

**Тульский государственный
университет**

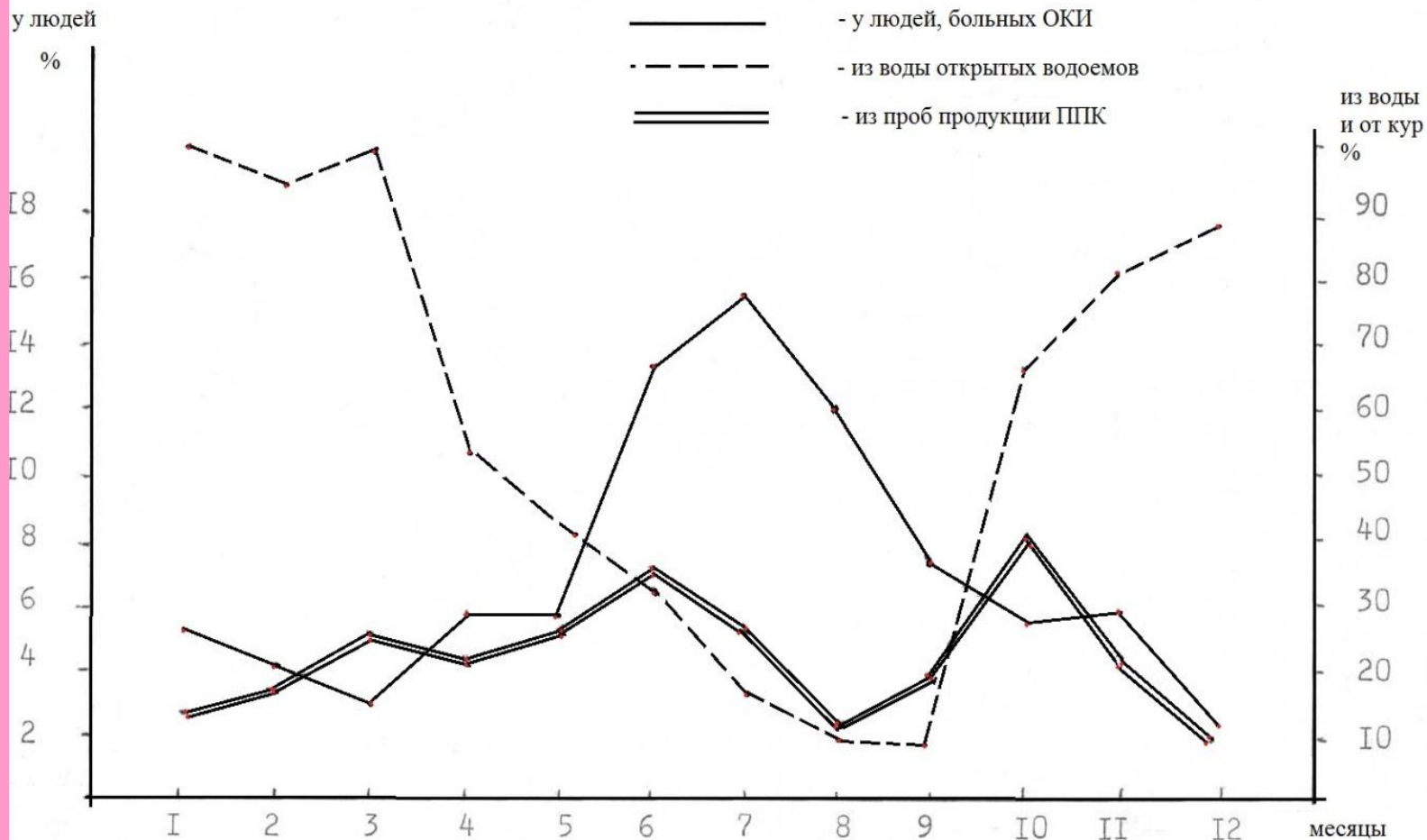
Кампилобактериоз



**Медицинский институт
Лечебный факультет**

- Первое сообщение о выделении кампилобактеров от людей больных ОКЗ появилось в отечественной литературе лишь в 1983 г., когда были описаны двое больных. В предыдущие годы в зарубежной печати появлялись сообщения о выделении кампилобактеров от больных с «диареями путешественников», возвратившихся из поездок по Советскому Союзу и заразившихся во время поездок. Так, А.Рönkä et al. С июля 1978 г. По июнь 1981 г. выявили кампилобактериоз у 63 человек из 524 заболевших ОКЗ, посещавших в качестве туристов СССР и заразившихся во время поездок. Случаи заболеваний КИ туристов, прибывших из СССР, отмечались и в других зарубежных. В настоящее время проблемами кампилобактериоза занимается большинство научно-исследовательских институтов эпидемиологического и микробиологического профиля.

Выделение кампилобактеров из объектов окружающей среды



Систематика бактерий рода *Campilobacter* и их роль в инфекционной патологии человека

- Первоначально кампилобактеры были отнесены к семейству *Vibrionaceae* но морфологически они значительно отличаются от вибрионов. В 1963 г. Был выделен новый род *Campilobacter* семейства *Spirillaceae*. Он включал в себя *Vibrio fetus* и родственные ему микроорганизмы. В соответствии с современной классификацией род *Campilobacter* состоит из двух десятков видов и подвидов бактерий, обнаруженных как у человека, так и животных и птиц. Перечень видов постоянно пополняется новыми, и систематика кампилобактеров, приведенная в последней редакции «Руководства по систематической бактериологии» уже является неполной. Поэтому для повседневной бактериологической практики более удобная рабочая классификация



