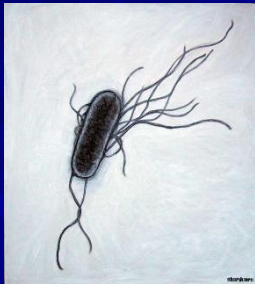


Энтеробактерии.
Эшерихии,
шигеллы,
сальмонеллы

Зав. кафедрой
д.м.н., профессор
Г.И.Чубенко



Общая характеристика энтеробактерий

Семейства энтеробактерий:

- небольшие, грамотрицательные, неспороносные палочки, подвижные или неподвижные, способны образовывать капсулу.
- Обладают свойством полиморфизма.
- Факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, обладают дыхательным и бродильным типами метаболизма



- Хорошо растут на простых питательных средах, при температуре +37 °С.
- Метаболически активны. Быстро ферментируют глюкозу с образованием кислоты или кислоты и газа.
- Оксидазо-отрицательны, каталазо-положительны,
- Восстанавливают нитраты до нитритов.



Способны вызывать:

заболевания желудочно-кишечного тракта, инфекции мочевыводящих, дыхательных путей, оппортунистические инфекции, а также раневые, внутрибольничные, гнойно-воспалительные заболевания.

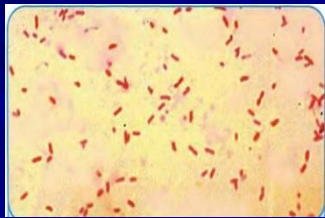
Группы бактерий	Роды представители семейства	Основные заболевания
Сальмонеллы	<i>Salmonella typhi</i>	Брюшной тиф
	<i>Salmonella paratyphi A,B,C</i>	паратиф
	<i>Salmonella enteritidis</i> и др.	сальмонеллез
Шигеллы	<i>Shigella species</i>	дизентерия
Иерсинии	<i>Yersinia pestis</i>	чума
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	кишечный иерсиниоз
	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	псевдотуберкулез
Условно-патогенные энтеробактерии	<i>Escherichia, Proteus, Klebsiella, Citrobacter, Enterobacter, Hafnia, Erwinia, Providencia, Serratia</i> и др.	Гнойно-воспалительные заболевания

Патогенные эшерихии

Род *Escherichia*

- *E. blattae*
- *E. fergusonii*
- *E. hermanii*
- *E. vulneris*

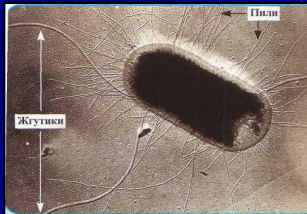
- *E. coli*



Морфология

прямые палочки размером
от 2 до 6 мкм.

В мазках располагаются одиночно или парами, в старых культурах могут выглядеть как коккобактерии. Имеют пили, могут быть как подвижны, так и неподвижны.



Антигенная структура

Кишечные палочки различают по структуре поверхностных АГ.

Выделяют:

- О- соматический (липополисахаридный),
- Н- жгутиковый,
- СФА- антиген колонизации

Ведущим является тестирование по О-АГ.



O-АГ

- Термостабилен;
- Липополисахарид;
- Более 173 разновидностей (O1, O2, ...);

Факторный состав:

- ‘а’ - общий фактор;
- ‘в’, ‘с’... - дополнительные
(O111 ав, O111ас, O128а, O128 ав, 128ас)



H - антиген

- жгутиковый антиген, белковый;
- Термолабильный, 56 разновидностей (H1, H2...);

Свежевыделенные штаммы обычно слабо подвижны и обладают малым количеством H-антигена.

SFA- антиген колонизации белковой природы, связан с фимбриями



Классификация патогенных КП

по Аг свойствам и клиническим проявлениям вызываемых ими заболеваний

Энтеропатогенные (ЭПКП)	20	O55; O111; O119; O127; O128
Энтеротоксигенные (ЭТКП)	70	O6; O78; O153
Энтероинвазивные (ЭИКП)	8	O28; O112; O124; O136
Энтерогеморрагические (ЭГКП)	5	O157:H7; O26; O111; O145
Энтероаггрегирующие (ЭАКП)	7	O15; O44
Диффузноадгезирующие	2	O77, O86

Культуральные свойства

Хорошо растут на простых питательных средах, рН 7,0-7,4.

На плотных средах образуют плоские, выпуклые колонии, чаще S-формы серо-белого цвета.

