

Кишечные бактерии. Сальмонеллы. Шигеллы

Лекция
Скворцовой И.Е.
2019



Возбудители бактериальной дизентерии – группа бактерий, объединенная в род шигеллы.

Роль этих микробов при дизентерии была установлена русским ученым А.В. Григорьевым (1891 год) и японским исследователем Шига (1898 год.)



Шигеллы подразделяются на 4 серогруппы на основании биохимических свойств и структуры соматического полисахаридного О-антигена. Каждая серогруппа соответствует виду: *Sh. dysenteriae* (серогруппа А), *Sh. flexneri* (серогруппа В), *Sh. boydii* (серогруппа С) и *Sh. sonnei* (серогруппа D). Внутри каждой серогруппы шигеллы подразделяются на О-серотипы, кроме *Sh. sonnei* (включает единственный серотип). У *Sh. dysenteriae* и *Sh. boydii* может присутствовать термолабильный К-антиген, маскирующий соматический антиген.



Небольшие нежные палочки размером 2-3 мкм. Грамотрицательные, не образуют спор и капсул. Жгутиков не имеют. факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 37°C и рН 6,8 – 7,2. Колонии на плотных средах полупрозрачные, нежные, по характеру роста не отличаются от колоний сальмонелл.



По биохимическим свойствам отдельные виды возбудителей дизентерии различны. Углеводы они ферментируют с образованием кислоты без газа (за исключением бактерий Ньюкастл). Расщепляют глюкозу и не ферментируют лактозу (кроме шигелл Зоне). По отношению к манниту все шигеллы делят на две группы: маннит-положительные и маннит-отрицательные. Шигеллы редуцируют нитраты в нитриты, не разжижают желатин, не расщепляют мочевины.



Сильный экзотоксин белковой природы, обладающий нейротропным свойством, обнаружен только у шигелл дизентерии Григорьева – Шига.

Остальные возбудители дизентерии содержат термостабильный эндотоксин, представляющий липополисахаридно – протеиновый комплекс.



Возбудители бактериальной дизентерии сохраняются в течение 5 – 10 суток в воде, почве, на различных продуктах и предметах. При низкой температуре остаются жизнеспособными до 2 мес. Температура 60° С убивает их в течение 10 – 20 мин. Под действием 1% карболовой кислоты, хлорамина, хлорной извести шигеллы погибают за 30 мин. Быстро приобретают устойчивость к антибиотикам и сульфаниламидным препаратам.



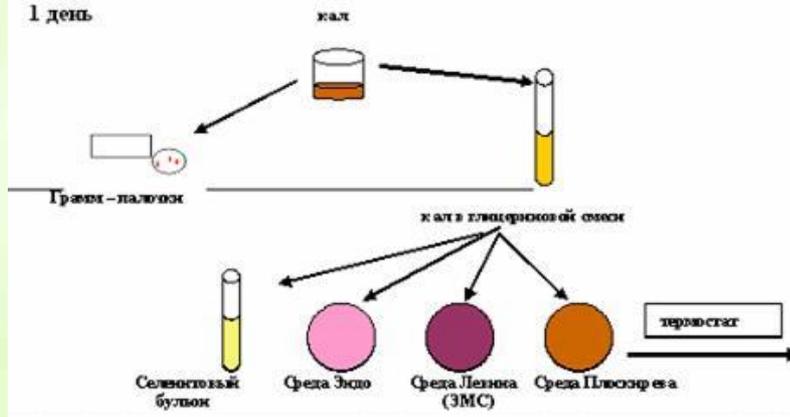


Микробиологические исследования при дизентерии.

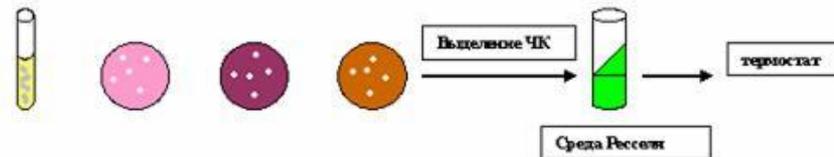


СХЕМА ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ШИГЕЛЛ

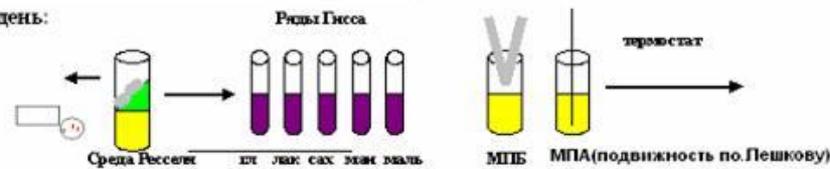
1 день



2 день:



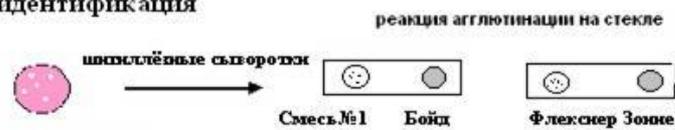
3 день:



4 день: Учет результатов



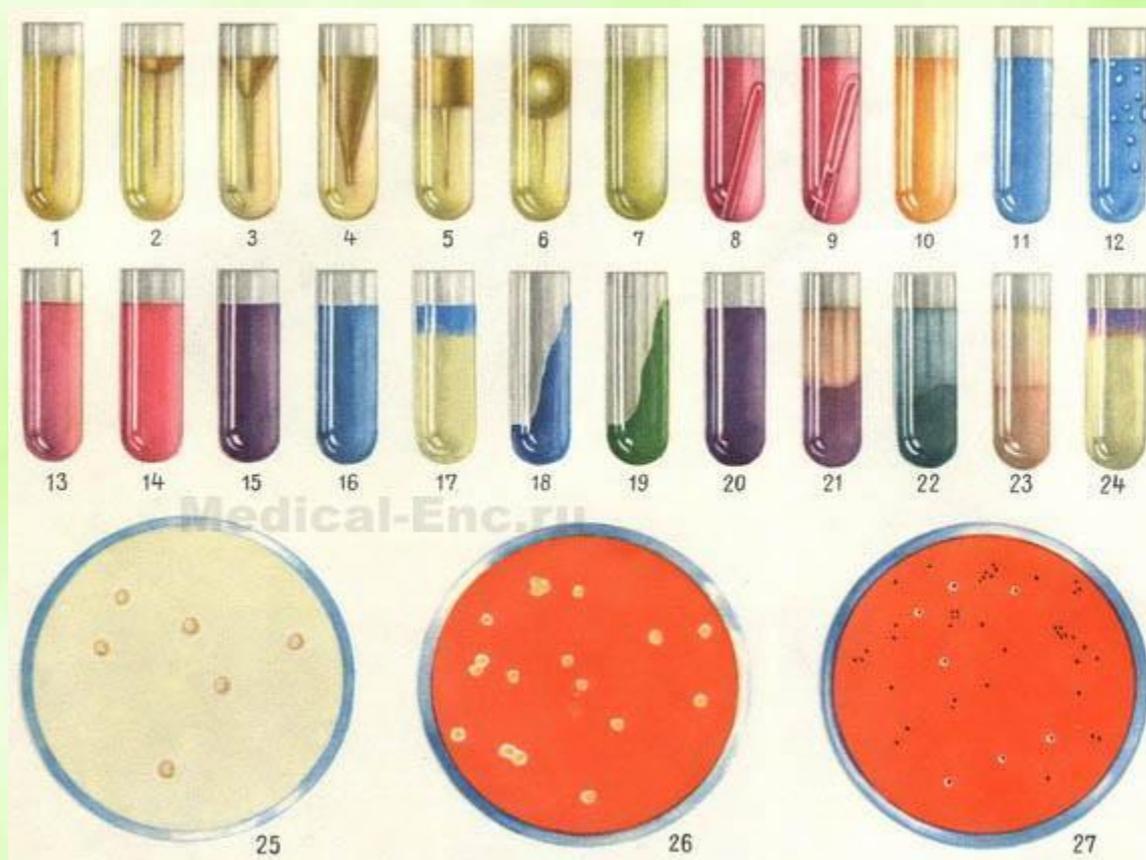
Сероидентификация



ВЫДЕЛЕНА ШИГЕЛЛА ФЛЕКСНЕРА



Пестрый ряд



Биохимические признаки рода *Shigella*

	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella sonnei</i>
Ферментация глюкозы с образованием газа	-	-	-	-
Ферментация лактозы	-	-	-	(+)
Ферментация маннита	-	+	+	+
Ферментация дульцита	-	-	-	(+)
Ферментация ксилозы	-	-	В	В
Образование индола	В	В	В	-
Декарбоксилирование орнитина	-	-	-	+



Сальмонеллы – грамотрицательные короткие палочки с закругленными концами, размером 0,65 – 1 мкм. Подвижны за счет перитрихально расположенных жгутиков. Спор и капсул не образуют. Факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых питательных средах при температуре 20 - 40° С и рН от 5,0 – 8,0. на жидких средах дают равномерное помутнение. На МПА колонии мельче, чем у кишечных палочек, нежные, полупрозрачные. На дифференциально - диагностических средах Эндо, Плоскирева колонии мелкие, бесцветные. Ферментативные свойства постоянны: Не ферментируют лактозу и сахарозу, ферментируют глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа. Сальмонелла тифа, однако, ферментирует их только до кислоты. Большинство сальмонелл белки расщепляет до сероводорода, не образует индола, не разжижает желатин, восстанавливает нитраты в нитриты. Сальмонеллы содержат эндотоксин.



