



# Лабораторная диагностика кишечных инфекций: брюшного тифа, пищевых токсикоинфекций

---

# Общая характеристика

## Сальмонеллы (*Salmonella*)

Род назван в честь американского ветеринара Даниела Салмона

Сальмонелла - один из наиболее распространенных возбудителей пищевых токсикоинфекций

Инфицирует большинство видов сырых продуктов (мясо, яйца, растительные продукты)

## Таксономия

Домен (царство): Procaryota

Отдел: Gracilicutes

Семейство:

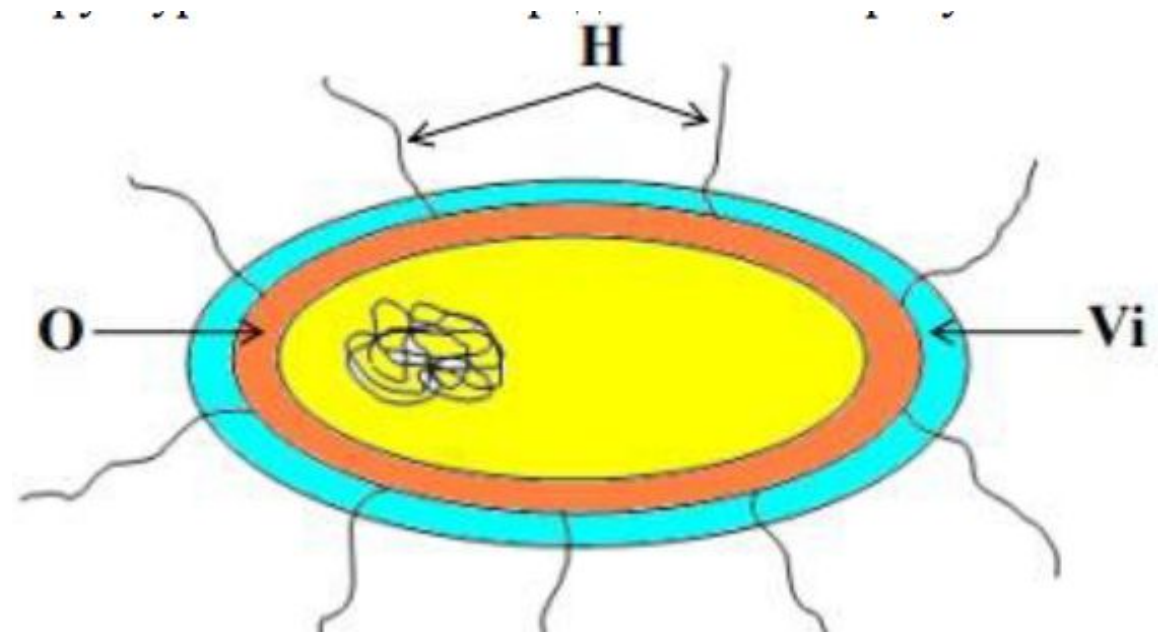
Enterobacteriaceae

Род: *Salmonella* СОСТОИТ ИЗ ДВУХ ВИДОВ:

- ***S. enterica*** (*S. enterica*; *S. salamae*, *S. arizonae* *S. diarizonae*)
- ***S. bongori***

# В 1934 г. ученые-микробиологи Ф. Кауфман и П. Уайт предложили провести перераспределение штаммов сальмонелл согласно антигенной структуре

- Сальмонеллы подразделяются на серогруппы в соответствии со строением О-антигена.
- Каждая серогруппа обозначается буквами (А, В, С и т. д.) и подразделяется на подгруппы. Серогруппы сальмонелл делятся на видовые группы микроорганизмов по строению О антигена клеточной стенки (серовары, серотипы).
- По строению Н-антигена сальмонеллы распределены на две ступени или, по другому, фазы: 1 ступень (специфическая),