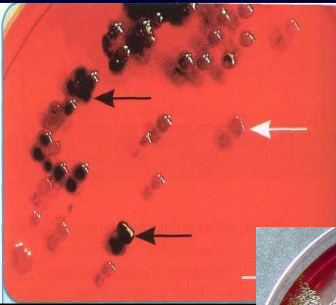
На среде Эндо- яркие малиновые колонии с характерным металлическим блеском.

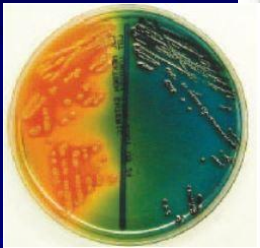
На среде Левина образуют темно-синие колонии с металлическим блеском,

на среде Плоскирева- бледно розовые.

На кровяном агаре могут образовывать зоны гемолиза.

В МПБ вызывают помутнение среды с образованием осадка.





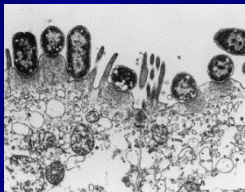
Harsh

Escherichia coli
on blood agar

Факторы вирулентности

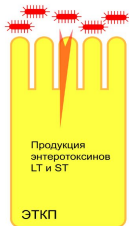
ЭПКП-
энтеропато-
генные

Белок адгезин и белок интимин
наружной мембраны - разрушают
микроворсинки и апикальную
часть клеток, эндотоксин.
Поражение тонкой кишки



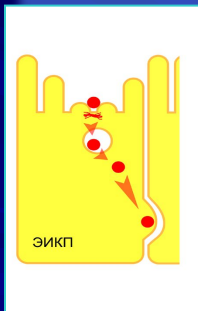
ЭТКП-
энтероток-
сигенные

Пили, факторы колонизации,
термостабильный и термо-
лабильный энтеротоксины
(холероподобный). Поражение
тонкой кишки



ЭИКП-
энтероинвази
вные

Поверхностные белки –
инвазины и цитотоксины.
Поражение толстой кишки



ЭГКП-
энтерогемор-
рагические

Пили, шигаподобные
токсины, веротоксины,
разрушающие эндотелий,
белок интимин. Поражение
толстой кишки

Конденсация
актина и
повреждение
микроворсинок



Продукция
цитотоксинов
VT1 и VT2

ЭГКП

Группы веротоксинов

- веротоксины 1 (VT1, SLT1, Stx1)
- веротоксины 2 (VT2, SLT2, Stx2).

Штаммы EHEC способны продуцировать либо только токсины первой (VT1) или второй группы (VT2), либо обе группы токсинов (VT1) и (VT2) одновременно.

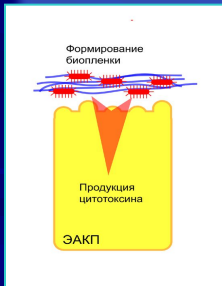


Формы инфекционного процесса, обусловленного ЭГКП

- Носительство
- Неосложненная диарея
- Геморрагический колит
- Гемолитико-уремический синдром
- Тромботическая
тромбоцитопеническая пурпура

ЭАКП-
энтероагреги-
рующие

Агрегационное
прикрепление,
персистенция, цитотоксин.
Поражение тонкой кишки.



03:H2; O15:H18;
O44:H18; O111:H21;
O127:H2;

ДАКП-
диффузионно-
адгезирующие

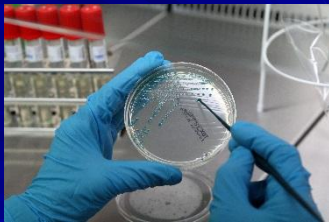
Пили, ЛПС - выработка
провоспалительных
цитокинов, активация
циклооксигеназы 2-
повышение секреции,
развитие воспалительной
реакции. Поражение
толстой кишки

Лабораторная диагностика

осуществляется

бактериологическим методом.

Материал для исследования:
Испражнения, рвотные массы, желчь,
кровь, раневое отделяемое и др.