В пыли, во льду, в чистой воде сохраняются до 3 мес. При температуре 70°C гибнут в течение 5 мин, при 100 °C – мгновенно. В соленом и копченом мясе они жизнеспособны 2,5 мес. В молоке могут размножаться. Под действием 1% раствора сулемы, 3 – 5% карболки и хлорамина гибнут за несколько минут.



Антигенная структура и классификация. Типов на основании О- (липополисахарид внешней мембраны) и Н- (жгутикового) антигенов (см. таблицу Кауфмана-Уайта). Капсульные серотипы (*S. typhi*) обладают Vi- антигеном (антиген вирулентности). Наиболее значимыми в клинической практике являются следующие серотипы (серовары): *S. typhi*, *S. paratyphi A*, *S. schottmuelleri* (*S. paratyphi B*) (возбудители брюшного тифа и паратифов), *S. typhimurium*, *S. enteritidis* (возбудители сальмонеллеза)



Этапы исследования.

- *1-й день.* Материал засевают во флаконы с 10-20% желчным бульоном (варианты: среда Рапопорт, селенитовый бульон, магниевая среда, среда Мюллера) для подавления роста сопутствующей микрофлоры.
- *2-й день.* Пересевают на среды Эндо, Плоскирева или висмут-сульфитный агар. На среде Эндо сальмонеллы образуют бесцветные, иногда розоватые прозрачные колонии, на среде Плоскирева – бесцветные, мутноватые. На висмут-сульфит агаре *S. typhi* и *S. paratyphi B* образуют черные колонии с металлическим блеском, окруженные черным ободком (гало), *S. paratyphi A* - коричневато-зеленые колонии.
- *3-й день.* Пересев колоний на скошенный агар со средой Олькеницкого или Ресселя для накопления чистой культуры. Сальмонеллы вызывают изменение только цвета столбика агара (разлагается только глюкоза). Паратифозные бактерии, в отличие от брюшнотифозных, разлагают углеводы с образованием газа, что приводит к разрывам в столбике агара.
- *4-й день.* Идентификация культур, выросших на скошенном агаре. С этой целью проводят агглютинацию на стекле с групповыми и моно- (О и Н) сальмонеллезными сыворотками, что позволяет определить родовую, О-групповую и видовую (по комплексу О- и Н-антигенов) принадлежность возбудителя.



Реакция Видаля ставится в 6-ти рядах пробирок. Каждый ряд включает серию последовательных двукратных разведений сыворотки больного (от 1:50 до 1:600). В последнюю пробирку вносится физиологический раствор (контроль). Затем в пробирки, принадлежащие к одному ряду, вносят О- или Н-диагностикум, содержащий соответственно О- или Н- антигены палочек тифа и паратифов.

Пробирки термостатируют (37°C, 2 ч), затем сутки выдерживают при комнатной температуре. Результат учитывают на следующий день. Отмечают пробирки, где произошла агглютинация. На основании обнаружения антител к О- и Н-антигенам сальмонелл, определяют серотип возбудителя по таблице Кауфмана-Уайта.