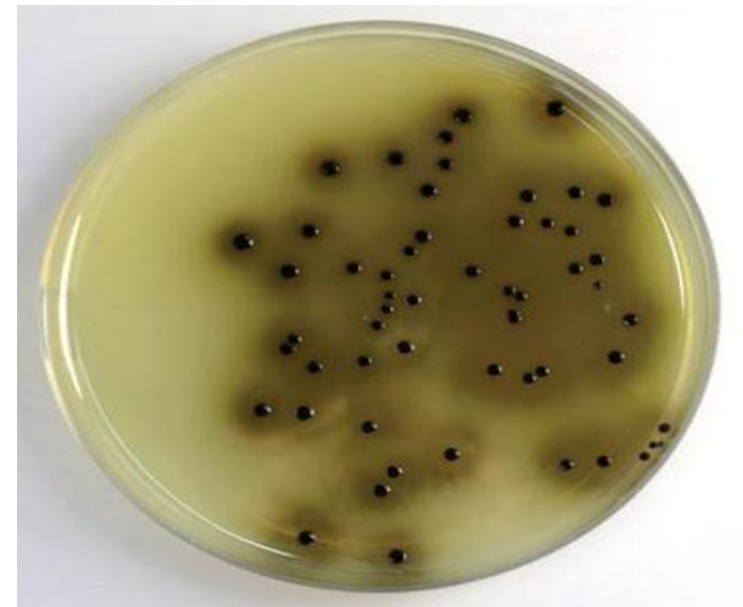
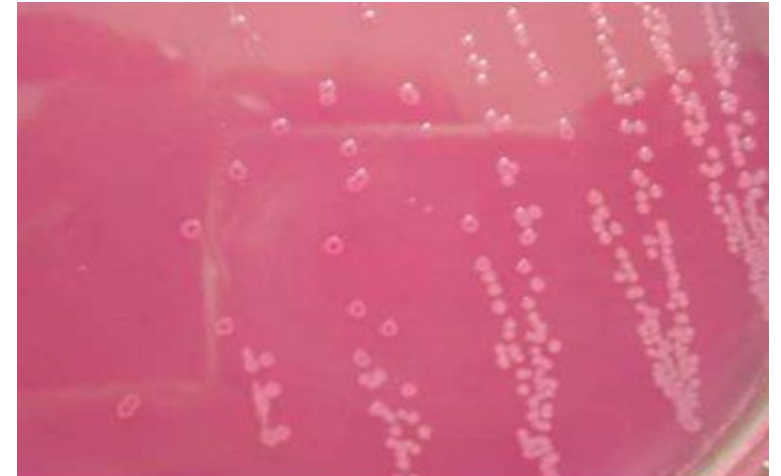


Vi-антиген – видовой антиген К-антигена сальмонелл, химическая структура которого представлена как мукополисахарид

# Общая характеристика

---

- Палочковидные
- Грамотрицательные
- Спор не имеют
- Капсул не имеют
- Факультативные анаэробы
- Вырабатывают энтеротоксины и эндотоксины



# Факторы патогенности сальмонелл

---

- Основными патогенными факторами являются
  - токсины,
  - пили,
  - Vi-антиген,
  - Белки наружной мембраны,
  - резистентность к фагоцитозу.
- Каждый вид или подвида сальмонеллы обладают разным набором токсинов.
- При повреждении бактериальной клетки высвобождается эндотоксин, который в случае бактериемии способствует развитию лихорадки.

# Характер роста на питательных средах

---

- Культивируются на простых питательных средах
- На дифференциально-диагностических средах образуют прозрачные колонии (редуцируют лактозу)
- На висмутсульфитном агаре образуют колонии черного цвета
- На МПА гладкие полупрозрачные колонии S типа
- На МПБ помутнение среды
- Температурный оптимум для роста – 35-37°C, рост полностью прекращается при 5°C; оптимум pH=7,2-7,4.

# Биохимические свойства:

---

- ферментация глюкозы до кислоты и газа (S. Typhi не продуцируют газ);
- отсутствие ферментации лактозы;
- отсутствие индолообразования;
- отсутствие расщепления мочевины

# Резистентность

---

- Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды.
- Выдерживают рН 4,0–9,0; в водоемах, сточных водах, почве сохраняют жизнеспособность до 3 мес, в комнатной пыли — от 80 до 550 дней. Хорошо переносят низкие температуры.
- Сохраняются в зараженных продуктах: в колбасе — 3 мес, замороженном мясе и яйцах — до 1 года, на овощах и фруктах — 5–10 дней.
- При нагревании до 56 °С сальмонеллы гибнут в течение 45–60 мин, при температуре 100 °С погибают мгновенно. Растворы дезинфицирующих веществ (5% раствор фенола, 3% раствор хлорамина, 3% раствор лизола) убивают сальмонеллы в течение 2–3 мин.