Escherichia coli

Глюкоза	Лактоза	Мальтоза	Маннит	Сахароза	Петтоновая вода	
					индол	H ₂ S
КГ	КГ	КГ	КГ	-	+	-



Api strip inoculated with *Escherichia coli* - grown 24hr @37°C



БИОМЕД

ОАО "Биомед" им. И. И. Мечникова
143422, Московская обл., Красногорский р-н,
с. Петрово-Дальнее, тел.: (495) 635-45-45,
факс: (495) 630-15-66, www.biomed.ru

**СЫВОРОТКА
ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ
ЭШЕРИХИОЗНАЯ ОК
ПОЛИВАЛЕНТНАЯ
сухая для РА**

ОКВ — 020:K84; 026:K60; 055:K59; 0111:K58

10 ампул по 1 мл

МУК 4.2.992-00 «Методы выделения и идентификации энтерогеморрагической кишечной палочки *E.coli* O157:H7»



Выделение и идентификация ЭГКП

Исследуемый материал засевают на дифференциально-диагностические плотные питательные среды:

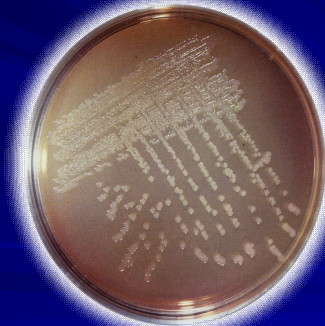
- МакКонки и Левина с антибиотиками: цефотаксимом (25 мкг/мл) и налидиксовой кислотой (4 мкг/мл),
- селективный агар с сорбитолом,
- а также на жидкие питательные среды для выделения и идентификации энтеробактерий



При исследовании классическим способом невозможно дифференцировать ЭГКП по культурально-ферментативным признакам.

Выделение E.coli O157:H7

- Посев на дифференциальную среду с сорбитом

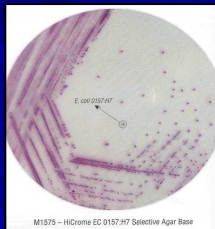


O157:H7 не способна ферментировать сорбитол.

Детальному исследованию на принадлежность к ЭГКП подлежат

- Лактозоположительные и
- Сорбитолотрицательные колонии.

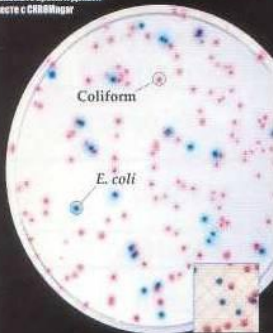
Сорбитол- агар, обладает селективными и дифференциально- диагностическими свойствами в отношении ЭГКП.



M1575 – HiCrome EC 0157:H7 Selective Agar Base

CHROMagar™ ECC

Экономьте время и деньги
вместе с CHROMagar



Пенер Хрисостенска Сгед
CHROMagar

CHROMagar™ O157

Экономьте время и деньги
вместе с CHROMagar



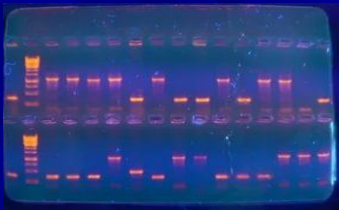
CHROMagar

Экспресс-диагностика

- Автоматизированные системы: API-20E, Enterotube, Laxema или отечественные «микроген» и др.
- ИФА- обнаружение типа энтеротоксина
- ПЦР для обнаружения генов вирулентности.



- РЛА с применением антительной латексной тест-системы для индикации эшерихий (серогруппы O104).
- РОПЛА (реакция обращенной пассивной латексной агглютинации), давшие положительную реакцию агглютинации, изоляты анализируют с помощью мультиплексной ПЦР-тест-системы



Специфическое лечение

биопрепаратами: бифидумбактерин, лактобактерин, коли-протейный бактериофаги др.

Перед их приемом необходимо снижать кислотность желудочного сока
(минерально-гидрокарбонатная вода)

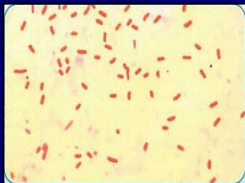


- Лечебные фаги: коли-протейный бактериофаг, колифаг, интести-фаг, сальмонеллезный бактериофаг, дизентерийный и др.
- Препараты для коррекции микрофлоры кишечника: бифидумбактерин форте, пробиформ, бифиформ и др.