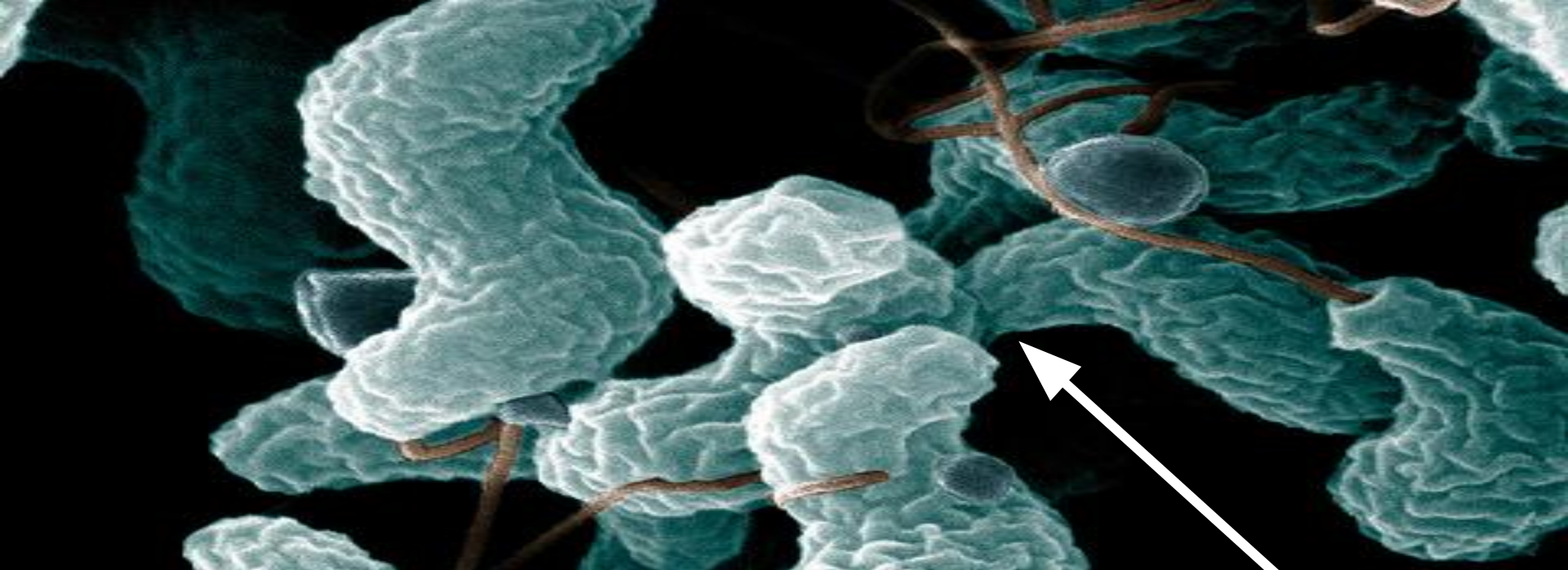
MedUniver.com
Все по медицине...

Рис. 3.107. Мазок из чистой культуры *C. jejuni*. Окраска по Граму.

Кампилобактерии — грамотрицательные извитые бактерии (0,2–0,5 x 0,5–5 мкм), имеющие S-образную форму с одним витком и более. При старении — переходят в кокковидную форму. В мазках из патологического материала часто располагаются попарно в виде «летающей чайки». Капсул не образуют. Подвижны (по одному жгутику на одном или обоих концах). По O- и H-антигенам подразделяются на 60 сероваров. Микроаэрофилы. Факторы вирулентности: эндотоксин, адгезины

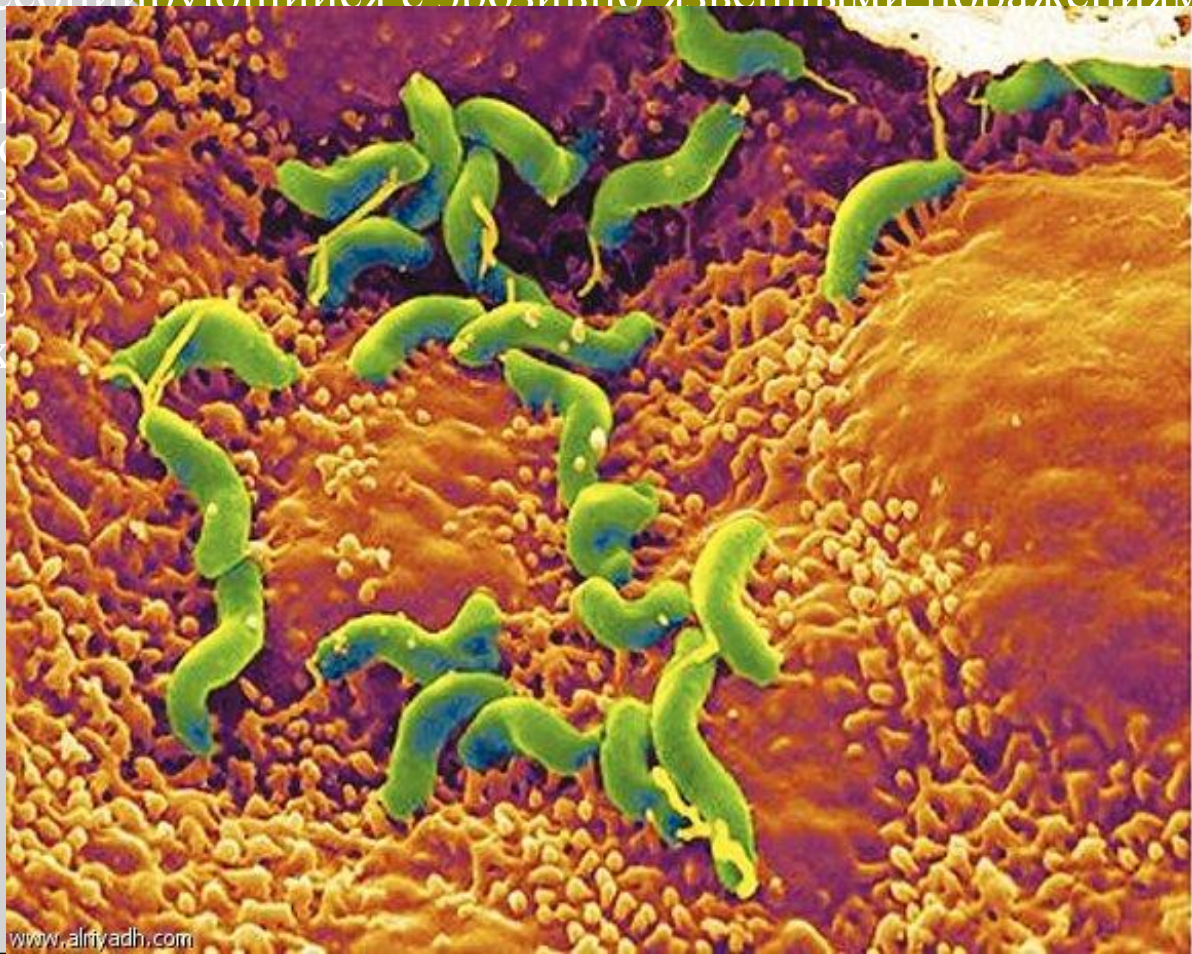
- Наиболее изучены и распространены *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lariidis*, *C. fetus* .
- Первые три из них – термофилы (оптимальная температура их роста – 42 °С), они обычно являются этиологическими агентами диарейных заболеваний. Рядом исследователей доказана также роль термофильных кампилобактеров в возникновении септицемии, менингитов, тромбофлебитов, холециститов, поражения почек и мочевыводящих путей, сердца, легких, печени, нервной системы (полиневриты, парезы, параличи), опорно-двигательного аппарата (артриты, синовиты, бурситы и т.п.). Мезофильный вид кампилобактеров - *C. fetus*, культивируемый при умеренной температуре инкубации (25-37 °С), вызывает, в основном, септические и септико-пиемические формы КИ, в особенности у пожилых и ослабленных людей, страдающих различными хроническими заболеваниями, а также у лиц с иммунодефицитными.