# Вызываемые заболевания

---

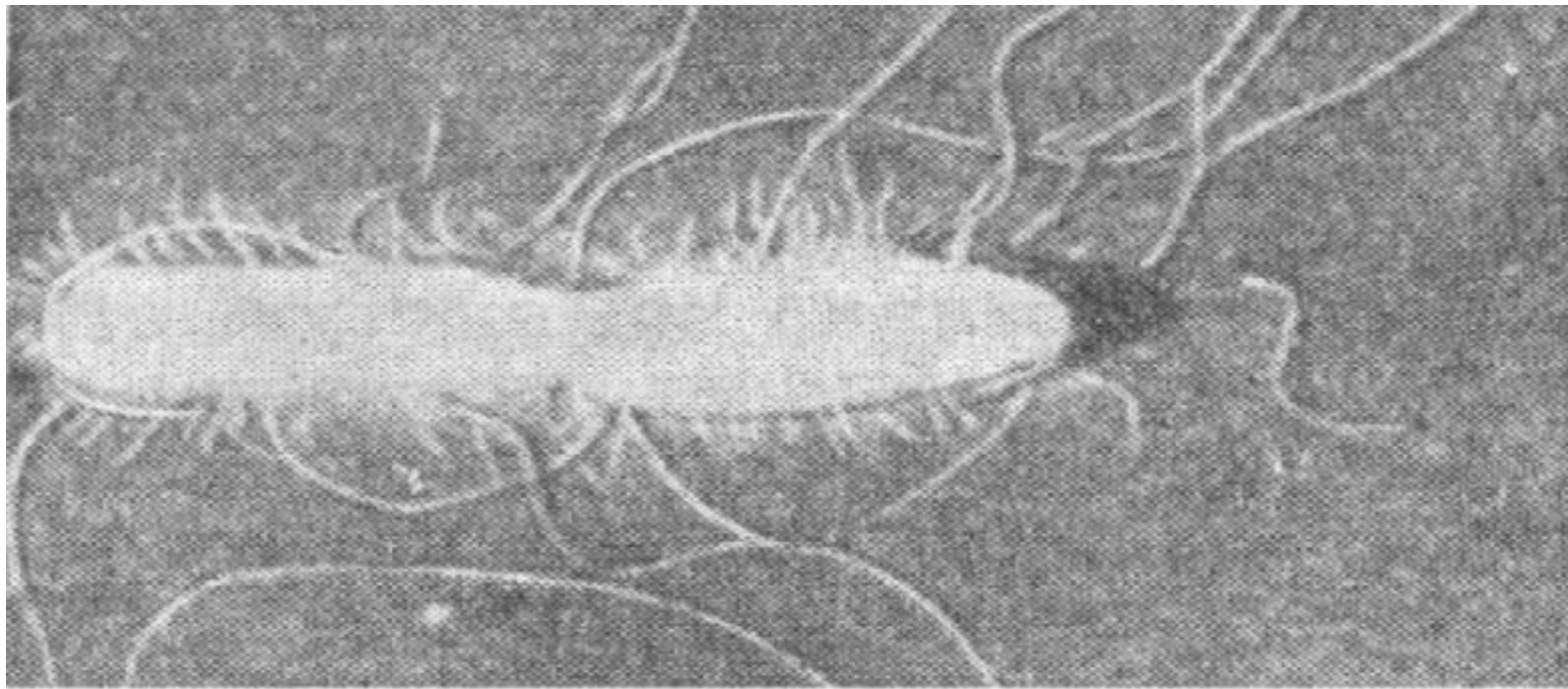
- В зависимости от источника инфекции, путей передачи, особенностей патогенеза и форм проявления инфекционного процесса среди заболеваний, вызываемых сальмонеллами, различают
- системные инфекции (брюшной тиф и паратифы)
- сальмонеллезные гастроэнтериты
- госпитальный (нозокомиальный) сальмонеллез

# Сальмонеллы-возбудители пищевых токсикоинфекций. Сальмонеллезы

---

- Сальмонеллез характеризуется поражением тонкого кишечника и протекает в форме энтерита или в генерализованной форме, возникающие в результате употребления пищевых продуктов, зараженных различными видами сальмонелл (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, *S. Choleraesuis*, *S. Dublin* и другие, входящие в серогруппы В, С, D и Е. Заражающая доза для человека составляет 1-100 млн микробных клеток
- Морфология и тинкториальные свойства. Палочки с закругленными концами длиной 1—3 мкм. Большинство из них, благодаря перитрихально расположенным жгутикам, подвижны. По Граму окрашиваются отрицательно.
- Культуральные свойства. Возбудители пищевых токсикоинфекций — факультативные анаэробы. Оптимальная температура для размножения 35—37 °С. Могут расти при значении рН 4,1—9.

Электроннограмма сальмонеллы  
(Инфекционные болезни. Атлас:  
руководство. Учайкин В.Ф., Харламова Ф.С.,  
Шамшева О.В., Полеско И.В. 2010.)



# Сальмонеллы-возбудители пищевых токсикоинфекций

---

- **Антигенная структура.**

- Сальмонеллы — возбудители пищевых токсикоинфекций, обладают тремя основными антигенными комплексами: О-соматическим, Н-жгутиковым и К-капсульным.

