

# Патогенные вибрионы.

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



# Таксономия

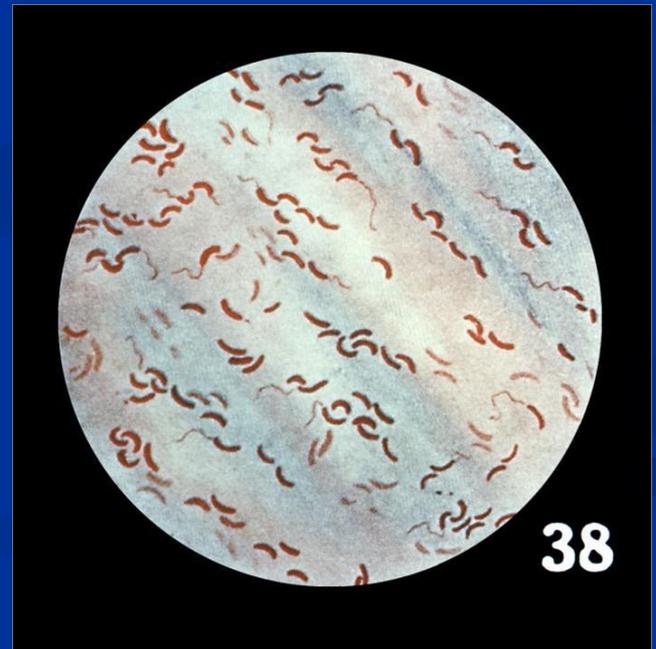
согласно таксономии Берги вибрионы входят в 5 группу- семейство *Vibrionaceae*.

К семейству относят 5 родов.

Медицинское значение имеют:

роды: ***Vibrio***, ***Aeromonas***,

***Plesiomonas***.



# Род *Vibrio*

- прямые или изогнутые грамотрицательные палочки, не образующие спор;
- подвижны с помощью одного или многих полярно расположенных жгутиков;
- растут в аэробных и анаэробных условиях;
- продуцируют оксидазу (исключение *V. metschnikovii*);
- ферментируют глюкозу, некоторые с выделением газа.



# Vibrio

1. Вид *Vibrio cholerae* (типовой вид рода)

а) *V. cholerae* O1 (два биовара - классический и эльтор)

б) *V. cholerae* O139

в) *V. cholerae* non O1 (от O2 до O200 серогруппы)

