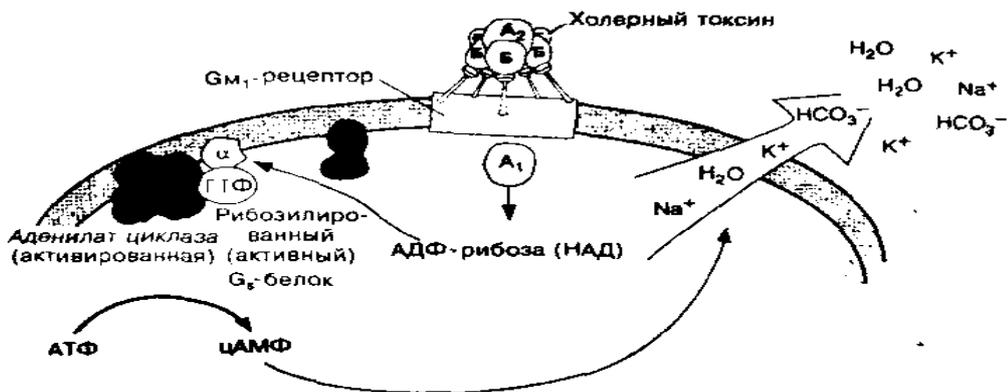
**Факторы патогенности холерного вибриона:**

- **жгутики** - обеспечивают подвижность;
- **муциназа** - разжижает слизь и облегчает доставку вибриона к эпителию;
- **нейраминидаза** - обеспечивает взаимодействие с микроворсинками;
- **эндотоксин** - термостабильный ЛПС, не играет существенной роли в развитии характерных проявлений;

- **экзотоксин (холероген)** – термолабильный белок, имеющий 2 компонента.



**Компонент Б** взаимодействует с ганглиозидным рецептором  $G_{M1}$ , что обуславливает проникновение в клетку компонента А. **Компонент А** составляют две субъединицы. Основную роль в патогенезе заболевания играет субъединица  $A_1$ . Субъединица  $A_1$  активирует аденилатциклазу, повышает содержание внутриклеточной цАМФ, что способствует выходу жидкости и электролитов из клеток в просвет кишечника.



Воспалительная реакция слизистой оболочки кишки при холере не развивается. Возбудитель полностью лишен способности к инвазии, является "просветным паразитом", а его токсин имеет единственную точку приложения – это энтероциты. При холере не бывает ни бактеремии, ни токсемии.

**Ускоренная диагностика культуры холерного вибриона после микроскопии мазка, окрашенного по Граму.**

1. РА с сыворотками 01, 0139.

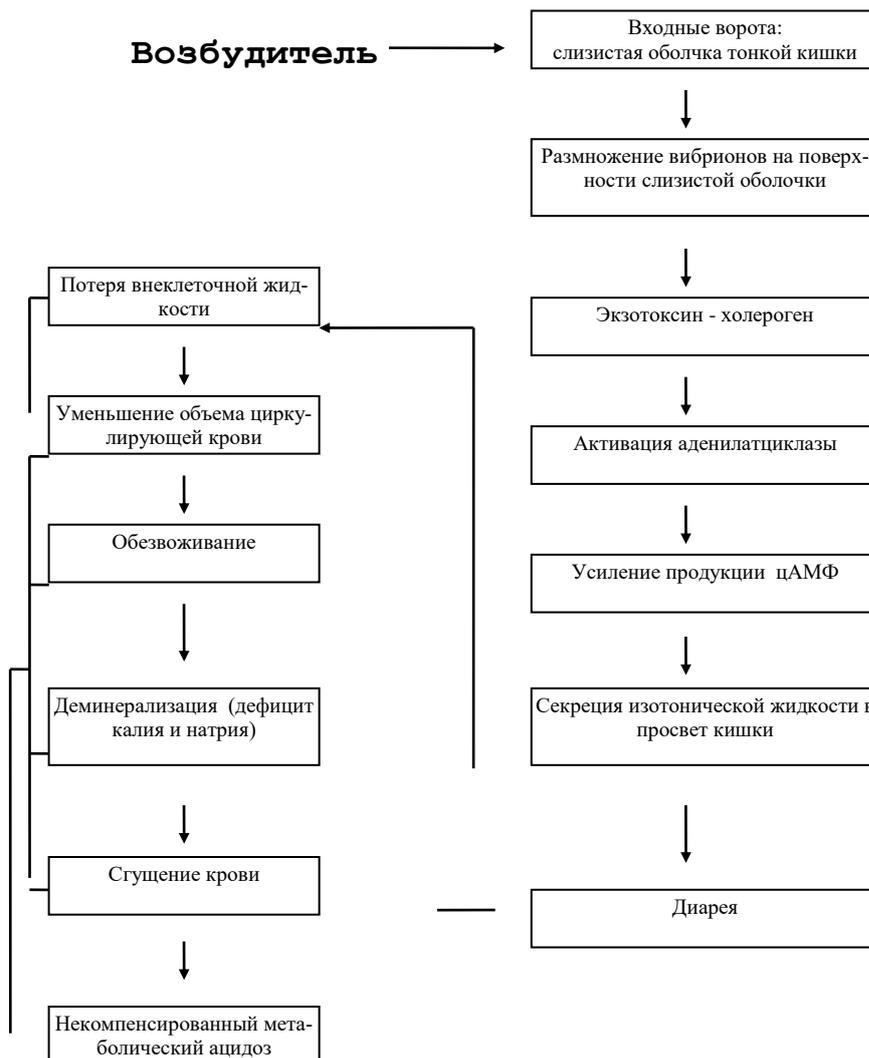
2. Специфическая иммобилизация с O-холерными диагностическими сыворотками в капле при фазово-контрастной или темнопольной микроскопии.
3. РНГА с АТ-эритроцитарным диагностикумом
4. РИФ
5. Чувствительность к холерным диагностическим фагам
7. Принадлежность к группе Хейберга.

\*\*\* Предварительный положительный ответ дают только устный, если получены положительные результаты по пп.1, 2, 3, 4.

Окончательный положительный ответ дают через 36-48 часов письменный.

Отрицательный ответ может быть дан по окончании исследований по полной схеме через 36-48 часов.

### Схема патогенеза холеры.





**Серологический метод диагностики холеры** используется для определения антител в сыворотке переболевших (ретроспективная диагностика) и вибрионосителей.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

Для лечения и профилактики холеры применяют:

\* **вакцина сухая и жидкая (холероген - анатоксин + O-антиген)** содержит два основных протективных антигена холерного вибриона Инаба 569-В: анатоксин и основной соматический O-антиген. Предназначена для профилактики холеры у взрослых и детей старше 7 лет. Вакцина обеспечивает выработку гуморального и антитоксического иммунитета до 6 месяцев.