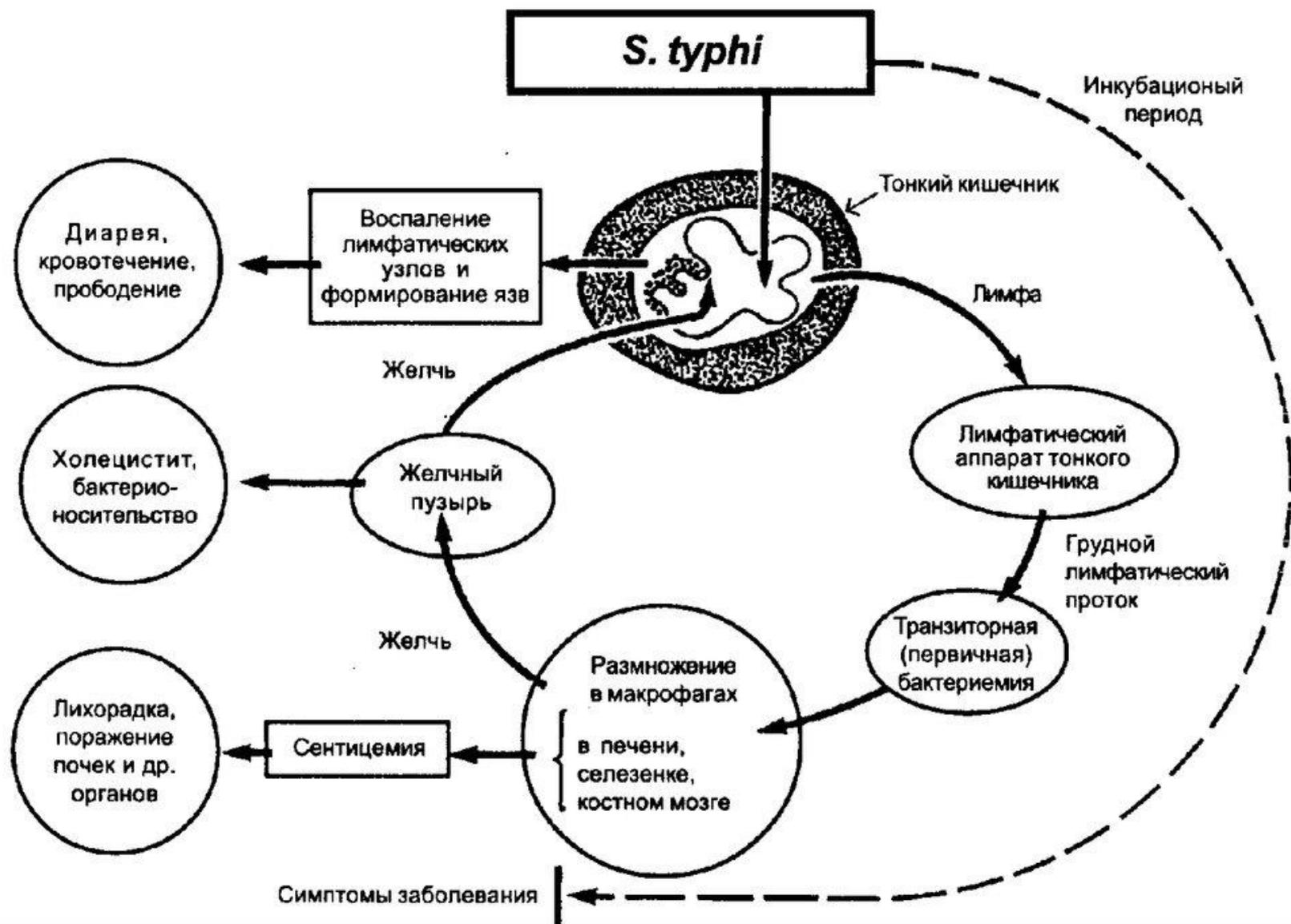


Наличие антигенов

Серогруппа	Серотип	О-антиген	H-антиген	
			фаза 1	фаза 2
A	<i>S. paratyphi A</i>	1,2,12	a	(1,5)
B	<i>S. schottmuelleri (paratyphi B)</i>	1, 4, (5), 12	b	1,2
	<i>S. typhimurium</i>	1, 4, (5), 12	i	1,2
D	<i>S. typhi</i>	9, 12 (Vi)	d	-
	<i>S. enteritidis</i>	1, 9, 12	g, m	(1, 7)



Схема патогенеза брюшного тифа (Taussing M.G., 1984)



Микробиологическое исследование при брюшном тифе и паратифах

Фекалии, ректальные мазки, желчь (со 2-й недели болезни)

Бактериологическое исследование

Экспресс-методы диагностики

Первичный посев на элективные и дифференциально-диагностические среды

Молекулярно-биологические исследования:
ПЦР

Первичный посев материала на плотные элективные среды обогащения (Мюллера, висмут-сульфитный агар, селенитовая и др.) для получения изолированных колоний

Учёт результатов посева

Характер колоний.
Ферментация лактозы.
Образование H_2S .

Серологическая идентификация
Ориентировочная реакция агглютинации с материалом типичных колоний

Пересев типичных колоний на среду Олькеницкого, Ресселя или другие дифференциально-диагностические среды (получение чистой культуры)

Предварительный ответ

Идентификация чистой культуры

По биохимическим признакам:
посев на «пёстрый ряд»

Серотипирование

Фаготипирование

Определение чувствительности к антибиотикам

Окончательный ответ



Висмут-сульфит агар. Черные колонии - сальмонеллы



Домашнее задание

- 1. выучить схему исследования
- 2. виды ДДПС на шигеллы и сальмонеллы
- 3. знать отличия кишечной палочки от сальмонеллы и шигеллы
- 4. роль БГКП в физиологии человека



Будьте здоровы!