Возбудители дизентерии

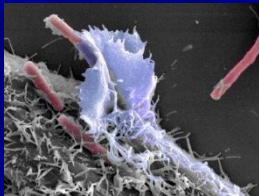
Морфология



Международная классификация шигелл

Подгруппа	Серовар	Подсеровар	Антигенная формула	
			Типовой антиген	Групповые антигены
A. <i>S. dysenteriae</i>	1-12		1-12	
B. <i>S. flexneri</i>	1	1a	I	3,4
		1b	I	3,4,6
	2	2a	II	3,4
		2b	II	7,8
	3	3a	III	6,7,8
		3b	III	3,4,6,7,8
	4	4a	IV	3,4
		4b	IV	(3,4),6
	5	5a	V	(3,4)
		5b	V	7,8
		x-variant	-	7,8
		y-variant	-	3,4
		6		VI
C. <i>S. boydii</i>	1-18		1-18	
D. <i>S. sonnei</i>	-			

- Серовар -шигелла Григорьева-Шига, (ИД- 10 микробных клеток), наиболее патогенен из всех известных дизентерийных микробов.
- *Shigella Flexneri* - менее патогенный возбудитель. Для инфицирования требуется около 100 микробных клеток, но этот вид более устойчив во внешней среде



- *Shigella Sonnei* - самая устойчивая из всех возбудителей дизентерии, размножается в продуктах питания ИД- 10 млн. клеток.



Факторы вирулентности шигелл

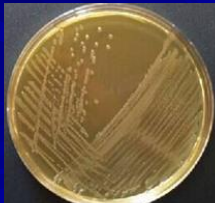
Факторы вирулентности	Биологический эффект
Ipa BCD-инвазины	Ipa (invasion plasmide antigen) Инвазины белки наружной мембраны бактерий, которые прикрепляются к апикальной мембране М-клеток; вызывают лизис мембран эукариотических клеток, обеспечивают внутриклеточное и межклеточное распространение шигелл
Экзотоксин (шигатоксин)	Вызывает повреждение эндотелия, поражение почек с гемолитическим и уремическим синдромом, нарушения водно-солевого обмена и ЦНС
Эндотоксин	Общая интоксикация, усиление перистальтики кишечника

Культуральные свойства

Факультативные анаэробы. Температурный оптимум роста 37 градусов.

На плотных средах образуют гладкие и шероховатые колонии (R-формы), полупрозрачные.

Дифференциально-диагностическим является рост на средах Эндо, Плоскирева, среде Мак-Конки-образуют бесцветные колонии.



Лабораторная диагностика

Бактериологический метод диагностики - :
исследование фекалий с последующим
выделением и идентификацией возбудителя.

Для ускоренной диагностики

- РИФ , ИФА, иммуноадсорбцию

Серологическое исследование-
дополнительное:

- РНГА;
- развернутая реакция агглютинации

Импортные среды

- Слабая селективность
 - MacConkey
 - Eosin methylene blue agar
 - Tergitol- agar
- Средняя селективность
 - Desoxycholate agar
 - Xylose-lisine-desoxycholate agar
- Высокая селективность
 - Salmonella-Shigella agar
 - Hektoen agar



На жидких средах

- S- формы колоний дают равномерное помутнение,
- R-формы- придонный осадок, при этом среда остается прозрачной.

Биохимические свойства

- хемоорганотрофы с дыхательным и ферментативным метаболизмом. Оксидазо-отрицательны, каталазоположительны.
- Углеводы разлагают с образованием кислоты. Не ферментируют лактозу, не образуют сероводорода.
- *Sh. dysenteriae* –не ферментируют маннит,
- Представители серогрупп В,С,Д- маннит-положительны.
- Наиболее биохимически активны *Sh.sonnei*, которые медленно (на 3-4 сутки)сбраживают лактозу

Дифференциация шигелл по биохимическим свойствам

	Ман	Глю (газ)	Лак	Инд	Гли	Орн	Сор	Дул	Кси	Раф
<i>S. dysenteriae</i>	-	-	-	-, +	Х	-	Х	-	Х	-
<i>S. flexneri</i>	1-5	+	-	-, +	-	-	Х	-	-	-
	6	+, -	-, +	-	-	+, (+)	-	Х	Х	Х
<i>S. boudii</i>	+	-	-	-, +	+, (+)	-	Х	Х	Х	-
<i>S. sonnei</i>	+	-	(+)	-	Х	+, (+)	-	-	Х	Х