\* **вакцина холерная (или Эль-Тор) убитая сухая и жидкая** содержит взвесь убитых холерных или Эль-Тор - вибрионов. Предназначена для профилактики холеры по эпидемическим показаниям.



### **Задания для самостоятельной работы студентов**

#### **Работа в аудитории.**

**1. Изучите** и зарисуйте аудиторную таблицу "Методы микробиологической диагностики холеры".

**2. Проведите учет** результатов демонстрационной РА выделенной культуры холерного вибриона с O-агглютинирующими холерными сыворотками.

**3. Провести учет** результатов фаготипирования выделенной культуры с холерными фагами.

#### **Оснащение:**

- РА с O1, O139, O2 - сыворотками.

- чашки Петри с ростом культуры и внесенным фагом Мукареджи тип 4 и тип 2.

#### **Домашнее задание:**

#### **Задание №1**

Закрепить знания о морфологических, тинкториальных биохимических и антигенных свойствах вибрионов и использовать их для целей дифференциации патогенных вибрионов.

1) Определите местоположение холерного вибриона (семейство, род, вид)?

2) К каким формам бактерий нужно отнести вибрионы, в каком препарате и каким методом микроскопии можно выявить подвижность вибрионов?

3) Для культивирования вибрионов используются щелочные, простые питательные среды, потому что.....

4) Какие среды надо использовать для лабораторной диагностики холеры.

1. Среда Эндо.
2. Среда Левина.
3. 1% щелочная пептонная вода.
4. МПА.
5. Косой агар.
6. Щелочной МПА.
7. Среда Рессела.

## **Задание №2**

Используя знание о строении и функциях, которые холерогены выполняют в организме, объясните:

1) Почему при холере происходит нарушение водно-электролитного обмена и обезвоживание организма?

2) При каких кишечных заболеваниях наблюдаются эти же симптомы, чем можно объяснить это?

3) Дополните предложения:

а. С целью бактериологической диагностики холеры исследуют ....., потому что.....

б. Целью бактериологического исследования является.....

в. Холера – особо опасная карантинная инфекция, поэтому исследование материала от больного начинается обязательно с .....

4) Исходя из патогенеза и иммунитета при холере какой препарат целесообразно назначить для специфической профилактики холеры?

## **Задание №3**

### **Решите задачу**

В клинику поступил больной после 3-х месячной командировки в Индию и Пакистан. Врач обнаружил водную диарею, боли в животе и повышение температуры. В первые сутки он поте-

рлял 5л жидкости. Стул типа рисового отвара. У больного подозревается холера.

Задание	Эталоны ответов
1. Определите: а) исследуемый материал б) метод диагностики 2. Перечислите этапы использованного метода диагностики. 3. Возможна ли экспресс-диагностика и какими способами? 4. Токсины каких возбудителей могут вызывать подобную картину заболевания?	

**Тема №5. Возбудители пищевых токсикоинфекций (ПТИ) и интоксикаций (ПИ): сальмонеллы, клостридии ботулизма, стафилококки. Иерсинии и кампилобактерии – возбудители острых диарейных инфекций.**

Цель изучения темы: Уметь применять знания о биологических свойствах возбудителей пищевых токсикоинфекций и интоксикаций, острых диарейных инфекций для постановки микробиологического диагноза.

**Основные вопросы по теме:**

**А. Сальмонеллы – возбудители пищевых токсикоинфекций.**

1. Антигенный состав сальмонелл – возбудителей ПТИ в соответствии с классификацией по Кауфману-Уайту
2. Эндотоксин, химическая природа, характеристика, локализация в бактериальной клетке. Механизмы действия эндотоксина в организме больного и его роль в патогенезе сальмонеллезной ПТИ.
3. Энтеротоксин, механизмы его действия.
4. Этапы бактериологического исследования сальмонеллезной
5. ПТИ. Серологическая идентификация выделенной чистой культуры сальмонелл.
6. Серологические реакции, которые могут быть использованы для уточнения диагноза сальмонеллезной ПТИ.
7. Биопрепараты, применяемые для диагностики и лечения сальмонеллезных ПТИ.

**Б. Клостридии – возбудители пищевой интоксикации и токсикоинфекции**

1. Таксономическое положение возбудителей: семейство, род, виды.
  2. Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства клостридий. Резистентность вегетативных форм и спор.
  3. Свойства токсинов (химический состав, резистентность, антигенные свойства).
  4. Патогенез ПТИ, вызванных клостридиями.
- В. Стафилококки – возбудители гастроэнтеритов (ПИ).
1. Таксономическое положение стафилококков – возбудителей пищевых интоксикаций: семейство, род, виды. Факторы патогенности.
  2. Стафилококковый энтеротоксин и его свойства, генетическая детерминированность.
  3. Принципы лабораторной диагностики стафилококковой пищевой интоксикации и токсикоинфекции (исследуемый материал, методы исследования, методы выявления стафилококкового энтеротоксина).
- Г. Иерсинии и кампилобактеры – возбудители острых диарейных инфекций.
1. Таксономическое положение возбудителя кишечного иерсиниоза: семейство, род, виды.
  2. Морфологические и культуральные особенности иерсиний, температурный диапазон роста.
  3. Источники и пути заражения кишечным иерсиниозом.
  4. Таксономическое положение возбудителей кампилобактериоза: семейство, род, виды.
  5. Морфологические и культуральные свойства, тип дыхания кампилобактеров.
  6. Особенности выделения чистой культуры и идентификации кампилобактеров.

### **Методические разработки к теме.**

Среди кишечных инфекций особое место занимают пищевые токсикоинфекции, возникающие при употреблении заражённых пищевых продуктов. В отличие от других инфекционных заболеваний для возникновения пищевых токсикоинфекций непременным условием является предварительное попадание и размножение в продуктах микробов – возбудителей этих заболеваний. При этом часто органолептические свойства пищевых продуктов не изменяются.



#### **ЗАПОМНИТЕ!**

**Пищевые токсикоинфекции – острое, кратковременное заболевание, вызываемое условно-патогенными бактериями, способ-**

**ными продуцировать вне организма, на обсемененных ими продуктах, токсины.**

А. Сальмонеллы – возбудители ПТИ.

Основные возбудители – *S.typhimurium*, *S.heidelberg*, *S.enterocolitica*, *S.derbi* и другие.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

Резервуаром инфекции природе в основном являются птицы и животные. Больной человек или бактерионоситель также может поддерживать циркуляцию этих сальмонелл среди людей. Между тем, встречаются такие серовары, которые имеют ограниченное число хозяев, например, *S.sendai* обитает только у человека, а *S.gallinarum-pullorum* – у птиц.