- Вместе с тем, в последние годы появляются сообщения о возрастающей значимости перечисленных видов кампилобактеров в инфекционной патологии человека. Одновременно отмечается интенсивная циркуляция ранее редко встречающихся видов среди животных и птиц и в ООС. Так, при обследовании персонала Алма-Атинской птицефабрики были выявлены случаи здорового носительства персоналом *C. hyointestinalis*, идентичных штаммам, выделенным от кур птицефабрики. Помимо этого, из вод открытых водоемов выделяются штаммы *C. sryaerophila*, что свидетельствует о массивном загрязнении этих вод отбросами животного происхождения.



- По данным различных исследователей, *C. jejuni* обнаруживается в различных объектах значительно чаще, чем другие виды. Исключение составляют дикие птицы, у которых были обнаружены только *C. coli* и *C. lariidis*. Штаммы *C. lariidis* были обнаружены также у людей, больных КИ и из воды открытых водоемов, однако у кур данный вид кампилобактеров ни в одном случае обнаружен не был. Приблизительно каждый четвертый штамм ТК, выделенный от людей, принадлежал к виду *C. coli*. Его резервуаром оказались как домашние, так и экзотические животные и сельскохозяйственные птицы (куры, цесарки).

- До недавнего времени в состав рода **Campilobacter** был включен вид **C.pylori**, ассоциирующийся с эрозивно-язвенными поражениями желудка и двенадцатиперстной кишки. Это открытие позволило сформировать представление о том, что **C.pylori** представляет собой патогенный микроорганизм. Однако тщательные исследования показали, что **C.pylori** является представителем нормальной микрофлоры желудка и двенадцатиперстной кишки. Выделение их из желудка и двенадцатиперстной кишки у здоровых людей не является патологией.



- Возможно, в связи с выявлением ранее неизвестных биологических свойств у представителей рода *Campilobacter*, требующих выделения новых самостоятельных видов и подвигов бактерий, предстоят дополнительные изменения в систематике этого рода

катализа +

"Термофильная группа"

(*C.fetus* spp.jejuni)

C.jejuni

C.coli

C.laridis

C.fetus

Spp.fetus (spp. intestinalis)

Spp.venerealis (spp.fetus)

C.fecalis

C. hyointestinalis

C.cryaerophila

- "Аэротолерантный кампилобактер"

Type 1

CLO

Type 2

Type 3

C. cinaedi

C.fennelliae

катализа -

C.sputorum

Spp.sputorum

Spp.bubulus

Spp.mucosalis

C.conciscus

C.upsaliensis

- Так, существует мнение о необходимости образования отдельного класса Proteobacteria и включении в него рода Campilobacter, Arcobacter, Helicobacter, Wolinella, Flexispira.
 - Для родов Campilobacter и Arcobacter, образующих генотипически и фенотипически отдельную группу предпочтительнее название Campilobacteriaceae.
- Таким образом, род Campilobacter включает в себя довольно разнообразную группу бактерий, играющих весьма значительную роль в патологии человека и животных.



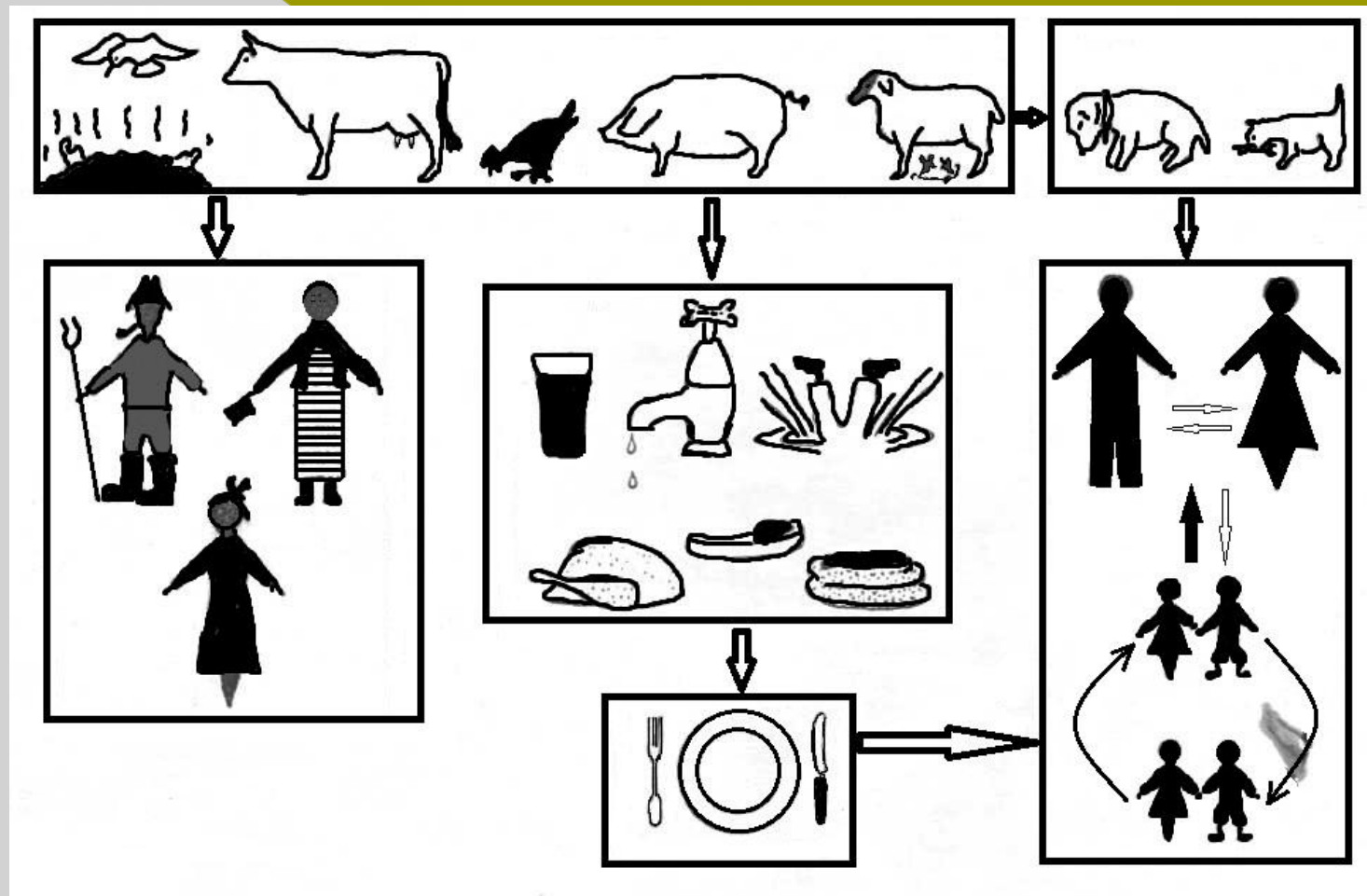
Экология и эпидемиология возбудителей кампилобактериоза