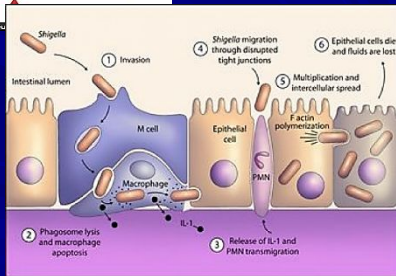
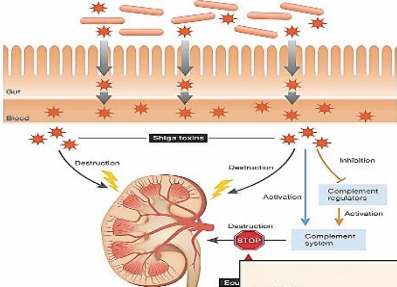
8-28 Characteristic reactions of *Shigella* spp.

Внутривидовое типирование шигелл

- Биотипирование
 - Определение биохимической активности по отношению к отдельным углеводам
- Колициногенотипирование
 - Определение спектра продуцируемых колицинов
- Колицинотипирование
 - Определение спектра колицинов, к которым чувствительна данная культура

Факторы вирулентности шигелл

Факторы вирулентности	Биологический эффект
Ipa BCD-инвазины	Ipa(invasion plasmide antigen)Инвазины белки наружной мембраны бактерий, которые прикрепляются к апикальной мембране М-клеток; вызывают лизис мембран эукариотических клеток, обеспечивают внутриклеточное и межклеточное распространение шигелл
Экзотоксин (шигатоксин)	Вызывает повреждение эндотелия ,поражение почек с гемолитическим и уремическим синдромом, нарушения водно-солевого обмена и ЦНС
Эндотоксин	Общая интоксикация, усиление перистальтики кишечника

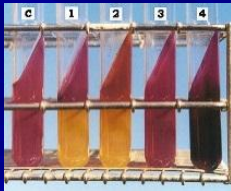


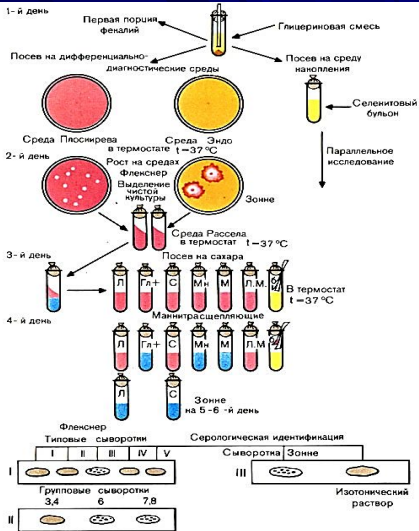
Лабораторная диагностика

Основной метод диагностики -
бактериологический:

исследование фекалий с последующим
выделением и идентификацией возбудителя
по биохимическим и серологическим
свойствам

(в РА с поли- и моновалентными сыворотками и
определением чувствительности к
бактериофагам.

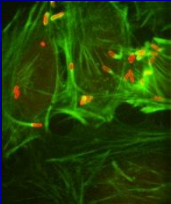




Для ускоренной диагностики

Используют:

- РИФ , ИФА, иммуноадсорбцию
- Серологическое исследование-
дополнительное, когда не удастся выделить культуру возбудителя при наличии клинической картины или в тех случаях когда больной принимал антимикробные препараты.



Серологическая диагностика

- РНГА (диагностический титр 1/200);
- развернутая реакция агглютинации с моновалентными диагностикумами (дизентерийный Видаль). Кровь нужно брать с 5-го дня максимальные титры на 2-й неделе болезни.

Исследование проводится в динамике.



Этиотропная терапия

- нитрофурановыми препаратами (фуразолидон),
- Возможно применение других антимикробных препаратов (триметоприм).

К антибиотикам часто формируется резистентность.

Специфическая терапия

проводится поливалентными
бактериофагами

(в сухом, жидком виде или свечей)



Сальмонеллы

Сем: Enterobacteriaceae

Род: Salmonella

Вид:

- **Salmonella enterica**
 - subsp. choleraesuis
 - subsp. salamae
 - subsp. arizone
 - subsp. diarizonae
 - subsp. houtenae
 - subsp. Indica
- **Salmonella bongori**



Морфология

Сальмонеллы - подвижные, грамотрицательные палочки размером 1-5 мкм, перитрихи, спор и капсул не образуют.