**Основной источник заражения человека (50%)** – домашняя птица (куры, гуси, утки) и их яйца. Эпидемиологическую опасность могут представлять инфицированные сальмонеллами крупный рогатый скот, свиньи, овцы, лошади; инфицированные животные выделяют возбудитель с мочой, калом, молоком, слюной. В 20% случаев инфекция может передаваться с говядиной, свиной и другими мясными продуктами.



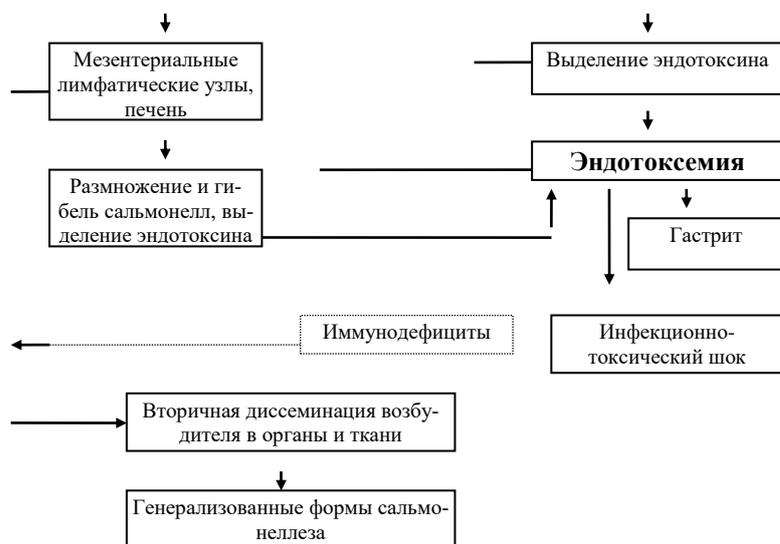
### **ЗАПОМНИТЕ!**

**Патогенные сальмонеллы могут вызывать не только сальмонеллёзные пищевые токсикоинфекции у взрослых, но и сальмонеллёзные инфекции у детей раннего возраста.**

**Тяжесть сальмонеллёзной пищевой токсикоинфекции зависит от количества сальмонелл, попавших в организм человека вместе с пищей, и, следовательно, количества высвобождающегося при разрушении бактериальных клеток эндотоксина.**

**Схема патогенеза сальмонеллеза**





Термостабильный энтеротоксин сальмонелл индуцирует механизм активации аденилатциклазы энтероцитов, что приводит к нарушению в них концентрации цАМФ. Это влечет за собой поступление в просвет кишечника большого количества жидкости, калия, натрия, хлоридов. У больных возникают рвота, понос.

Для лечения и профилактики сальмонеллезом применяют:

\* **бактериофаг сальмонеллезный групп А В С Д Е жидкий.**

Содержит смесь фаголизатов сальмонелл паратифа А и В, тифимуриум, гейдельберг, холера суис, ораниенбург, ньюпорт, дублин, анатум, ньюландс, активную в отношении сальмонелл, имеющих наибольшее распространение и относящихся к группам А, В, С, Д, Е. Предназначен для лечения детей и взрослых, больных сальмонеллезом, обусловленных сальмонеллами групп А, В, С, Д, Е, санации реконвалесцентов, носителей сальмонелл, а также с профилактической целью по эпидпоказаниям.

\* **интести-бактериофаг (жидкий)** - содержит смесь фильтратов фаголизатов шигеллезных (Флекснера сероваров 1, 2, 3, 4, 6; Зонне), сальмонеллезных (паратифа А и В, энтеритидис, тифимуриум, холера суис, ораниенбург), наиболее распространенных серологических групп энтеропатогенных штаммов кишечной палочки, протей, стафилококковых, энтерококковых бактерий, синегнойной палочки. Используется для лечения кишечных инфекций, вызванных перечисленными бактериями, дисбактериоза.

Б. Клостридии - возбудители пищевой интоксикаций и токсикоинфекций



**ЗАПОМНИТЕ!**

**Пищевая интоксикация - заболевание, вызванное употреблением продуктов, зараженных бактериальными токсинами, без присутствия бактерий.**

Род *Clostridium* включает в себя более 80 видов, из них 20 вызывают заболевания у человека. Наибольшее значение имеют: *C.perfringens*, *C.tetani*, *C.botulinum*, *C.difficile*. Среди перечисленных только *C.tetani*, являясь возбудителем столбняка, не вызывает ПТИ. Все остальные при определенных условиях могут стать причиной данного заболевания.

Например, *C.perfringens* наряду с газовой гангреной является причиной пищевой интоксикации, *C.difficile* вызывает псевдомембранозный колит с диарейным синдромом, *C.botulinum* вызывают тяжелое пищевое отравление - ботулизм.

***C.perfringens***. По спектру продуцируемых токсинов различают пять типов - А, В, С, Д, Е. Чаще всего встречаются типы А (вызывает газовую гангрену, пищевое отравление) и С (некротизирующий энтероколит).

Штаммы типа А и С, вызывающие пищевое отравление, продуцируют **энтеротоксин**. Это термолабильный белок, который высвобождается в кишечнике при споруляции (образовании спор). Подобно токсинам холерного вибриона и энтеробактерий - усиливает секрецию энтероцитами воды и ионов натрия и хлора, но достигает этого иным путем. Он не повышает внутриклеточный уровень цАМФ, а **вызывает повреждение плазматической мембраны энтероцитов** (единственный такого рода пример среди всех диареегенных бактерий).

***C.perfringens* типа А** вызывают преимущественно токсикоинфекции легкой и средней тяжести. Инкубационный период составляет 6 - 24 часа, заболевание начинается остро, с ощущениями боли в животе, рвотой, диареей. Общие нарушения проявляются слабостью, головокружениями. Повышение температуры наблюдается редко. Симптомы исчезают через 12 - 24 часа. Летальные исходы наблюдаются редко.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

**Данные микроорганизмы могут проникать в кровоток и вызывать тяжелый анаэробный сепсис.**

***C.perfringens* типа С** вызывают тяжело протекающий некротический энтерит, который может закончиться смертью больного через 12 - 24 часа. Симптомы аналогичные вышеуказанным, но благодаря действию другого токсина -  $\beta$ -токсина - возможен некроз энтероцитов. Такие больные нередко попадают на операционный стол с диагнозом "кишечная непроходимость". Смертность достигает 35%.

Для развития заболевания требуется примерно 10<sup>8</sup> клеток ***C. perfringens***, которые, подвергаясь споруляции в тонком кишечнике, высвобождают энтеротоксин, накопившийся в бактериях при их вегетации в продуктах питания. В пищеварительном канале возбудитель не размножается. Особенно опасна подогретая пища, оставленная на несколько часов при комнатной температуре, так как, выдерживая кипячение в течение часа, споры быстро прорастают при 45 - 50 С.