- **Резистентность.**

- В окружающей среде и в пищевых продуктах сальмонеллы долго сохраняют жизнеспособность. Хорошо и длительно переносят низкие температуры, при температуре же свыше 46 °С быстро, а при 100 °С мгновенно погибают.

# Сальмонеллы-возбудители пищевых токсикоинфекций

---

- **Эпидемиология.**
- Основным источником инфекции являются сельскохозяйственные животные и птицы — больные сальмонеллезом или бессимптомные носители.
- **Основной путь заражения — алиментарный**, а факторы передачи инфекции — различные пищевые продукты (мясо животных, яйца и яичные продукты, молоко). Одной из важных проблем современной медицины становится сальмонеллез как «внутрибольничная» инфекция. Источником ее в этом случае является человек

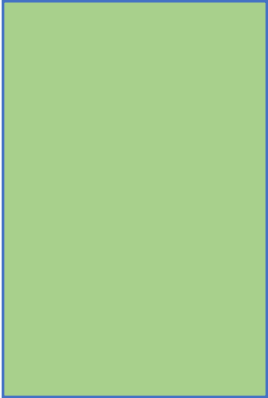
# Сальмонеллы-возбудители пищевых токсикоинфекций. Факторы патогенности

---

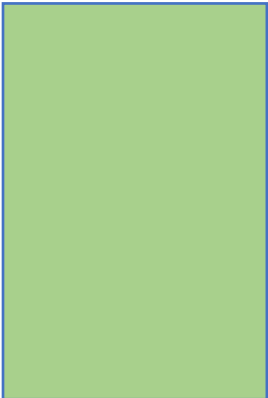
- Экзотоксины- энтеротоксин (entero - кишка) и цитотоксин, которые специфически действуют на эпителий кишечника.
- Механизм действия энтеротоксина заключается в том, что эти вещества связываются со специфическими рецепторами мембраны эпителия. Связанный токсин активирует мембранную аденилатциклазу, это вызывает повышение концентрации в клетке циклического аденозинмонофосфата (АМФ), что в свою очередь вызывает повышение скорости переноса электролитов, т.е. утечку воды из тканевых структур.
- Цитотоксин, продуцируемый сальмонеллами, термолабилен, его цитотоксическое действие проявляется в угнетении синтеза белка энтероцитами.
- Эндотоксины-факторы патогенности, по своей химической природе это комплекс липополисахаридов с белками клеточных стенок грамотрицательных бактерий, они идентичны O -антигенам (соматическим антигеном) целой клетки. Они вызывают повышение температуры тела (пирогенность) и являются

# ЭНДО И ЭКЗОТОКСИНЫ

---



*Экзотоксины- вещества, выделяемые при жизни бактерий.*



*Эндотоксины образуются в результате разрушения бактериальной клетки и представляют собой ее структуру.*

# Патогенез сальмонеллёза

Проникновение сальмонелл per os



Попадание в тонкий кишечник



Адгезия к энтероцитам, колонизация, выделение **токсинов (эндо и экзо)**, трансцитоз в подслизистый слой, захват макрофагами



Цитотоксины



Гибель клеток, слущивание эпителия



Умеренное воспаление слизистой кишки



Энтеротоксин



Активация аденилатциклазы



Выход ионов и воды в просвет кишечника



Диарея



# Иммунитет при сальмонеллезах

---

- Иммунитет при сальмонеллезах непродолжительный, ненапряженный, серовароспецифический.
- Возможны повторные заболевания, а также формирование длительного бактерионосительства

# Лабораторная диагностика

---

- Диагностика проводится двумя методами: **бактериологическим и серологическим.**
- Для бактериологического исследования у пациента проводится забор крови на гемокультуру на 1 неделе заболевания, желчь, моча и желудочные испражнения (рвотная масса). На 2 неделе заболевания для бактериологического анализа также могут браться посевы кала, моча.
- Серологическое исследование проводится на основе забора крови из вены (реакция Видаля, РНГА, ИФА) с 8-9 дня болезни. Данный вид исследования проводится всегда в динамике, с интервалом в 7-10 дней.