Могут образовывать атипичные, фильтрующиеся L-формы бактерий. В мазках располагаются одиночно, беспорядочно



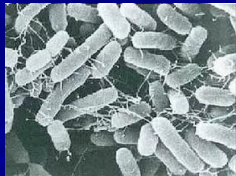
Антигенная структура

- О-антиген (соматический, термостабильный)
Разрушается под действием фенола.
О-АГ состоит из R-ядра и S- полисахаридной цепи. Глубинные АГ клеточной стенки:
Q- и T- белковые, R1 и R2- полисахаридные
- Н-антиген (жгутиковый), белковый, термолабилен, (двухфазный) разрушается при кипячении.
- поверхностные: Vi-антиген - и М-антиген
М-антиген- кислый полисахарид, разрушается кислотой и этанолом, не растворим в воде, слабый антиген.

Vi-антиген обладает иммуногенными свойствами.

В зависимости от его количественной выраженности выделяют V - или W- формы антигена.

- Vi-антиген V- формы - не агглютинируется O-сыворотками
- Vi-антиген W- формы- агглютинируется O-сыворотками



Классификация сальмонелл

предложена в 1934 г Ф.Кауфманом и Уайтом (основана на АГ- свойствах).

- Внутри 6 подвигов сальмонеллы разделены по О-АГ на серологические группы, от 1 до 67 (от А до Z и цифрами).
Групп С (подгруппы С1, С2,С3,С4).
- В состав группы входит до нескольких десятков сероваров сальмонелл.

Таблица 20.3. Серологическая классификация сальмонелл

Серогруппа, вид или серовар	О-антиген	H-антиген	
		фаза 1	фаза 2
Серогруппа А			
<i>S. paratyphi A</i>	1, 2, 12	a	(1, 5)
Серогруппа В			
<i>S. paratyphi</i>	1, 4(5), 12	b	1, 2
<i>S. abony</i>	1, 4(5), 12, 27	b	e, n, x
<i>S. typhimurium</i>	1, 4(5), 12	i	1, 2
<i>S. derby</i>	1, 4(5), 12	fg	(1, 2)
<i>S. wien</i>	1, 4, 12, 27	b	—
<i>S. haifa</i>	1, 4(5), 12	z	1, 2
<i>S. heidelberg</i>	1, 4(5), 12	r	1, 2
Серогруппа С			
<i>S. choleraesuis</i>	6, 7	(c)	1, 5
<i>S. montevideo</i>	6, 7	g, m, (p), S	(1, 2, 7)
<i>S. leopoldville</i>	6, 7	b	z
<i>S. bonn</i>	6, 7	l, v	e, n, x
Серогруппа D			
<i>S. typhi</i>	9, 12	d	—
<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	(1, 7)
<i>S. dublin</i>	1, 9, 12	g, p	—
<i>S. rostock</i>	1, 9, 12	g, p, u	—
<i>S. moscow</i>	9, 12	g, q	—
<i>S. gallinarum</i>	1, 9, 12	s, q	—
Серогруппа E₁			
<i>S. london</i>	3, 10	l, v	1, 6
<i>S. anatum</i>	3, 10	e, h	1, 6
<i>S. amsterdam</i>	3, 10	g, m, s	—
<i>S. zanzibar</i>	3, 10	k	1, 5

По набору специфических Н-АГ сальмонеллы делят на фазы.

- Первая фаза содержит Н-АГ специфичные для данного серовара. Она выделена строчными буквами латинского алфавита.
- Вторая фаза- неспецифическая, обозначают буквами или цифрами.

У большинства сальмонелл обнаруживаются обе фазы Н-АГ. Сальмонеллы имеющие одну из фаз неподвижны.

Биохимические свойства

факультативные анаэробы, расщепляют глюкозу с образованием кислоты или кислоты и газа.

Дифференцируют по отношению к углеводам: манниту, мальтозе, арабинозе, сорбиту.

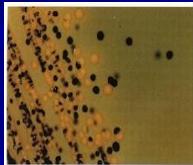
Утилизируют аммиак, образуют сероводород, содержат декарбоксилазы аминокислот: лизин-, орнитин-, аргинин-, оксидазо “-“.



Культивирование сальмонелл

Оптimum роста 35- 37 оС , рН 4,1-9,0.

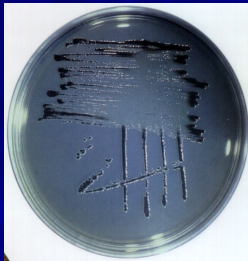
Угнетают рост сальмонелл высокие концентрации соли и сахара. Хорошо растут на средах с добавлением желчи. На висмут-сульфит агаре сальмонеллы образуют черные колонии с характерным металлическим блеском.