***C. difficile*** признан возбудителем псевдомембранозного колита, ассоциированного с применением антибиотиков. Этот возбудитель является едва ли не главной причиной внутрибольничной диареи.

События, ведущие к диарейному синдрому, начинаются с антибиотикозависимого подавления нормальной микрофлоры, прежде всего анаэробных неспоровых бактерий (бактериодов, бифидобактерий) - основы колонизационной резистентности толстого кишечника. Наиболее опасны антибиотики типа клиндамицина, которые, обладая высокой активностью против анаэробных бактерий, длительно (до 5 дней) сохраняются в кишечнике после однократного приема. *C. difficile* выживают благодаря образованию спор. Прорастая после отмены антибиотиков, они дают начало обильному потомству вегетативных клеток, продуцирующих токсины.

*C. difficile* образует два главных токсина - А и В:

- \* **токсин А - атакует энтероциты, вызывая их гибель;**
- \* **токсин В - оказывает повреждающее действие на цитоскелет всех клеток.**

Лечение нацелено на уничтожение вегетирующих клеток *C. difficile* и состоит из:

- \* назначения ванкомицина (препарат плохо всасывается в желудочно-кишечном тракте, поэтому накапливается в кишечнике);
- \* восстановления нормального микробиоценоза кишечника.

***C. botulinum*** является причиной одного из наиболее тяжёлых из группы пищевых токсикоинфекций и интоксикаций заболеваний - ботулизма \*.

Для ботулизма характерно поражение нервной системы. В патогенезе заболевания принимают участие два фактора - токсический (действие ботулотоксинов, накопившихся в заражённом клостридиями ботулизма пищевом продукте) и инфекционный (выделение ботулотоксинов микробами, попавшими в организм больного).

\*\*\* Более подробно данная инфекция будет рассмотрена в разделе "Токсинемические инфекции"

## В. Стафилококки \*\*\* – возбудители гастроэнтеритов (ПИ).

Около половины штаммов золотистого стафилококка (чаще фаготипы группы III) продуцируют токсины, которые, попав в пищеварительный тракт, вызывают острейший гастроэнтерит с профузным поносом и тяжелой рвотой. Это наиболее распространенная пищевая интоксикация бактериальной природы: более половины этиологически расшифрованных пищевых отравлений в развитых странах связаны со стафилококком.

Рвота отражает прямое воздействие энтеротоксинов на центры головного мозга. Не исключено, что диарея является следствием поражения ЦНС после всасывания токсинов в кровь. Впрочем, не исключена и возможность прямого поражения пищеварительного тракта.

Стафилококковое пищевое отравление – пример чистой ПИ: энтеротоксин накапливается в пищевых продуктах, где размножаются энтеротоксигенные штаммы *S.aureus*. Поступление бактерий в пищеварительный тракт (т.е. собственно инфекция) не имеет значения.

Известно 5 антигенных вариантов энтеротоксина: А, В, С, Д, Е, которые неодинаковы по силе токсического эффекта. Все токсины закодированы в генах умеренного бактериофага, обладают высокой термостабильностью (выдерживают кипячение, т.е. жесткий режим приготовления пищи) и устойчивостью к протеолитическим ферментам пищеварительного тракта. Другие стафилококковые токсины в тех же условиях быстро разрушаются. Важное эпидемиологическое значение имеют широкое носительство золотистого стафилококка и его способность размножаться в присутствии высоких концентраций хлорида натрия.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

**Обсемененная бактериями пища, из которой высевается более  $10^8$  золотистого стафилококка, может содержать опасную дозу токсина.**

\*\*\* Более подробно характеристика стафилококков изложена в разделе "Кокковые инфекции"

## Г. Иерсинии и кампилобактеры – возбудители острых диарейных инфекций.



### **ЗАПОМНИТЕ!**

**В настоящее время возросло количество острых кишечных заболеваний зоонозного происхождения. Среди них - кампилобактериоз (занимает первое место в развитых странах) и йерсиниоз.**

## **1. Йерсинии - возбудители кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза**

**Кишечный иерсиниоз** - острая инфекционная болезнь с фекально-оральным механизмом заражения, протекающая с лихорадкой, симптомами интоксикации и поражением желудочно-кишечного тракта (диарея, энтерит, псевдоаппендицит, илеит). Вызывает заболевание **Yersinia enterocolitica**, относящаяся к семейству Enterobacteriaceae.

Возбудитель широко распространен в природе. Его выделяют от насекомых, моллюсков, ракообразных, птиц, грызунов, собак, кошек, домашних сельскохозяйственных животных. Возбудитель можно обнаружить в воде многих рек и озер.

Основной источник инфекции - сельскохозяйственные животные - свиньи, крупный и мелкий рогатый скот, а также бройлерные куры. У животных может быть носительство и выраженное заболевание. В очаге заражаются продукты животноводства, овощи, поставляемые населению. В инфицированных продуктах мясе, молоке, на овощах, хранящихся в холодильнике, иерсинии продолжают размножаться и могут накапливаться в большом количестве. (Кишечный иерсиниоз - "болезнь холодильников").

Наблюдаются профессиональные заболевания у сельскохозяйственных рабочих.

Роль человека, как источника инфекции, невелика, но встречаются случаи внутрибольничного заражения, и заражения при тесном общении.

**Псевдотуберкулез** - острое инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом заражения, характеризующееся общей интоксикацией, лихорадкой, симптомами поражения желудочно-кишечного тракта, суставов и скарлатиноподобной сыпью. Причиной заболевания является **Yersinia pseudotuberculosis**.

Заражение происходит от животного. Природный резервуар - грызуны, олени, домашние животные и птицы.

Энтеропатогенные иерсинии обладают способностью к сапрофитному существованию в почве. Их популяция во внешней среде поддерживается свободно живущими инфузориями вида *Tetrahymena pyriformis*, в которых микробы размножаются, формируя устойчивую к фагоцитозу популяцию бактерий. Живот-

ные заражаются иерсиниями, употребляя зараженную воду и растения. Поэтому иерсиниозы принято считать сапрозоонозными инфекциями.

Исходя из особенностей экологии, иерсинии неприхотливы к питательным средам. Оптимальная температура роста - +22° - +28°.

У энтеропатогенных иерсиний существует температурная регуляция экспрессии факторов вирулентности. Гены хромосомной локализации, обеспечивающие начальный этап инфекции, а именно трансцитоз через М-клетки слизистой кишечника, функционируют только при +37°С. Поэтому инфекционное заболевание возникает только в том случае, если микроб перед попаданием в организм человека находился минимум 3 суток при температуре не выше +8°- +10°С.