# Брюшной тиф

---

- Брюшной тиф — острое антропонозное инфекционное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи. Протекает в генерализованной форме с поражением лимфатического аппарата кишечника, мезентериальных лимфатических узлов, паренхиматозных органов, с бактериемией.
- Характеризуется циклическим течением.
- Клинически проявляется выраженной интоксикацией с лихорадкой, развитием гепатолиенального синдрома, в ряде случаев розеолезной сыпью и энтеритом.
- Название болезни введено Гиппократом, оно происходит от греческого слова typhos — «туман, спутанное сознание»

# Брюшной тиф

## Классификация возбудителя

---

- По определителю Берджи 5 группа – факультативно-анаэробные грамотрицательные палочки.
- Семейство Enterobacteriaceae
- Род Salmonella
- Вид *S. enterica*
- Подвид *enterica*, серовар *S. Typhi* (группа D9) – возбудитель брюшного тифа, серовар *S. Paratyphi A* (группа A2) – возбудитель паратифа А, серовар *S. Paratyphi B* (группа B2) – возбудитель паратифа Б.
- Антигены O, Vi, H

# Этиология

---

- **Возбудителем брюшного тифа служит *S. Typhi*.**
- Впервые возбудитель заболевания обнаружили в органах умерших людей Т. Брович (1874), Н.И. Соколов (1876) в России и К. Эберт (1880) в Германии. В 1884 г. Т. Гаффки выделил возбудителя в чистой культуре.
- **Возбудителями паратифов служат *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C*.**
- По данным ВОЗ, ежегодно на земном шаре заболевают брюшным тифом 27 млн человек, смертность от него достигает 21 млн случаев в год. Возбудителей паратифа *S. Paratyphi A*, *B*, *S. Sendai C* выделяют реже, чем *S. Typhi*.

# Характеристика возбудителей

---

- Палочки
- Подвижные, перетрихи
- Спор нет
- Капсул нет
- Есть пили (адгезины)
- Способны образовывать L формы при неблагоприятных условиях



# Ферментативные свойства

- Разлагают глюкозу, мальтозу, маннит с образованием кислоты
- Не ферментируют лактозу и сахарозу
- Не разжижают желатину
- Образуют сероводород
- Восстанавливают нитраты в нитриты

## Биохимическая активность и культуральные свойства



# Факторы патогенности

---

Факторы адгезии и колонизации-ЛПС, пили

Энтеротоксин (экзотоксин). Эндотоксин, высвобождается при гибели бактерий

Факторы агрессии- ферменты патогенности

- ДНК-азы,
- фосфатазы,
- протеазы,
- муциназы,
- гемолизины



# Эпидемиология

---

- Брюшной тиф -антропонозы
- Источником инфекции служит больной или бактерионоситель, которые выделяют возбудитель во внешнюю среду с испражнениями, мочой, слюной
- Возбудители устойчивы во внешней среде, сохраняются в почве, воде продуктах
- Передача возбудителя осуществляется водным, алиментарным и контактно-бытовыми путями. Естественная восприимчивость людей к этим инфекциям высокая

# Брюшной тиф

- Вызывается *Salmonella typhi*
- Проявляется симптомами общей интоксикации. Температура тела достигает 39-40°C к 4-7 суткам. На 3-5-е сутки увеличиваются печень и селезенка. В период разгара болезни (на 7-8-е сутки) симптомы интоксикации усиливаются, что проявляется резкой заторможенностью, помрачением сознания, характерна сыпь. Живот вздут, выражены симптомы энтерита.
- **Экзотоксины:** LT-токсин-увеличивает содержание цАМФ в энтероцитах, ST-токсин-нарушает синтез белков, активизирует образование простагландинов.
- **Эндотоксин** угнетает деятельность ЦНС, может вызвать миокардит, миокардиодистрофию и инфекционно-токсический шок.

## Патогенез брюшного тифа

1. Внедрение возбудителей в организм
2. Развитие лимфаденита
3. Бактериемия
4. Интоксикация
5. Паренхиматозная диффузия возбудителей
6. Выделение возбудителей из организма
7. Формирование иммунитета
8. Восстановление гомеостаза организма

# Патогенез

---

Заражение происходит через рот, и первичным местом локализации возбудителей оказывается пищеварительный тракт – дигестивная стадия. Заражение

# Патогенез



Empty rounded rectangular box for text input.

Empty rounded rectangular box for text input.

Empty rounded rectangular box for text input.

# Патогенез

Одновременно происходят стимуляция фагоцитоза, синтез антител, специфическая сенсibilизация организма, возрастает выделение возбудителя в окружающую среду через желчь и мочевыделительную систему

Повторное проникновение возбудителя из печени с током желчи в кишечник вызывает местную анафилактическую реакцию в виде некроза лимфоидных образований – выделительно-аллергическая стадия. В кишечнике происходит отторжение некротических масс. На третьей неделе отмечают тенденцию к снижению интенсивности бактериемии.

# Патогенез

---

Причина бактерионосительства - возбудитель может сохраняться в клетках системы моноцитарных фагоцитов, что может приводить к хроническому бактерионосительству, которое при брюшном тифе рассматривают как форму инфекционного процесса.