Рост сальмонелл на XLD Medium и Hektoen Enteric Agar



XLD MEDIUM,
S. enteritidis



HEKTOEN ENTERIC AGAR,
S. typhimurium

Патогенез тифо-паратифозных заболеваний

- Инкубационный период составляет от 10-14 дней до 3 нед.
- Попадание микроба в рот, возможно внедрение в лимфатические образования глотки с развитием катарального воспаления.
- Далее микробы попадают в желудок, частично гибнут и проходят в тонкую кишку, где есть все благоприятные условия для развития сальмонелл (щелочная среда и др.)

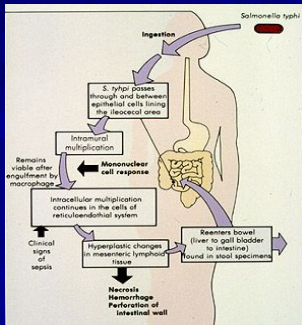
- микробы проникают в лимфатические образования тонкой кишки (пейеровы бляшки), где активно размножаются.
- Микробы накапливаются и лимфогенно проникают в мезентериальные лимфатические узлы.

Все это происходит в инкубационном периоде (от 10-14 дней до 3 недель), клинических проявлений нет.

В результате развивается гиперплазия лимфоузлов, образование гранул с крупными тифозными клетками, а в последующем и других органах.

- Накопление возбудителя и прорыв в ток крови с развитием bacteriemia.

С этого момента появляются клинические признаки заболевания.



- Под действием факторов крови микробы частично погибают и освобождаются эндотоксины.

Эндотоксинемия клинически проявляется симптомами интоксикации, лихорадкой, поражением ЦНС.

Эндотоксины действуют на сосуды приводя к микроциркуляторным нарушениям, перераспределению крови.



- С током крови микроб разносится в различные ткани: поражается печень (наиболее часто), селезенка, костный мозг и кожа.

В этих органах образуются вторичные очаги воспаления и также образуются брюшнотифозные гранулемы.

Из этих очагов и из мест первичной локализации периодически микробы поступают в кровь, поддерживая бактериемию,



- фаза выведения возбудителя из организма. Начинается примерно со 2 недели. Микроб выделяется в окружающую среду через почки, печень и желчевыводящие пути в кишечник.



- Повторно попадая в кишечник, сальмонеллы проникают в ранее сенсibilизированные лимфоидные образования, что приводит к развитию аллергической реакции в тонкой кишке (феномен Артюса).

В кишечнике идет образование язв, возможна перфорация.



Лабораторная диагностика

Бактериологический метод - выделение чистой культуры возбудителя, ее идентификация до вида и последующее определение внутривидовых эпидемиологических маркеров



Лабораторная диагностика

Материал для бактериологического исследования

- кровь
- испражнения,
- моча,
- желчь (дуоденальное содержимое).

Получение гемокультуры и миелокультуры

С этой целью кровь или пунктат костного мозга засевают на среду Рапопорта в соотношении 1:10.

Посевы инкубируют при 37 °С в течение 8 дней, а с учетом выделения L-форм бактерий – до 3-х недель.



Серологические методы диагностики

- Развернутая РА с моновалентными диагностикумами для обнаружения О-АТ и Н-АТ против возбудителя брюшного тифа и паратифов А и В.
- РПГА с эритроцитарным диагностикумом.

Для ускоренной диагностики используют:
реакции ко-агглютинации, РИФ, ИФА, ДНК-зондирование.



Специфическая профилактика

В настоящее время применяется химическая сорбированная брюшнотифозная вакцина (по эпидпоказаниям), спиртовая брюшнотифозная вакцина обогащенная Vi-AГ, брюшнотифозная ви-полисахаридная вакцина S.typhi:

ВИ-АНВАК(Россия) с 3-х лет,

ТИФИМ Ви (Франция) с 5 лет.

Продолжительность поствакцинального иммунитета -3 года.



- Контактным лицам, при опасности возникновения заболевания назначают брюшнотифозный бактериофаг.



- Этиотропная терапия применяют левомецетин (препарат выбора), ампициллин, фторхинолоны и др.

Благодарим за внимание!