<i>Вид кампило-бактеров</i>	<i>Экологическая ниша</i>	<i>Пути</i>		<i>Объекты неживой среды, в которой могут быть обнаружены кампилобактеры</i>
		<i>эмиграции из живой среды в неживую</i>	<i>эмиграции из неживой среды в живую</i>	
<i>C. jejuni</i> <i>C. coli</i> <i>C. laridis</i>	Желудочно-кишечный тракт человека, животных и птиц	Фекалии, помет, рвотные массы	Корм, пища, использование инфицированных предметов	Предметы обихода, вода, продукты
<i>C. fetus</i>	Желудочно-кишечный тракт, репродуктивные органы животных, реже человека	Слюна, фекалии, рвотные массы, выделения половых органов	Корм, пища, контакт с инфицированными предметами	Корм, трава, почва, вода, продукты, предметы обихода

<i>Вид кампило-бактеров</i>	<i>Экологическая ниша</i>	<i>Пути</i>		<i>Объекты неживой среды, в которой могут быть обнаружены кампилобактеры</i>
		<i>эмиграции из живой среды в неживую</i>	<i>эмиграции из неживой среды в живую</i>	
<i>C. sputorum</i>	Овцы, КРС, свиньи	—“—	—“—	—“—
<i>C. concisus</i>	Ротовая полость человека	Слюна, рвотные массы	Контакт инфицированными предметами, пища	с Продукты, предметы обихода

<i>C. hyointestinalis</i>	Пищеварительный тракт человека, свиней, птиц	Фекалии, помет, рвотные массы	Пища, контакт с инфицированными предметами	Продукты, предметы обихода
<i>C. cinaedi</i> <i>C. fennelliae</i>	Пищеварительный тракт гомосексуалистов	Фекалии	?	?
<i>C. fecalis</i>	Репродуктивные органы КРС	Выделения половых органов	?	?
<i>C. styaeophila</i>	Пищеварительный тракт, репродуктивные органы животных, реже человека	Фекалии, выделения половых органов	Пища, корм, вода, контакт с инфицированными предметами	Продукты, корм, вода, предметы обихода
<i>C. upsaliensis</i>	Пищеварительный тракт человека и собак	Фекалии, рвотные массы	Пища, корм, вода, контакт с инфицированными предметами	
C.L.O.	Пищеварительный тракт гомосексуалистов	Фекалии, рвотные массы	?	?

Механизмы, пути и факторы передачи кампилобактериоза



Эпидемиологическая значимость различных клинических форм кампилобактериоза у людей

- Клинические признаки КИ не являются патогномоничными для данной инфекции, поэтому на основании одних симптомов практически невозможно отличить КИ от диарейных заболеваний, обусловленных другими энтеропатогенными микроорганизмами.
- Основными симптомами КИ являются лихорадка, частый жидкий стул с примесью крови на 1-3 сутки болезни, боли в животе, которые появляются за 1 сутки до диареи и сохраняются 5-7 дней после нормализации стула. Выздоровление наступает через 7-12 дней, иногда наблюдаются рецидивы у детей через 2-3 недели, у взрослых рецидивы отмечаются исключительно редко.

- Несомненно, что на клинические проявления КИ накладывает свой отпечаток и тот факт, что нередко кампилобактер выделяется от больного не как единственный этиологический агент, а в составе «микст-инфекции».
- «Микст-инфекции», обусловленные кампилобактерами вместе с другими бактериальными, вирусными или протозойными патогенами, встречаются довольно часто, особенно в развивающихся странах. Так в Индии более чем в 60 % случаев кампилобактеры от больных ОКЗ выделяются в составе «микст-инфекции».

ЛЕЧЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА

- Анализ резистентности к антибиотикам штаммов кампилобактеров, выделенных при различных формах кампилобактериоза, показал, что штаммы, выделенные от бессимптомных носителей, отличаются высокой резистентностью к антибиотикам различных классов. Штаммы, выделенные от бессимптомных носителей, характеризовались высокой резистентностью к оксампу, амикацину и чувствительностью к эритромицину и ципрофлоксацину. Среди штаммов, выделенных от тяжелобольных кампилобактериозом, резистентные штаммы как правило не обнаруживаются.

ЛИСТЕРИОЗ



Актуальность листериоза

Листериоз и его возбудители интересуют не только инфекционистов, но и представителей различных биологических дисциплин. Этот интерес обусловлен двумя основными причинами. Первая экологическая особенность развития листерий, пластичность метаболизма, благодаря чему бактерии живут и размножаются в широком диапазоне природных условий. Вторая причина связана с изучением механизма клеточного иммунитета, так как листерии являются внутриклеточными паразитами, преимущественно локализующимися в Т-лимфоцитах.

Листериоз находится в центре внимания не только микробиологов, но и клиницистов различных специальностей.

Среди причин следует отметить:

- повсеместное распространение и растущую заболеваемость листериозом во всем мире;
- выраженный полиморфизм клинических проявлений и высокий процент летальных исходов;
- своеобразный патогенез листериозной инфекции;
- трудности в создании систем типирования с целью выявления и дифференциации эпидемиологически значимых опасных для человека штаммов *L. monocytogenes*.