Во время нахождения в макроорганизме иерсиний начинается синтез факторов патогенности, гены которых находятся в плазмиде и экспрессируются при +37°С. Это цитотоксины, повреждающие эпителий кишечника, а также V и W-антигены, которые обеспечивают энтеропатогенным иерсиниям возможность размножаться в фагоците и вызывать незавершенный фагоцитоз.

Сохранение и размножение в фагоцитах обеспечивает энтеропатогенным иерсиниям распространение по макроорганизму, поражение лимфоидного аппарата кишечника, с развитием мезентериита, формирование очагов инфекции в различных тканях, что сопровождается развитием длительной персистенции микробов в макроорганизме и его аллергизацией.

#### **Факторы патогенности энтеропатогенных иерсиний**

<b>Факторы патогенности</b>	<b>Функция</b>	<b>Локализация</b>	<b>Температура экспрессии гена</b>
Инвазивный термостабильный белок	Трансцитоз через М-клетки слизистой кишечника	Хромосома	Ниже 37°С
Цитотоксин	Повреждение эпителия слизистой кишечника	Плаزمида	37°С
Энтеротоксин ( <i>Yersinia enterocolitica</i> )	Диарейный синдром	Хромосома	Ниже 37°С

)			
V и W-антигены	Размножение в фагоцитах	Плазмида	37°C

По O-антигену иерсинии подразделяются на 30 сероваров. Наибольшее эпидемиологическое значение имеют штаммы, принадлежащие к сероварам 03, 09, 05, 027. Имеется также H-антиген и поверхностный антиген энтеробактерий, общий с другими родами семейства Энтеробактерий (сальмонеллами, шигеллами, эшерихиями, клебсиеллами и другими).

**Патогенез.** Попадая через рот, возбудитель внедряется в слизистую нижнего отдела тонкой кишки. При этом развивается терминальный илеит различной степени выраженности. Возбудитель может попасть в мезентериальные лимфоузлы, вызывая их воспаление. В процесс также может быть вовлечён червеобразный отросток с формированием аппендицита. У ослабленных больных инфекция может принять септический характер.

**Основные клинические формы:** гастроэнтероколитическая, аппендикулярная, септическая, субклиническая (бессимптомная).

**Лабораторная диагностика** осуществляется двумя методами – бактериологическим и серологическим (РА, РНГА)

Исследуемый материал: испражнения, моча, иногда ликвор, кровь, гной, желчь, трупный материал, продукты. (Взятый материал до отправки в лабораторию хранят в холодильнике)

Материал засевают в среду накопления: забуференный раствор хлорида натрия (РН 7,2–7,4) и помещают в холодильник. С этой среды периодически делают высевы на чашки с дифференциально-диагностическими средами – на среду Эндо и др., применяемые для выделения сальмонелл. Чашки инкубируют при 22–26°.

Выросшие подозрительные колонии отсевают на скошенный агар. Чистую культуру идентифицируют, определяя биовар, серовар, фаговар возбудителя.

Для лечения используют антибиотики стрептомицин, левомецетин, тетрациклин, гентамицин.

## 2. Кампилобактериоз

Кампилобактериоз – острая инфекционная болезнь, протекающая с лихорадкой, общей интоксикацией, преимущественным поражением желудочно-кишечного тракта: у новорожденных нередко протекает в виде септического заболевания.

Возбудители кампилобактериоза таксономически находятся вне семейства. Род *Campylobacter* виды: **C.jejuni**, **C.coli**, **C.fetus**. Род *Helicobacter* вид: **H.pilori**

Кампилобактеры являются микроаэрофилами и могут расти в газовой смеси (5-5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>) на специальных средах с добавлением антибиотиков, к которым они не чувствительны.

Не ферментируют углеводы, энергию получают при расщеплении аминокислот.

Обладают оксидазной и каталазной активностью.

Важнейшие поверхностные антигены - липополисахарид и кислоторастворимая белковая фракция. Серологически неоднородны - насчитывают 34 серовара. Жгутиковый антиген - общий для разных видов.

#### **Факторы патогенности:**

- а) специфические поверхностные макромолекулярные адгезины - на поверхности клетки и в жгутиках;
- б) жгутики, способствующие колонизации;
- в) энтероинвазивная активность (способность к внутриклеточному размножению), о чём свидетельствует кровь и слизь в фекалиях больного;
- г) токсины: эндотоксин, энтеротоксин, цитотоксин. Энтеротоксин имеет антигенное родство с холерным токсином и LT эшерихии.

**Источник инфекции** - различные животные и птицы (кролики, свиньи, крупный рогатый скот, кошки, утки, мышевидные грызуны и др.) Заражение в основном происходит через загрязнённую воду и продукты. Возможно заражение от больных людей, например, инфицирование у новорожденных детей, и внутриутробное заражение плода.

Патогенные виды рода *Campylobacter* вызывают энтероколиты, энтериты. *Helicobacter pilori* вызывает заболевание по типу гастрита и способствует развитию язвенной болезни.

Гипотеза механизма развития гастритов и язвенной болезни: возбудитель локализуется в толще слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки. Выделяемая им уреазой расщепляет мочевины до аммиака, который повреждает слизистую желудка и дуоденум.

Клинические формы болезни: гастроинтестинальная, генерализованная (септическая), хроническая, субклиническая. Заболевание чаще встречается у детей первого года жизни.

**Основной метод лабораторной диагностики - бактериологический**

Исследуемый материал (испражнения, кровь, ликвор, гной и др.) помещают в транспортную среду и направляют в бактериологическую лабораторию, где проводится предвари-

тельный этап – посев на среды обогащения (нагретый бульон Престона, куда добавлен сульфат железа, метабисульфит натрия, пируват натрия). Посевы инкубируются в газовой смеси при 42°C

Первый этап (посев после обогащения или непосредственно исходного материала) на чашки с селективными средами с добавлением антибиотиков – ванкомицина, полимиксина В и т.п.

Второй этап – изучение выросших колоний и выделение чистой культуры.

Третий этап: идентификация (фазово-контрастная микроскопия, биохимическое тестирование, серологическая идентификация – определение серовара).

Биопроба: на бестимусных мышках, заражение куриных эмбрионов, культуры клеток HeLa.

Лечение: антибиотики эритромицин, гентамицин, тетрациклин, нитрофураны.



## Задания для самостоятельной работы студентов

### Работа в аудитории.

**Задание №1.** Закрепить знания о морфологических, тинкториальных, биохимических и антигенных свойствах сальмонелл и использовать их для целей дифференциации сальмонелл.