# Лабораторная диагностика. Методы диагностики:

*Исследуемый материал:* зависит от стадии болезни: на 1 – 2 неделе заболевания – кровь (ранняя диагностика), со 2 – 3 недели – испражнения, моча, желчь (поздняя диагностика).

## 1. Экспресс-метод-ПЦР

## 2. Бактериологический метод (основной)

А) Исследование крови (выделение гемокультуры):

- Кровь засевают в желчный бульон или среду Раппопорт в соотношении 1:10. Затем пересевают на дифференциально-диагностические питательные среды Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар.
- Колонии сальмонелл на средах Эндо, Левина, Плоскирева мелкие, округлые, с ровным краем, блестящей поверхностью, прозрачные, бесцветные, т.к. сальмонеллы не расщепляют лактозу (лактозонегативные).
- На висмут-сульфит агаре *S.Typhi* формируют черные колонии с характерным металлическим блеском.
- Из колоний: делают мазок с окраской по Граму (определяют морфотинкториальные свойства), определяют подвижность (подвижны).



# Лабораторная диагностика. Методы диагностики:

---

- Б) **Исследование испражнений (выделение копрокультуры):**
- Испражнения засевают на среды накопления (селенитовый бульон, среда Мюллера), затем пересевают на дифференциально-диагностические питательные среды Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар.
- Последующие этапы бактериологического метода проводятся аналогично разобранным выше.
- В) **Исследование мочи (выделение уринокультуры) и желчи (выделение биликультуры):**
- Мочу и желчь засевают на дифференциально-диагностические питательные среды Эндо, Левина, Плоскирева, висмут-сульфит агар.

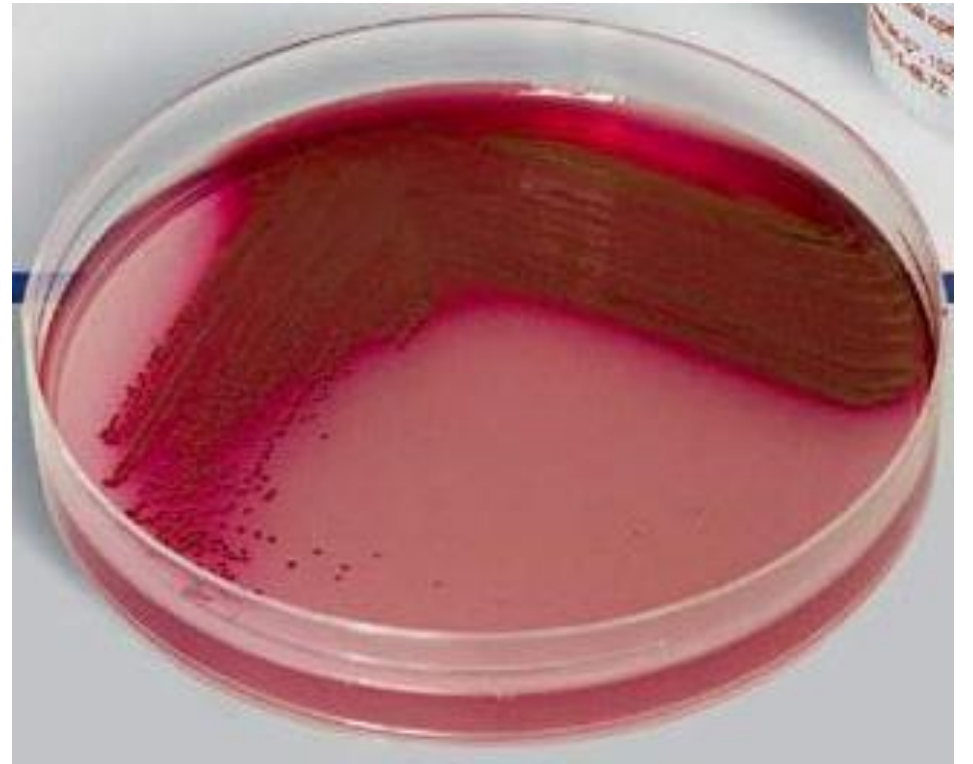
# Среда Эндо

## Состав:

- питательный агар,
- лактоза,
- основной фуксин.

Среда имеет розовый оттенок.

Колонии бактерий, ферментирующих лактозу, окрашиваются в темно-красный цвет; колонии бактерий, не ферментирующих лактозу, остаются бесцветными.



# Среда Левина

---

## Состав:

- питательный агар,
- лактоза,
- эозин и метиленовый синий.

Среда имеет коричневатый оттенок.