2. *V. metschnikovii*

3. *V. harveyi*

4. *V. campbellii*

5. *V. parahaemolyticus*

6. *V. alginolyticus*

7. *V. natriegens*

8. *V. vulnificus*

9. *V. nereis*

10. *V. fluvialis*

11. *V. furnissii*

12. *V. splendidus* I

*V. splendidus* II

13. *V. pelagius* I

*V. pelagius* II

14. *V. nigripulchritudo*

15. *V. anguillarum*

16. *V. ordalii*

17. *V. fischeri*

18. *V. logei*

19. *V. proteolyticus*

20. *V. gazogenes*

21. *V. marinus*

22. *V. costicola*

23. *V. mimicus*

24. *V. damsela*

25. *V. hollisae*

26. *V. aestuarianus*

27. *V. diazotrophicus*

28. *V. orientalis*

29. *V. cincinnatiensis*

30. *V. salmonicida*

31. *V. tubiashi*

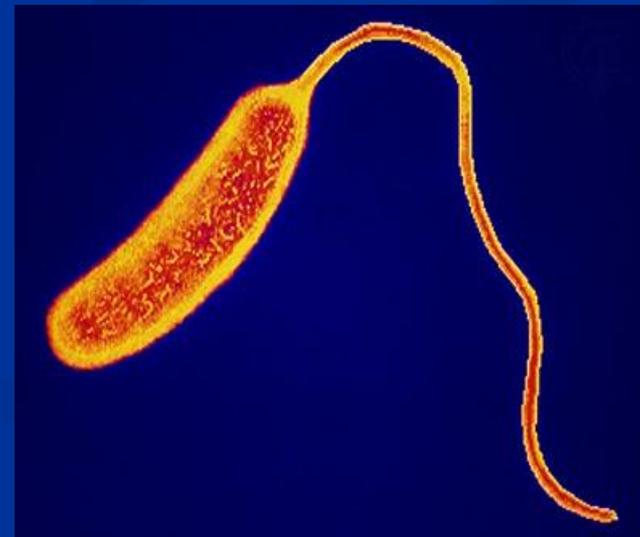
32. *V. mediterranei*

33. *V. carchariae*

# Vibrio cholerae

- V. cholerae открыл в 1854 году Пачини, он и дал название.
- Роберт Кох изучил и дал полное описание свойств классического вибриона.
- В 1906 году Ф.Готлиб на карантинной станции Эль-Тор (Синайский полуостров) выделил второго возбудителя холеры - вибриона Эль-Тор.

- На территории РФ в течении последних пяти лет имели место единичные завозные случаи холеры из республики Таджикистан, Индии, Китая.



# Морфология

Вибрионы- изогнутая в виде запятой  
грамотрицательная палочка размерами  
1,5-4,0x0,2 мкм, монотрих- имеет полярный жгутик,  
снабжённый чехликом. Хорошо окрашивается  
анилиновыми красителями.

Могут образовывать L-формы.

Спор и капсул не образует.

Отличительной морфологической  
особенностью вибриона O 139  
является наличие капсулы.

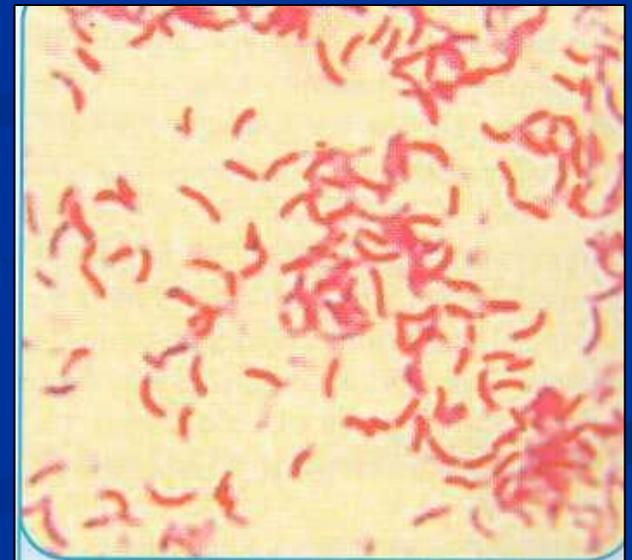
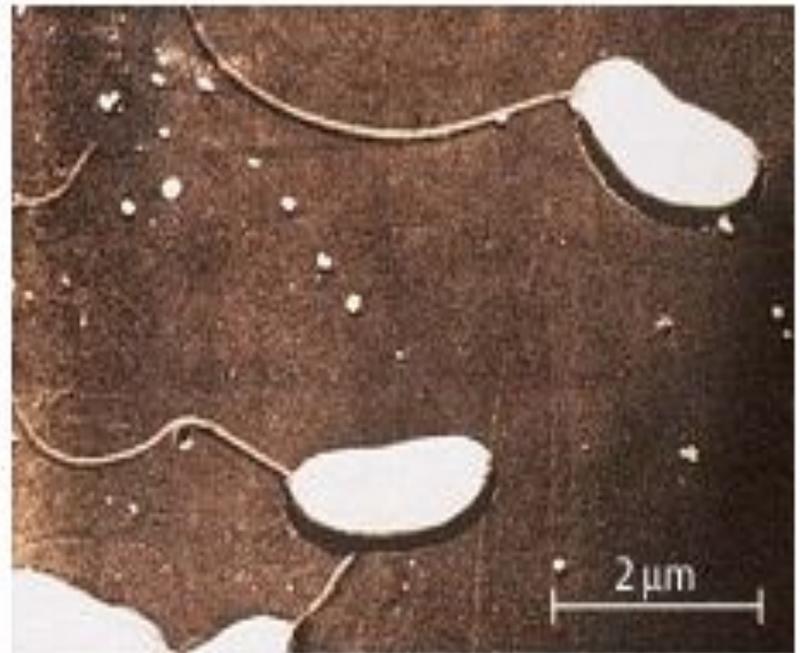


Рис. 3.56. Чистая культура *V. cholerae*. Окраска по Граму.