Классификация и таксономия

С тех пор, как 1926 г. Муррел, Уэбба, Сэун составили подробное описание микроорганизма, названного ими Бактер «моноцитогенес», Д. Пири в 1927 г. описал его под названием Листерелла гепатолитика, взгляды на таксономию претерпели существенную эволюцию.

И хотя вопросы систематики и таксономии постоянно изучались как отечественными, так и зарубежными учеными, но вопросов было больше, чем ответов. До последнего времени неясным было понимание места листерий среди других микроорганизмов, а также внутри вида *Listeria*

В 7-м издании Руководства по систематике микроорганизмов Берджи род листерия помещен в семейство коринебактерий вместе с лактобактериями, родами бронхотрикс и эризипилотрикс. Последние способны вызывать рожу у свиней. И по мнению ряда исследователей (Г.Зеелигер, 1997; И.А.Бакулов, 1976, 1983, 1988; Д.Рокоурт, 1983, 1987) очень близки к листериям. В 8-м издании Берджи оба эти рода были вынесены из семейства коринебактерий и определены как роды с неясным систематическим положением семейства Lactobacillaceae. В 9-м издании определителя род *Listeria* отнесен к 19-й группе микроорганизмов – грамположительные не спорообразующие палочки правильной формы.

Открытие видовой специфичности нуклеотидного состава ДНК позволило использовать его в качестве одного из критериев установления геномного родства, а также для выяснения таксономического положения многих групп бактерий. Однако возможность применения этого метода в качестве единственного таксономического критерия весьма ограничена, так как ДНК двух биологически не родственных организмов могут иметь одинаковый молекулярный процент (гуанин-цитозина мол. % ГЦ). По мнению многих авторов, генеалогические связи прокариот могут быть установлены при использовании данных о последовательности нуклеотидов 16S рРНК.

Исследования 16S рРНК и анализ гомологии нуклеотидных последовательностей ДНК листерий и близких к ним микроорганизмов показали, что листерии филогенетически наиболее близки к факультативно аэробному роду *Bronchotrix* и к факультативно анаэробным родам *Kurthia*, *Gemella* и *Erysipelothrix*. Это сходство значительно затрудняло постановку бактериологического диагноза. Вопрос внутривидовой систематики до последнего времени также оставался неясным. До 1961 г. род *Listeria* был представлен одним видом – *L. monocytogenes*. Затем в него вошли *L. denitrificans* (1961), *L. grayi* (1966), *L. murrey* (1971). Все штаммы серовара 5 обладали ярко выраженным гемолизом и были выделены болгарским исследователем Ивановым в 1975 г. в отдельный вид *L. bulgarica*. В 1984 г. этот вид был переименован в *L. ivanovi*. Новый вид *L. innocua* объединил непатогенные штаммы *L. monocytogenes*, относившиеся к 6 серовару. В 1983 г. в род листерий вошли еще два вида: *L. Welchimeri* и *L. seeligeri*.

Общее количество видов достигло 8. Однако изучение гомологии нуклеотидных последовательностей НК и 16Sp РНК сократило количество видов листерий до 6.

В самостоятельный род *Jonesia* была выделена *L. denitrificans*. Вид *L. murrayi* стали рассматривать как подвид *L. Grayi*. Из шести известных в настоящее время видов листерий только *L. monocytogenes* патогенен для человека, а *L. ivanovi* – для животных.

Но диагностика листериоза в значительной мере затруднена из-за отсутствия быстрых и чувствительных методов идентификации патогенных листерий, чувствительных методов индикации патогенных и непатогенных штаммов листерий. В последние годы в диагностике и эпизоотологии, а также при исследовании патогенеза листериоза широко применяют современные методы молекулярной биологии и иммунологии.

Диагностика

Анализ плазмидного профиля является наиболее эффективным для быстрого получения ответа при исследовании листерий, содержащих набор плазмид.

Рестрикционный анализ хромосомной ДНК. Количество и размер фрагментов ДНК отражает частоту и распределение сайтов рестрикции и часто используется для анализа генома листерий. В последнее время широко применяют гель-электрофорез хромосомальной ДНК в пульсирующем электрическом поле, который имеет более высокую разрешающую способность, чем обычные методы.

Саузерн-блоттинг хромосомной ДНК. Для анализа хромосомной ДНК используют меченые ДНК-зонды, комплементарные различным последовательностям ДНК листерий.

Риботипирование позволяет с помощью блот-гибридизации обнаружить полиморфизм рибосомальных оперонов различных видов листерий.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) оказалась особенно полезной для обнаружения и дифференциации патогенных листерий. Основное преимущество ПЦР - это высокая чувствительность и быстрота получения результата. Для проведения филогенетического анализа и изучения эволюции патогенных листерий используется несколько различных вариантов ПЦР.

Секвенирование. В настоящее время стало технически возможным сравнивать многочисленные изоляты патогенных и непатогенных листерий секвенированием сходных локусов каждого из них. Этот подход уже широко используется в исследованиях по эволюции, в анализе естественных изменений и разновидностей внутри рода листерий и обеспечивает высоконадежные и объективные данные при проведении эпизоотологических исследований.

Данные методы ни в коей мере не исключают классические методы диагностики, а дополняют их для постановки быстрого и точного диагноза.

Основой любой системы типирования является тот факт, что эпизоотологически связанные изоляты листерий происходят от одного предшественника, следовательно, имеют общие характеристики, которые позволяют отличать их от других полевых изолятов. Поэтому использование специфических характеристик для типирования патогенных штаммов и изолятов листерий прежде всего связано с их внутриштаммовой стабильностью и их многообразием внутри вида. Последний является отражением генетической эволюции, являются результатом точечных нелетальных мутаций, которые накапливаются в течение определенного времени. Такие мутации могут быть выявлены, если они встречаются на участках генома, кодирующих метаболические ферменты, участвующих в регуляции синтеза ДНК, а также белков, определяющих патогенность листерий.

Биологические свойства

Биологические свойства возбудителей листериоза имеют черты сходства с другими видами рода *Listeria*, и в то же время отличаются от свойств других представителей этого рода.

Для листерий характерен ряд температурозависимых признаков, которые по-разному проявляются при температуре от +4 до 37°C. Есть мнение, что эти свойства могут быть следствием адаптации микроорганизма к разным местам обитания: организму теплокровных и внешней среде.