Колонии бактерий, ферментирующих лактозу, окрашиваются в темно-синий цвет; колонии бактерий, не ферментирующих лактозу, остаются бесцветными



# Среда Плоскирева

## Состав:

- питательный агар,
- лактоза,
- нейтральный красный,
- соли желчных кислот, бриллиантовый зелёный.

Среда имеет розовато-желтоватый оттенок.

Колонии бактерий, ферментирующих лактозу, окрашиваются в бруснично-красный цвет;

колонии бактерий, не ферментирующих лактозу, остаются бесцветными.



# Лабораторная диагностика

Идентифицируют чистую культуру по биохимическим свойствам:

Возбудитель							
	лактозы	глюкозы	мальтозы	сахарозы	маннита	индола	H <sub>2</sub> S
S.Typhi	-	K	K	-	K	-	+

# Лабораторная диагностика. Методы диагностики:

---

Серологический метод (серодиагностика)

- Используют РА Видаля и РНГА (РПГА).
- В реакции Видаля определяют титр АТ к О и Н АГ *S.Typhi*.
- Диагностический титр реакции 1:200. Высокие титры О-АТ наблюдаются только в период разгара болезни.
- Высокие титры Н-АТ наблюдаются в период реконвалесценции, а низкие титры могут оставаться долгое время после перенесённого заболевания; также выявляются у вакцинированных.

# РНГА для обнаружения в крови обследуемых Vi-антител

РНГА для обнаружения в крови обследуемых Vi-антител. Для постановки испытуемую сыворотку разводят от 1/10 до 1/640, в качестве антигена используют эритроцитарный Vi-диагностикум (взвесь эритроцитов 1 группы крови человека, обработанных формалином и сенсibilизированных Vi-антигеном тифозной палочки).

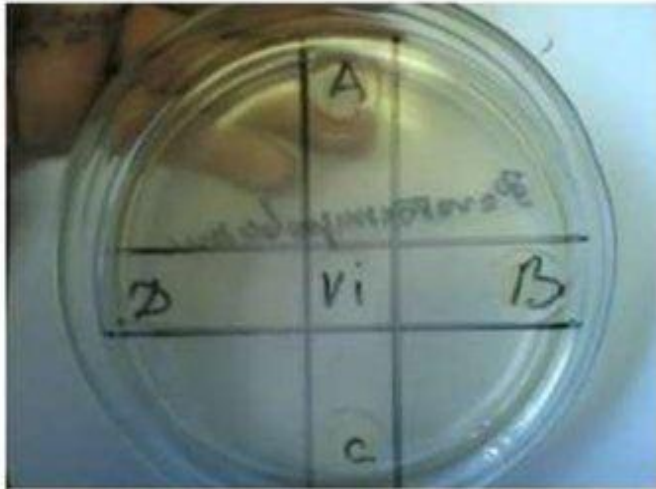
РНГА с сывороткой больного с предполагаемым диагнозом брюшной тиф

Разведение сыворотки	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	K(+)	K(-)
Эритроцитарный O2 диагностикум								
Эритроцитарный O4 диагностикум								
Эритроцитарный O9 диагностикум								
Эритроцитарный Ha диагностикум								
Эритроцитарный Hb диагностикум								
Эритроцитарный Hd диагностикум								

В РНГА определяют титр АТ к Vi АГ S.Typhi.

Диагностический титр - 1:40. Высокие титры Vi-антител характерны для хронических брюшнотифозных бактерионосителей.

# Фаготипирование



Фаготип Vi/D

- Определение фаготипов проводят с помощью специфических сальмонеллезных бактериофагов, которых к настоящему времени известно более 100.
- Установлено, что одни фаги лизируют сальмонеллы, содержащие O-антиген, другие (Vi-фаги) — только штаммы, содержащие Vi-антиген.
- Фаготипы сальмонелл стабильны.
- Метод фаготипирования сальмонелл используется в целях эпидемиологического анализа для выявления источника инфекции.



# Напряженность иммунитета

---

Постинфекционный иммунитет при брюшном тифе и паратифах – гуморальный, напряженный, длительный (не менее 15-20 лет, часто пожизненный). Образуются антитела к О-, Н-, Vi-антигенам: Первыми к концу 1-й недели заболевания появляются антитела к О-АГ, достигая максимума к периоду разгара (14-15 дней), а затем исчезают. Антитела к Н-АГ появляются к концу 2-й недели, достигая максимума в период реконвалесценции и длительно сохраняясь в организме после перенесенного заболевания. Антитела к Vi-АГ обнаруживаются у бактерионосителей брюшного тифа. Постинфекционный иммунитет при сальмонеллезах – гуморальный и клеточный, типоспецифический, ненапряженный и недлительный, опосредован SIgA.