**B**

*Vibrio cholerae*



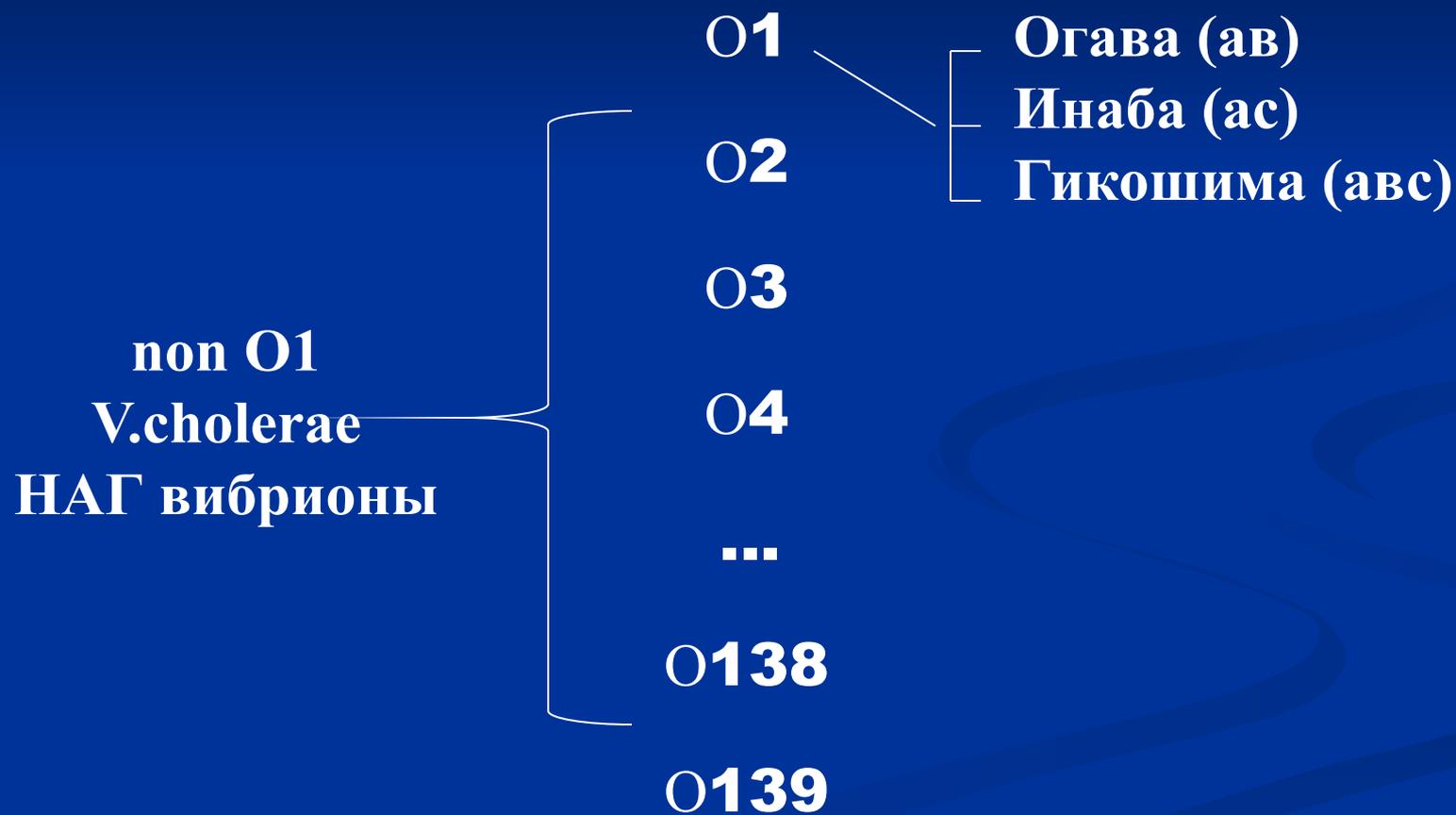
# Антигенная структура

Холерные вибрионы имеют два основных антигена:

- O-антиген типоспецифический, термостабильный.
- H- жгутиковый, термолабильный



# Подразделение *V.cholerae* по O-антигену



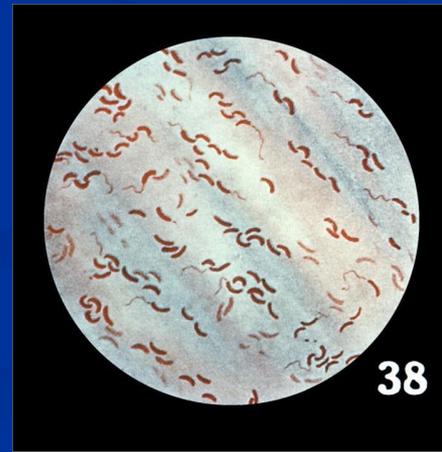
# Резистентность

Возбудители холеры способны к сапрофитному способу существования в водной среде.

- При температуре  $8^{\circ}\text{C}$  размножение возбудителя холеры прекращается.
- При температуре  $5^{\circ}\text{C}$  возбудители холеры могут сохраняться до 4 лет.
- погибают при температуре  $56^{\circ}\text{C}$  - в течение 30 минут и мгновенно - при кипячении.
- Высушивание и действие солнечных лучей губительны для вибриона (погибают через несколько часов). В условиях достаточно высокой влажности, вибрионы сохраняются в течение 2-3 дней.



- Вибрион особо чувствителен к воздействию кислот, даже в самых слабых концентрациях.
- Дез.средства в невысоких концентрациях вызывают гибель холерных вибрионов в течение нескольких минут (хлорсодержащие препараты в концентрациях 0.2-0.3 мг/л).
- Губительно действуют на вибрион тетрациклин, нитрофураны.



# Биовары *V.cholerae* O1

	Классический	Эль-Тор
Гемолиз эритроцитов барана	-	+*
Реакция Фогеса-Проскауэра	-	+(-)
Агглютинация куриных эритроцитов	-	+(-)
Чувствительность к полимиксину В (50 ЕД)	+	-(+)
классическому фагу IV	+	-
фагу Эль-ТорV	- (+)	+/-

\* выделяемые в последние годы штаммы не обладают гемолитической активностью. В МУ 4.2.1097-02 признак исключён



Воронкообразное  
разжижение желатины  
возбудителем холеры

## Биохимическая активность

- По способности ферментировать арабинозу, маннозу, сахарозу вибрионы патогенных видов распределены по разным группам Хейберга

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Арабиноза	-	-	+	+	-	-	+	+
Манноза	+	-	+	-	+	-	+	-
Сахароза	+	+	+	+	-	-	-	-

# Культивирование холерных вибрионов

Необходима щелочная рН.

## Транспортные среды:

- 1% пептонная вода с рН  $8,5 \pm 0,1$
- 1% пептонная вода с рН  $8,5 \pm 0,1$  с теллуридом калия
- 2% раствор поваренной соли