1. Перечислите наиболее распространённые виды сальмонелл, вызывающие пищевые токсикоинфекции у людей.
2. Знания о морфологических, тинкториальных, биохимических свойствах сальмонелл используются для дифференциации сальмонелл, эшерихий (ЭПЭ), шигелл. Какие из этих свойств являются наиболее надёжными и почему?
3. Укажите, по каким биохимическим тестам можно дифференцировать сальмонеллы от других энтеробактерий: *Escherichia*, *Shigella*, *Proteus*, *Yersinia*. Составьте таблицу и сравните с сальмонеллами.
4. Перечислите антигены, входящие в состав сальмонелл, их химическую природу и локализацию.

### **Задание №2**

1. Бактериологическое исследование при сальмонеллёзной пищевой токсикоинфекции проводят с целью ..... (выберите цель и объясните почему):

- 1) выбора лечебных препаратов,
- 2) подтверждение клинического диагноза,

- 3) определения патогенеза заболевания,
- 4) установления источника заболевания и путей передачи,
- 5) проведения специфической профилактики,
- 6) выявления бактерионосителей,
- 7) проведение противоэпидемических мероприятий.

2. Для бактериологического исследования сальмонеллёзной пищевой токсикоинфекции могут быть использованы среды: среда Мюллера, селенитовая среда, среды Плоскирева, Левина, Эндо, Ресселя. Укажите, с какой целью используется каждая из перечисленных сред и как растут на них сальмонеллы. Ответы внесите в таблицу:

Питательная среда	Цель посева	Характер роста сальмонелл
-------------------	-------------	---------------------------

3. Укажите биохимические тесты, с помощью которых выделенную культуру можно отнести к роду сальмонелла и заполните таблицу (См. Демонстрационный ряд сред Гисса):

Признак:	Уреаза	HS	Индол	Цитрат	Глюкоза	Лактоза	Маннит	Сахароза
Сальмонеллы								

4. В соответствии с классификацией Кауфмана-Уайта назовите монорецепторные сальмонеллёзные адсорбированные сыворотки, используемые при серологической идентификации следующих видов сальмонелл (заполните таблицу):

Виды	Сальмонеллёзные агглютинирующие монорецепторные сыворотки	
	O - сыворотка	H - сыворотка
S.typhimurium S.choleraesuis S.enteritidis S.heidebberg		

Укажите последовательность серологической идентификации выделенной чистой культуры при сальмонеллёзной пищевой токсикоинфекции, брюшном тифе и паратифах А и В на 1 неделе заболевания при помощи монорецепторных адсорбированных сальмонеллёзных О- и Н-сывороток.

5. Для диагностики и профилактики сальмонеллёзных пищевых токсикоинфекций применяются следующие препараты (составьте таблицу):

Название препарата	Способ получения	Состав	Назначение
--------------------	------------------	--------	------------

### Задание №3.

Решите задачу 1:

В бактериологическую лабораторию инфекционного отделения поступили промывные воды желудка и фекалии трёх больных с диагнозом "Острый гастроэнтерит", а также остатки варёной говядины, которую употребляли больные накануне. Все они члены одной семьи. Заболевание началось остро, появился жидкий стул, тошнота, рвота, отмечалось повышение температуры.

Задание	Ответы
1. Назовите микроорганизмы семейства энтеробактерий, которые могли вызвать данное заболевание.	
2. Опишите цель исследования и этапы бактериологического исследования присланных в лабораторию проб, если предполагается сальмонеллёзная этиология этих токсикоинфекций.	
3. Объясните, как проводится серологическая идентификация выделенной чистой культуры, если она относится к роду сальмонелл.	
4. Как могли быть инфицированы члены этой семьи микроорганизмами семейства энтеробактерий?	

Решите задачу 2:

Несколько рабочих завода обедали в заводской столовой. К обеду заказали котлеты из свиного мяса. Через 10 часов у них появились признаки острого гастроэнтерита: тошнота, рвота, боли в животе, частый жидкий стул, повышение тем-

пературы до 38°. Двое из них в тяжёлом состоянии госпитализированы в инфекционное отделение.

- 1) Какие микроорганизмы могли вызвать это заболевание?
- 2) Какой исследуемый материал необходимо отправить в баклабораторию?
- 3) Какие методы микробиологической диагностики могут быть использованы для выяснения этиологии острого гастроэнтерита?
- 4) Если при бактериологическом исследовании не удалось выделить культуру микроорганизмов, назовите методы диагностики, с помощью которых можно подтвердить диагноз гастроэнтерита.

#### **Задание №4.**

Решите задачу:

Больная В., 20 лет, поступила в инфекционное отделение с диагнозом "острое пищевое отравление" с жалобами на резкую слабость, озноб, головную боль, тошноту, обильную повторную рвоту, частый жидкий стул. Заболела в день поступления после употребления в пищу торта с заварным кремом. В баклабораторию отправлены рвотные массы, промывные воды желудка и остатки торта. При посеве на питательные среды из всех образцов доставленного материала выделены стафилококки.

1. Опишите: питательные среды, этапы исследования, особенности идентификации патогенных стафилококков.
2. С помощью каких исследований можно доказать, что выделенные из исследованных материалов стафилококки являются возбудителями острого гастроэнтерита.

#### **Задание №5.**

Решите задачи.

1. При исследовании испражнений больного с симптомами энтероколита возбудитель выделить не удалось: результаты бактериологического исследования на патогенные энтеробактерии оказались отрицательными. Врач заподозрил кампилобактериоз.
  1. Выберите метод лабораторной диагностики кампилобактериоза, перечислите этапы выбранного вами метода, условия культивирования, сроки получения ответа.
  2. Возможна ли постановка диагноза при помощи серологического метода, в какие сроки?

2. У больного с симптомами гастроэнтерита, сопровождающегося болями в суставах врач поставил диагноз "иерсиниоз".
1. Выберите метод лабораторной диагностики.
  2. Перечислите этапы метода.
  3. Каковы условия культивирования и дифференциальные признаки иерсиний?