# Специфическая профилактика и лечение

---

- Для специфической профилактики брюшного тифа по эпидемиологическим показаниям используют следующие вакцины: Вакцину брюшнотифозную спиртовую сухую, Вакцину брюшнотифозную Vi-полисахаридную Для поддержания иммунитета необходимы ревакцинации.
- Для экстренной профилактики лицам, которые проживают совместно с больным или которые употребляли продукты и воду, зараженные или подозрительно на заражение *S. Typhi*, назначают бактериофаг брюшнотифозный.
- Специфическое лечение- антибиотики широкого спектра действия
- Соблюдение санитарных и профилактических мер

# Вакцина брюшнотифозная ви-полисахаридная жидкая (ВИАНВАК)

Раствор из капсульного (Vi-Ag), извлеченного из супернатанта культуры *S.typhi*, очищенного

Ферментативными и физико-химическими методами. При производстве вакцины *S.Typhi* выращивают в жидкой питательной среде, затем микроорганизмы инактивируют формалином и отделяют от питательной среды.

Vi-полисахарид осаждают из культуральной среды с помощью гексадецилтриметиламмония бромида.

Vi-полисахарид



# Бактериофаг сальмонеллезный групп А, В, С, D, Е

- Стерильный очищенный фильтрат фаголизатов наиболее распространенных сальмонелл (активность по Аппельману) гр. А - *Salmonella paratyphi A*; гр. В - *S. paratyphi B*, *S. heidelberg*; гр. С - *S. newport*, *S. choleraesuis*, *S. oranienburg*, *S. infantis*; гр. D - *S. dublin*, *S. enteritidis*; гр. Е - *S. anatum*, *S. newlands* - не менее 10<sup>4</sup>; сальмонелл гр. В - *S. typhimurium* - не менее 10<sup>5</sup> - до 1 мл.
- Препарат вызывает специфический лизис сальмонелл серотипов: гр. А - *S. paratyphi A*; гр. В - *S. paratyphi B*, *S. typhimurium*, *S. heidelberg*; гр. С - *S. newport*, *S. choleraesuis*, *S. oranienburg*, *S. infantis*; гр. D - *S. dublin*, *S. enteritidis*; гр. Е - *S. anatum*, *S. newlands*.
- Лечение и профилактика заболеваний и бактерионосительства, вызванных сальмонеллами: гр. А – *S. paratyphi A*; гр. В - *S. paratyphi B*, *S. typhimurium*, *S. heidelberg*; гр. С - *S. newport*, *S. choleraesuis*, *S. oranienburg*, *S. infantis*; гр. D - *S. dublin*, *S. enteritidis*; гр. Е - *S. anatum*, *S. newlands*.



- Для лечения бактериофаг принимают 3 раза в день через рот за 1 час до приема пищи с первого дня заболевания в течение 7-10 суток. При заболевании, характеризующемся слабовыраженным колитическим синдромом, и в период реконвалесценции одновременно с пероральным применением рекомендуется вводить препарат ректально, в виде клизм, вместо 1 приема через рот.
- В профилактических целях препарат рекомендуется применять для предупреждения бактерионосительства, внутрибольничной инфекции, во время групповых заболеваний в организованных коллективах и семьях. Оптимальные схемы использования - ежедневный прием разовой дозы в зависимости от возраста. Продолжительность приема препарата определяется условиями эпидситуации.



# Эритроцитарный сальмонеллезный О-антигенный диагностикум

- Состоит из специфических антигенов сальмонелл сальмонелл серогрупп А, D C D E фиксированных на поверхности эритроцитов. Представляют собой 1 % взвесь формализированных эритроцитов барана, сенсibilизированных антигенами из сальмонелл в фосфатном буферном растворе
- Набор реагентов предназначен для выявления в сыворотке крови человека специфических антител к О-антигенам сальмонелл в реакции пассивной гемагглютинации (РПГА).
- При взаимодействии с сыворотками, содержащими антитела к сальмонеллам, наблюдается феномен агглютинации эритроцитов.



# Сальмонеллезная адсорбированная O-сыворотка для реакции агглютинации



- Предназначен для идентификации с помощью реакции агглютинации (РА) на предметном стекле бактерий рода *Salmonella*, выделенных из биологического материала человека (моча, испражнения, промывные воды желудка, рвотные массы) с целью назначения правильного лечения больного.
- Адсорбированные сыворотки содержат антитела, которые агглютинируют культуры сальмонелл, содержащие гомологичные O-антигены, и не агглютинируют культуры сальмонелл, содержащие гетерологичные O-антигены.

# Благодарю за внимание

---

Тема следующего занятия

## Возбудители дизентерии и эшерихиозов