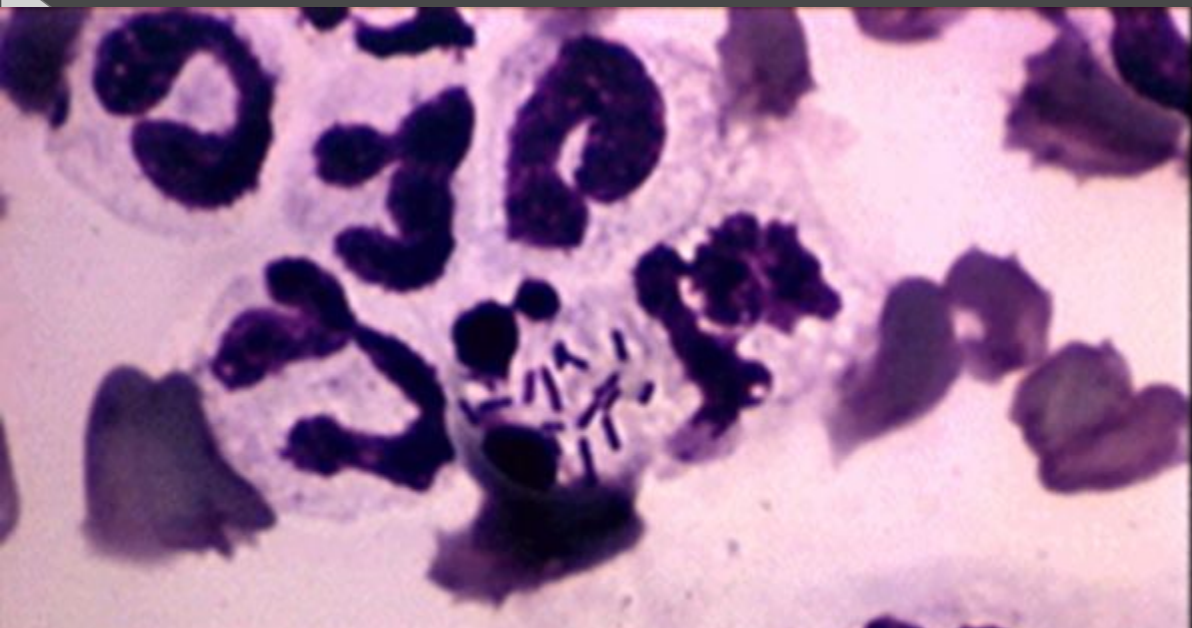
Морфология и культурные свойства

Микроорганизмы рода *Listeria* представляют собой грамположительные короткие палочки с закругленными концами, иногда почти кокки, одиночные или в коротких цепочках (0,4-0,5 x 0,5-2 мкм). Листерии ферментируют глюкозу, каталазоположительны, оксидоотрицательны, образуют цитохромы. Оптимальная температура роста

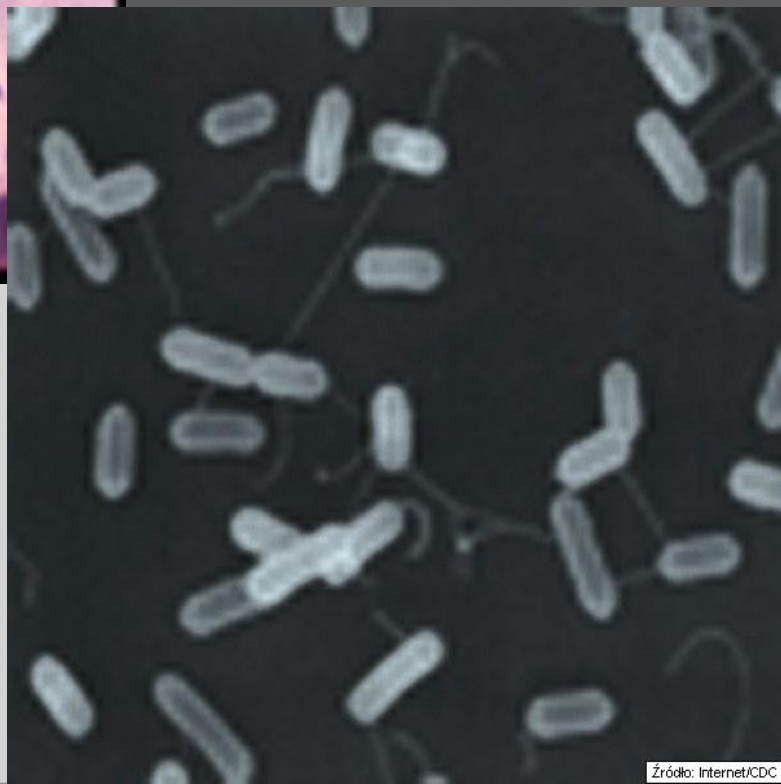
30-37°C, хотя листерия – психрофильный микроорганизм, может расти и при 4°C. При 20-25°C

листерии подвижны за счет образования перитрихимальных жгутиков, при 37°C жгутики как правило не образуются, и листерии не подвижны.

Листерии не образуют споры и капсулы, факультативные анаэробы, хемоорганотрофы, не устойчивы к кислотам.



Listeria monocytogenes



Выделение возбудителя из клинического материала и продуктов питания оказалось малоэффективным без селективных компонентов и методов. Поэтому в 80-е годы были созданы селективные среды, значительно повышающие эффективность выделения и сократившие сроки идентификации *L. monocytogenes*..

Принципиальное значение имеет применение в качестве селективного фактора сочетание эскулина и цитрата железистого аммония. Эскулин играет роль единственного источника углерода, а цитрат железистого аммония выступает в качестве индикатора гидролиза углеводов, что позволяет с высокой степенью достоверности дифференцировать *L. monocytogenes* от другой микрофлоры. Цвет среды в результате реакции продуктов гидролиза эскулина с цитратом железистого аммония меняется, что приводит к потемнению бульона или образованию черного ореола вокруг выросших колоний листерий на Оксфордском агаре и Палкам агаре.