**Тесты для самоподготовки к зачёту по теме  
«Возбудители бактериальных кишечных инфекций»**

**I. Выберите один или несколько правильных ответов**

1. Охарактеризуйте представителей семейства кишечных бактерий:
  1. Грамотрицательные палочки
  2. Не образуют спор
  3. Факультативные анаэробы
  4. Образуют споры.
2. Значение кишечной палочки для организма человека:
  1. Является антагонистом патогенной и гнилостной флоры
  2. Частично расщепляет клетчатку
  3. Участвует в синтезе витаминов
  4. Вызывает патологические процессы различной локализации.
3. По каким свойствам отличаются диареегенные кишечные палочки от кишечной палочки нормальной микрофлоры:
  1. По способности расщеплять лактозу
  2. По антигенной структуре
  3. По чувствительности к специфическим бактериофагам
  4. По наличию плазмид вирулентности.
4. Назовите возбудителя кишечного эшерихиоза:
  1. Кишечные палочки нормальной микрофлоры
  2. Шигеллы
  3. Сальмонеллы
  4. Диареегенные кишечные палочки.
5. Назовите методы микробиологической диагностики колиэнтерита:
  1. Бактериоскопический
  2. Биологический
  3. Серологический
  4. Бактериологический.
6. Для каких целей используют эшерихиозную поливалентную ОК-сыворотку:

1. Для профилактики инфекции
  2. Для определения противозышерихиозных антител в сыворотке больного
  3. Для лечения
  4. Для идентификации дизерогенных кишечных палочек.
7. Укажите пути передачи брюшного тифа:
1. Алиментарный
  2. Водный
  3. Контактнo-бытовой
  4. Трансмиссивный.
8. Какие методы используют для микробиологической диагностики брюшного тифа:
1. Бактериологический
  2. Бактериоскопический
  3. Серологический
  4. Биологический
9. Цель применения брюшнотифозного (ОН) диагностикума:
1. Лечение брюшного тифа
  2. Идентификация выделенной чистой культуры
  3. Профилактика брюшного тифа
  4. Серологический метод исследования
10. Препараты для специфической профилактики брюшного тифа
1. Химическая вакцина
  2. Спиртовая вакцина
  3. Бактериофаг
  4. Анатоксин
11. Какие диагностические препараты используют для определения рода сальмонелл:
1. Сальмонеллезный О-диагностикум
  2. Поливалентная эшерихиозная сыворотка
  3. Сальмонеллезный Vi-диагностикум
  4. Поливалентная сальмонеллезная сыворотка
12. Пути передачи дизентерии:
1. Пищевой
  2. Водный
  3. Контактнo-бытовой
  4. Трансмиссивный
13. Таксономическое положение возбудителя дизентерии:
1. Отдел *Gracilicutes*
  2. отдел *Firmicutes*
  3. Семейство *Enterobacteriaceae*
  4. Семейство *Vibrionaceae*
14. Охарактеризуйте возбудителя шигеллеза:
1. Лактозотрицательны
  2. Подвижны

3. *Продуцируют токсин Шига и шига-подобные экзотоксины*
4. *Образуют капсулу*
15. Какие среды используют для выделения и идентификации возбудителя шигеллеза:
  1. *Плоскирева*
  2. *Щелочная пептонная вода*
  3. *Гисса*
  4. *Желточно-солевой агар*
16. Таксономическое положение возбудителя холеры:
  1. *Отдел Gracilicutes*
  2. *отдел Firmicutes*
  3. *Семейство Enterobacteriaceae*
  4. *Семейство Vibrionaceae*
17. Факторы патогенности холерного вибриона
  1. *Эндотоксин*
  2. *Экзотоксин*
  3. *Ферменты агрессии*
  4. *Капсулы*
18. Пути передачи холеры
  1. *Водный*
  2. *Алиментарный*
  3. *Контактно-бытовой*
  4. *Трансмиссивный*
19. Методы микробиологической диагностики холеры:
  1. *Бактериоскопический*
  2. *Бактериологический*
  3. *Биологический*
  4. *Серологический*
20. Материал для исследования при холере:
  1. *Испражнения*
  2. *Кровь*
  3. *Рвотные массы*
  4. *Сыворотка крови*
21. Какие селективные среды используют для накопления холерного вибриона:
  1. *Сахарный бульон*
  2. *Желчный бульон*
  3. *Печеночный бульон*
  4. *Щелочная пептонная вода*
22. Препараты специфической профилактики холеры:
  1. *Убитая вакцина*
  2. *Антитоксическая сыворотка*
  3. *Комбинированная вакцина*
  4. *Живая вакцина*
23. Энтеробактерии окрашиваются по Граму:

- а) *положительно*
  - б) *отрицательно*
24. Форма клеток у энтеробактерий:
- а) *палочковидная*
  - б) *кокковидная*
  - в) *спиралевидная*
25. Энтеробактерии могут образовывать:
- а) *споры*
  - б) *капсулы*
26. У энтеробактерий тип дыхания:
- а) *аэробный*
  - б) *анаэробный*
  - в) *факультативно анаэробный*
27. Для энтеробактерий характерным признаком является утилизация:
- а) *глюкозы*
  - б) *лактозы*
  - в) *сахарозы*
28. Семейство энтеробактерий разделено на следующие основные таксономические группы
- 1) *трибы*
  - 2) *роды*
  - 3) *виды*
  - 4) *биовары*
29. Для серологической идентификации энтеробактерий имеют значение:
- а) *O-антиген*
  - б) *K-антиген*
  - в) *H-антиген*
  - г) *все перечисленные антигены*
30. O-антиген энтеробактерий представляет собой:
- а) *липид*
  - б) *полисахарид*
  - в) *протеин*
  - г) *липополисахаридопротеиновый комплекс*
31. Общими для представителей семейства энтеробактерий являются:
- а) *Соттон-антиген*
  - б) *O-антиген*
  - в) *фимбриальный антиген*
32. У энтеробактерий встречаются:
- а) *плазмиды патогенности*
  - б) *метаболические плазмиды*
  - в) *плазмиды резистентности*
  - г) *все перечисленные плазмиды*

33. У энтеробактерий, вызывающих ОКИ, должны быть
- а) плазмиды адгезивности
  - б) энтеротоксигенная плазида
  - в) плазида колициногенности
34. В семействе энтеробактерий типовым является род:
- а) эшерихий
  - б) энтеробактера
  - в) сальмонелл
  - г) шигелл
35. Эшерихиозами называют
- а) ОКИ, вызванные эшерихиями
  - б) все заболевания, вызванные эшерихиями
36. Для первичного выделения эшерихий из фекалий не применяют:
- а) кровяной агар
  - б) среду Эндо
  - в) среду Левина
  - г) среду Плоскирева
37. Можно ли с помощью серологических реакций отдифференцировать патогенные эшерихии от банальных?
- а) да
  - б) нет
38. Механизм патогенности энтерогеморрагических эшерихий заключается
- а) в выработке термолабильного и термостабильного энтеротоксина
  - б) в способности к инвазии
  - в) в выработке токсина Шига
39. Кровь от больного с подозрением на сальмонеллез следует сеять
- а) на пластинчатые среды
  - б) на желчный бульон
  - в) на селетинный бульон
40. У носителей сальмонелл образуются иммуноглобулины класса
- а) IgA
  - б) IgM
  - в) IgG
41. После посева материала на иерсинии среда накопления становится
- а) в термостат при  $+20^{\circ}\text{C}$
  - б) в термостат при  $+37^{\circ}\text{C}$
  - в) в термостат при  $+3, +5^{\circ}\text{C}$
  - г) в термостат при  $+10, +12^{\circ}\text{C}$
42. Внутрибольничный штамм энтеробактерий обладает следующими свойствами