Рост листерий на различных питательных средах

Рост на Оксфордском агаре



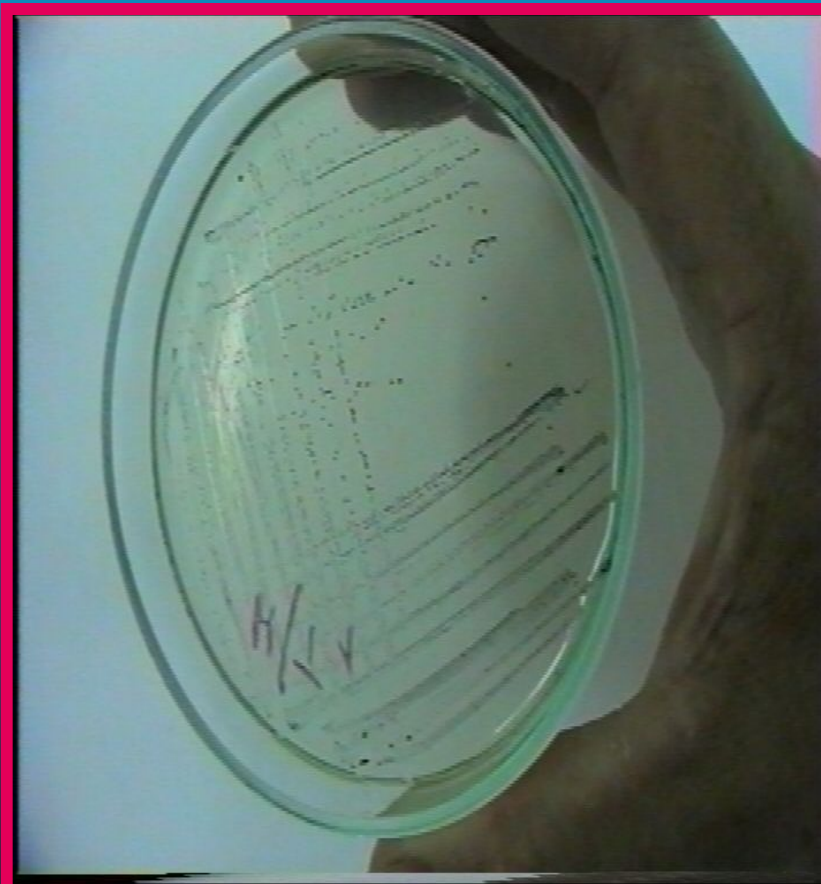
Рост на оксидном агаре



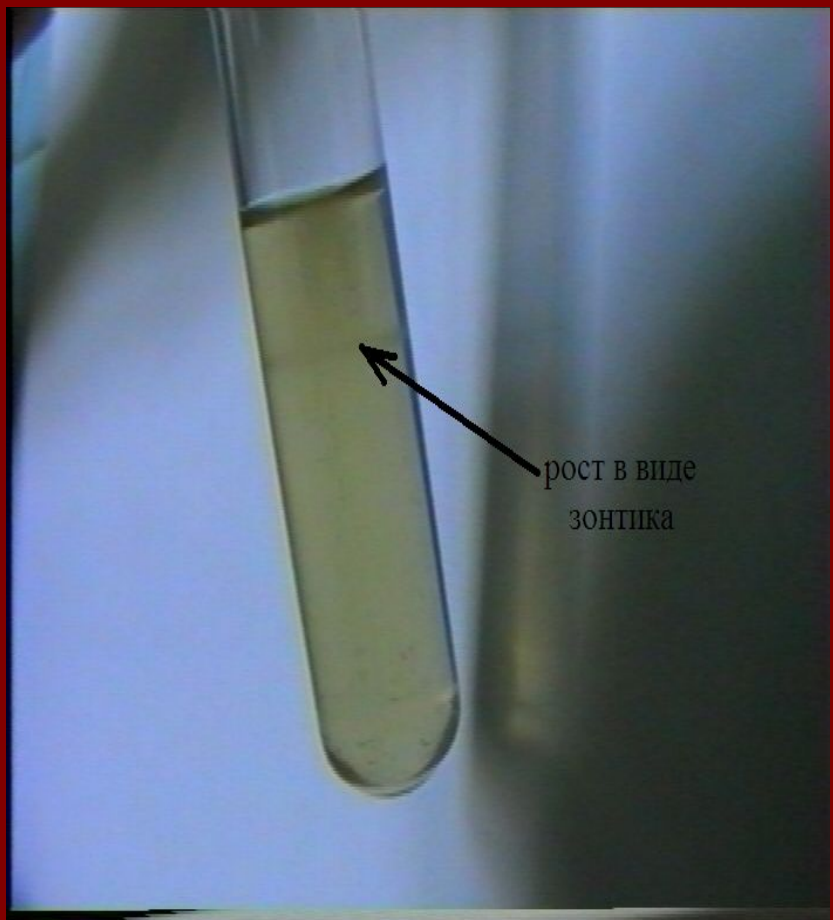
Гидролиз эскулина в бульоне Фразера



Рост листерий на нейтральном
агаре с добавлением теллурита
калия



Рост в виде «зонтика» в полужидком агаре



Рост листерий на хромогенном агаре



Факторы патогенности *L. monocytogenes*

<u>Белок</u>	<u>Мол.масса, кДа</u>	<u>Ген</u>	<u>Функции</u>
PrfA	27	<i>prfA</i>	Регуляция транскрипции генов патогенности
Листерииолизин	58	<i>hly</i>	Лизис фагосомы
PlcA	36	<i>plcA</i>	Лизис первичной и вторичной фагосомы
Лецитиназа	33	<i>plcB</i>	Лизис вторичной фагосомы
Металлопротеаза	57	<i>mpl</i>	Посттрансляционная модификация лецитиназы
ActA	67	<i>actA</i>	Полимеризация актина, Внутри-и межклеточное перемещение
Интерналин, InlB	88, 65	<i>inlA, inlB</i>	Индукция фагоцитоза

В соответствии с Международной
классификацией болезни
(МКБ-10) у листериоза имеются следующие
формы:

A32 – листериоз;

A32.0 – листериоз кожи;

A32.1 – листериозный менингит и
менингоэнцефалит;

A32.7 – листериозная септицемия;

A32.8 – другие формы листериоза;

A32.9 – листериоз неуточненный;

A37.2 - неонатальный (диссеминированный)
лиштериоз.

Лечение



Большинство исследователей отмечают, что штаммы *L.monocytogenes* проявляют *in vitro* чувствительность к хинолонам и фторхинолонам, антисинегнойным пенициллинам, цефалоспорином III-IV поколения, аминогликозидам, хлорамфениколу, карбапенемам, ко-тримоксазолу.

В то же время данный микроорганизм устойчив или недостаточно чувствителен к таким препаратам, как бензилпенициллин, пиперациллины, цефалоспорины I поколения.