- а) полирезистентностью к антибиотикам
  - б) высокой вирулентностью
  - в) полиагглютинабельностью
43. Дисбактериозом кишечника называют:
- а) количественные и качественные изменения кишечной палочки в кишечнике
  - б) количественные и качественные изменения собственной микрофлоры кишечника
44. В кишечнике практически здоровых людей должны преобладать микроорганизмы
- а) анаэробные
  - б) аэробные
  - в) микроаэрофильные
  - г) факультативно-анаэробные
45. Для грудных детей наиболее физиологичны бифидобактерии вида
- а) *B.bifidum*
  - б) *B.adolescentis*
  - в) *B.longum*
46. Для этиотропной терапии кишечных инфекций применяют
- а) антибиотики
  - б) сульфаниламиды
  - в) нитрофурановые препараты
  - г) бактериофаги, сыворотки, иммуноглобулины
  - д) все перечисленное

## II.

1. Под номерами 1 - 4 укажите правильную последовательность действий при бактериологической диагностике колиэнтерита:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

- а. Идентификация выделенной чистой культуры
- б. Определение чувствительности к антибиотикам
- в. Отбор лактозонегативных колоний, дающих агглютинацию с поливалентной ОК-сывороткой
- г. Посев испражнений на среду Эндо

2. Под номерами 1 - 4 укажите правильную последовательность действий при бактериологической диагностике брюшного тифа:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

- а. Посев крови на желчный бульон

- б. Пересев лактозонегативных колоний на скошенный агар*
- в. Идентификация выделенной чистой культуры*
- г. Пересев с желчного бульона на среду Эндо, Левина, Плоскирева.*

3. Под номерами 1 - 4 укажите правильную последовательность действий при бактериологической диагностике дизентерии:

- 1.
- 2.
- 3.
- 4.

- а. Идентификация выделенной чистой культуры*
- б. Пересев лактозонегативных колоний на среду Гисса с маннитом и скошенный агар*
- в. Определение чувствительности к антибиотикам*
- г. Посев испражнений на среды Эндо, Левина, Плоскирева.*

**III. Установите, верно ли утверждение 1, верно ли утверждение 2 и есть ли между ними связь.**

1. 1) Для диагностики колиэнтерита используют серологический метод исследования потому, что

- 2) диареегенные кишечные палочки отличаются антигенной структурой

2. 1) На 1-ой неделе заболевания брюшным тифом материалом для бактериологического метода диагностики является кровь потому, что

- 2) на 1-ой неделе заболевания брюшным тифом наблюдается бактеремия.

3. 1) Брюшнотифозный бактериофаг используют для профилактики брюшного тифа потому, что

- 2) брюшнотифозный бактериофаг вызывает лизис сальмонелл

4. 1) Наиболее вирулентным возбудителем шигеллезов является *S.dysenteriae* серовар 1 потому, что

- 2) *S.dysenteriae* не утилизирует маннит.

5. 1) Заболевание холерой сопровождается обезвоживанием организма потому, что

- 2) возбудитель холеры продуцирует холероген.

6. 1) Препараты для специфической профилактики холеры малоэффективны потому, что

- 2) после перенесенной холеры вырабатывается нестойкий непродолжительный иммунитет.

**IV. Составьте логические пары: вопрос - ответ**

1. Возбудитель брюшного тифа

2. Возбудитель дизентерии
  - А. *E.coli*
  - Б. *V.abortus*
  - В. *S.typhi*
  - Г. *S.flexneri*
3. Грамотрицательная палочка
4. Имеет жгутики
5. Неподвижны
6. Образуют споры
  - А. Шигеллы
  - Б. Сальмонеллы
  - В. Оба
  - Г. Ни то, ни другое
7. Сальмонеллы
8. Шигеллы
  - А. Только прикрепляются к поверхности эпителия тонкого кишечника
  - Б. Размножаются в лимфатических образованиях тонкого кишечника
  - В. Проникают, размножаются в эпителии толстой кишки
9. Шигеллы
10. Холерный вибрион
  - А. Размножаются в лимфатических образованиях тонкого кишечника
  - Б. Только прикрепляются к поверхности эпителия тонкого кишечника
  - В. Проникают, размножаются и разрушают эпителий толстого кишечника
11. *V. cholerae*
12. *S. sonnei*
  - А. Обладает психрофильностью
  - Б. Поражает эпителий толстого кишечника
  - В. Вызывает обезвоживание организма.

**Ответы к тестам:**

**I.**

1. 1 2 3
2. 1 2 3 4
3. 2 4
4. 4
5. 4
6. 4
7. 2
8. 1 3

- 9. 4
- 10. 2 3
- 11. 4
- 12. 1 2
- 13. 1 3
- 14. 1 3
- 15. 1
- 16. 1 3
- 17. 1 2
- 18. 1
- 19. 2
- 20. 1
- 21. 4
- 22. 3
- 23. б
- 24. а
- 25. б
- 26. в
- 27. а
- 28. 2 3
- 29. г
- 30. б
- 31. б
- 32. г
- 33. б
- 34. а
- 35. а
- 36. а
- 37. а
- 38. а
- 39. б
- 40. в
- 41. а
- 42. а
- 43. б
- 44. а
- 45. а
- 46. а

**II.**

- 1.1г 2в 3а 4б
- 2.1а 2г 3б 4в
- 3.1г 2б 3а 4в

**III.**

- 1. - + СВЯЗЬ-
- 2. + + СВЯЗЬ+

3. + + СВЯЗЬ+

4. + - СВЯЗЬ-

5. + + СВЯЗЬ+

6. - - СВЯЗЬ+

#### **IV.**

1-В 2-Г 3-В 4-Б 5-А 6-Г 7-Б 8-В 9-В 10-Б 11-В 12-Б

#### **Литература :**

1. Бойченко М.Н. Микробиологическая диагностика бактериальных инфекций (учебное пособие). Москва, 1999, 125с.
2. Справочник практического врача. Бактерийные, сывороточные и вирусные лечебно-профилактические -препараты. Аллергены. Дезинфекционно-стерилизационные режимы поликлиник. Под. Ред. Н.А.Озерецкого. С-Пб., 1998, 500с.
3. Медицинская микробиология. Под ред. В.И. Покровского. Москва, 1998, 650с.
4. Микробиологическая диагностика инфекционных заболеваний (методические рекомендации). Под ред. Е.П. Красножёнова. Томск, 1999, 68 с.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии. Под ред. О.В. Бухарина, Москва, 2002, 340 с.