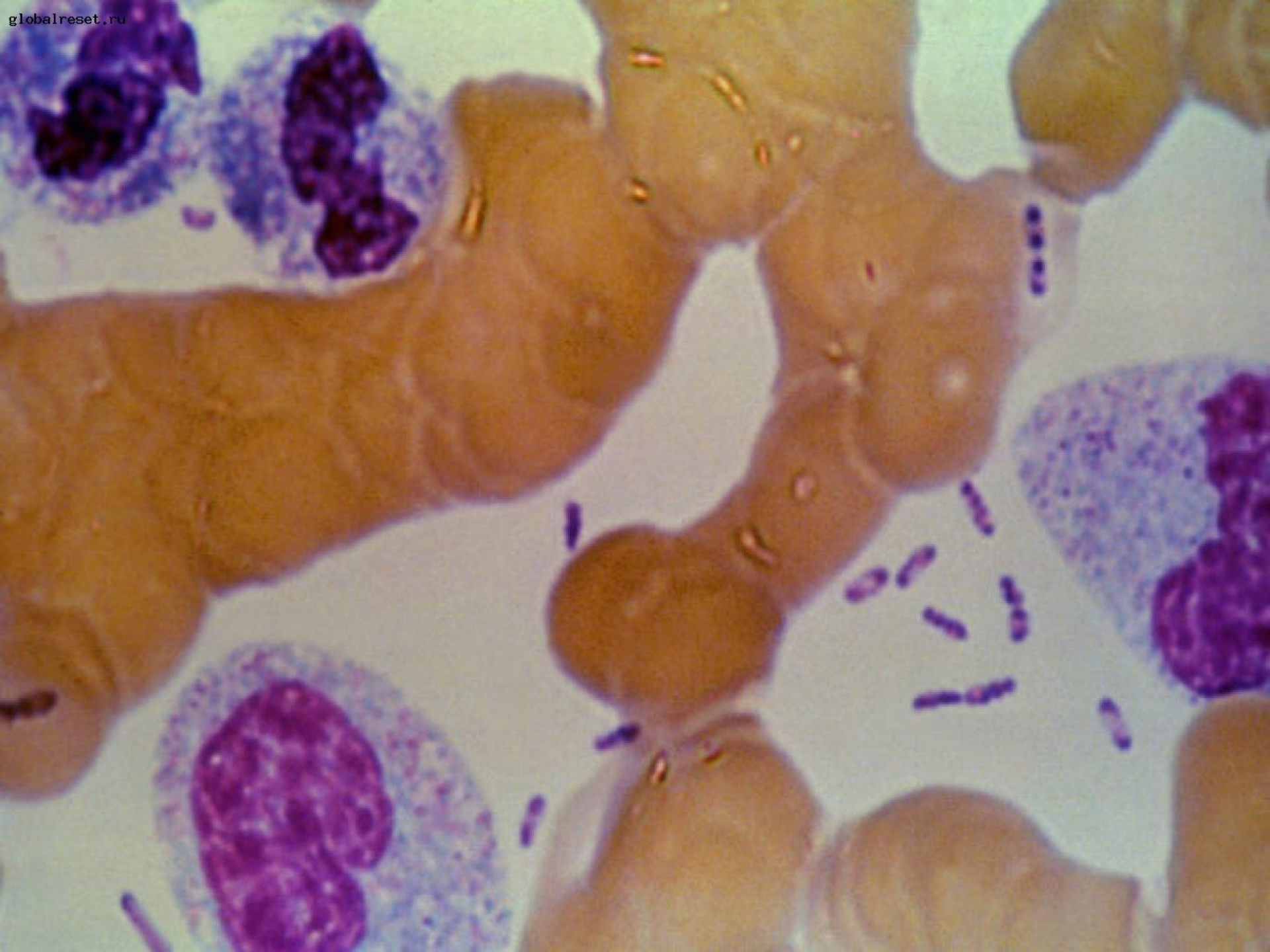
Лечение инфекции, вызванной *L.monocytogenes*, должно проводиться с учетом формы и характера течения заболевания, принадлежности заболевшего к группе риска развития осложнений и, естественно, чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам.

Выбор препаратов производится не только с учетом данных по чувствительности возбудителя *in vitro*, но и его преимущественно внутриклеточной локализации в тканях.

Профилактика

Эффективные меры специфической профилактики для людей отсутствуют, а неспецифическая профилактика заключается в соблюдении санитарно-ветеринарных правил и санитарно-противоэпидемических мер по чувствительности возбудителя *in vitro*, но и его преимущественно внутриклеточной локализации в тканях.

Иерсиниоз



Классификация

СЕМЕЙСТВО: ENTROBACTERIACEAE

РОД: YERSINIA

ВИД:

- *Y. pestis*
- *Y. enterocolitica*
- *Y. pseudotuberculosis*
- *Y. kristensenii*
- *Y. intermedia*
- *Y. frederiksenii*

МОРФОЛОГИЯ И КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА

Иерсинии – полиморфные палочки с закругленными концами. Все виды подвижны, кроме *Y.pestis* – возбудителя чумы. Подвижность выражена после выращивания при t ниже 30°C; при t 37°C иерсинии не подвижны. Размер и полиморфизм зависит от возраста культуры, температуры и питательных сред для выращивания. Некоторые виды могут продуцировать капсульное вещество, а *Y.pestis* образует капсулу. При низких температурах капсульного вещества образуется больше. Температура оптимума роста иерсиний составляет 20 – 30 °C; нижняя граница - 0-2°C , верхняя граница - 39°C; оптимум pH - 5,8 –9,6. Рост бактерий при t 10 - 12°C сопровождается замедлением лаг – фазы, что позволяет применять низкотемпературное культивирование (при 4°C).

- ⊙ Иерсинии не отличаются биохимической инертностью.

АНТИГЕННАЯ СТРУКТУРА

У *Y. Enterocolitica* выделяют соматический O-, жгутиковый H – и Ag вирулентности (Vi - Ag и W - Ag), расположенный на наружной мембране. Бактерии серогруппы O 10 имеют фимбриальный Ag, обозначаемый как K1. Традиционно серотипирование Ag *Y. Enterocolitica* осуществляется по общей схеме

Экология и эпидемиология возбудителя

- Температурный фактор определяет изменчивость бактерий, устойчивость во внешней среде, размеры клеток, темп размножения, скорость метаболических процессов и даже служит фактором выбора альтернативных процессов обмена веществ, регулирующих синтез ферментов. Все иерсинии могут образовывать:
 - гладкие (S-формы),
 - шероховатые (R –формы)
 - переходные (S - R формы).