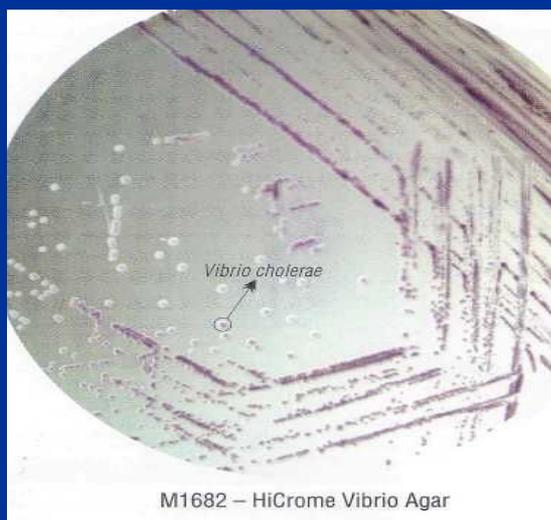


# Элективные и элективно-дифференциальные среды для холерных вибрионов

Среда	pH	Элективный фактор	Дифференциальный фактор	НТД
Щелочной МПА	8,0±0,2			МУ 4.2.1097-02 Инструкция 01-19/50-11
СЭДХ	8,8±0,2	Препарат ПТ	Сахароза/ бромтимоловый синий	МУ 4.2.1097-02 Инструкция 01-19/50-11
TCBS	8,6±0,2	Желчь	Сахароза/ бромтимоловый синий, тимоловый синий	МУ 4.2.1097-02 (с.15) Инструкция 01-19/50-11
Среда Монсура	7,6	Желчь, теллурид калия		Инструкция 01-19/50-11
Щелочной агар с вторичными алкилсульфатами натрия	7,8-8,2	Моющее средство "Прогресс"		Инструкция 01-19/50-11

# Культуральные свойства

- **Щелочной агар** – круглые, гладкие, плоские, голубоватые, гомогенные с ровными краями, прозрачные в проходящем свете и светло-серые с голубоватым или зеленоватым оттенком в косом свете
- **TSBS и СЭДХ** – полупрозрачные, ярко желтые на зеленом или синем фоне среды
- **Атипичные колонии:** мутные с плотным центром, шероховатые, коричневые или желтые



TCBS – агар

## Характер роста вибрионов на среде TCBS

Организм	Цвет колоний %		Интенсивность роста	Клиническая значимость
	Зеленый	Желтый		
<i>V. cholerae</i>	0	100	++++	++++
<i>V. mimicus</i>	100	0	++++	++
<i>V. metschnikovii</i>	0	100	++	+/-
<i>V. hollisae</i>	100	0	+	++
<i>V. damsela</i>	95	5	++ при 36 °C	++
<i>V. fluvialis</i>	0	100	++++	++
<i>V. furnissii</i>	0	100	++++	++
<i>V. alginolyticus</i>	0	100	++++	++
<i>V. parahaemolyticus</i>	99	1	++++	++++
<i>V. vulnificus</i>	90	10	++++	+++
<i>V. carchariae</i>	0	100	++++	+/-
<i>V. cincinnatiensis</i>	0	100	+	+/-

Признаки	V. cholerae	V. alginolyticus	V. cincinnatiensis	V. damsella	V. fluvialis	V. fumissii	V. harveyi	V. hollisae	V. metschnikovii	V. mimicus	V.paratyphicus	V. vulnificus
Морфология* Подвижность	+	+	+	d	d	+	-	+/-	d	+	+	+
Роение на агаре	-	+	-	-	-	-	d	-	-	-	d	-
Индофенолоксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Образование:												
газа из глюкозы												
индола	+	+	-	-	-	+(")	+	+	+(-)	+	+	+
ацетилметилкарбинола	+(")	+	+/-	+	-	-	d	-	+	-	-	-
Ферментация:												
лактозы	-	-	-	-	-	-	-	-	+(")	"(+)	-	d
арабинозы	-	-	+	-	+	+	-	+	-		+I-	-
сахарозы	+	+	+	-	+	+	d	-	+	-	-	-
целлобиозы	-	-	+	-	-(+)	-(+)	d	-	-	-		+
маннита	+	+	-	-	+	+	d	-	+	+	+	+(")
салицина	-	-	+	-	+/-	-	-	-	-	-	-	+
Аргининдигидролаза	-	-	-	+	+		-	-	-(+)	-	-	-
Лизиндекарбоксилаза	+	+	+	+(")	-	-	+	-	+(")	+	+	+
Орнитиндекарбоксилаза	+	d	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
P-галактозидаза	+	-	+/-	-	d	d	-	-	d	+	-	d
Нитратредуктаза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Амилаза	4	+	+	X	+	d	+	X	+	-	+	+
Желатиназа	d	+	-	-	+/-	d	-	-	d	d	+	d
Рост в 1% пептонной воде с NaCl:	0%	+	-	-	"(+)	-(+)	-	-	-(+)	+	-	-
	3%	+	+	+	+	+	+		-(+)	+	+	+
	6%	d	+	+	+	+	+	d	d	d	+	d
	10%	-	+	-	-	-(+)	-	-	-	-	-	-
Рост при температуре:												
4 "C	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-

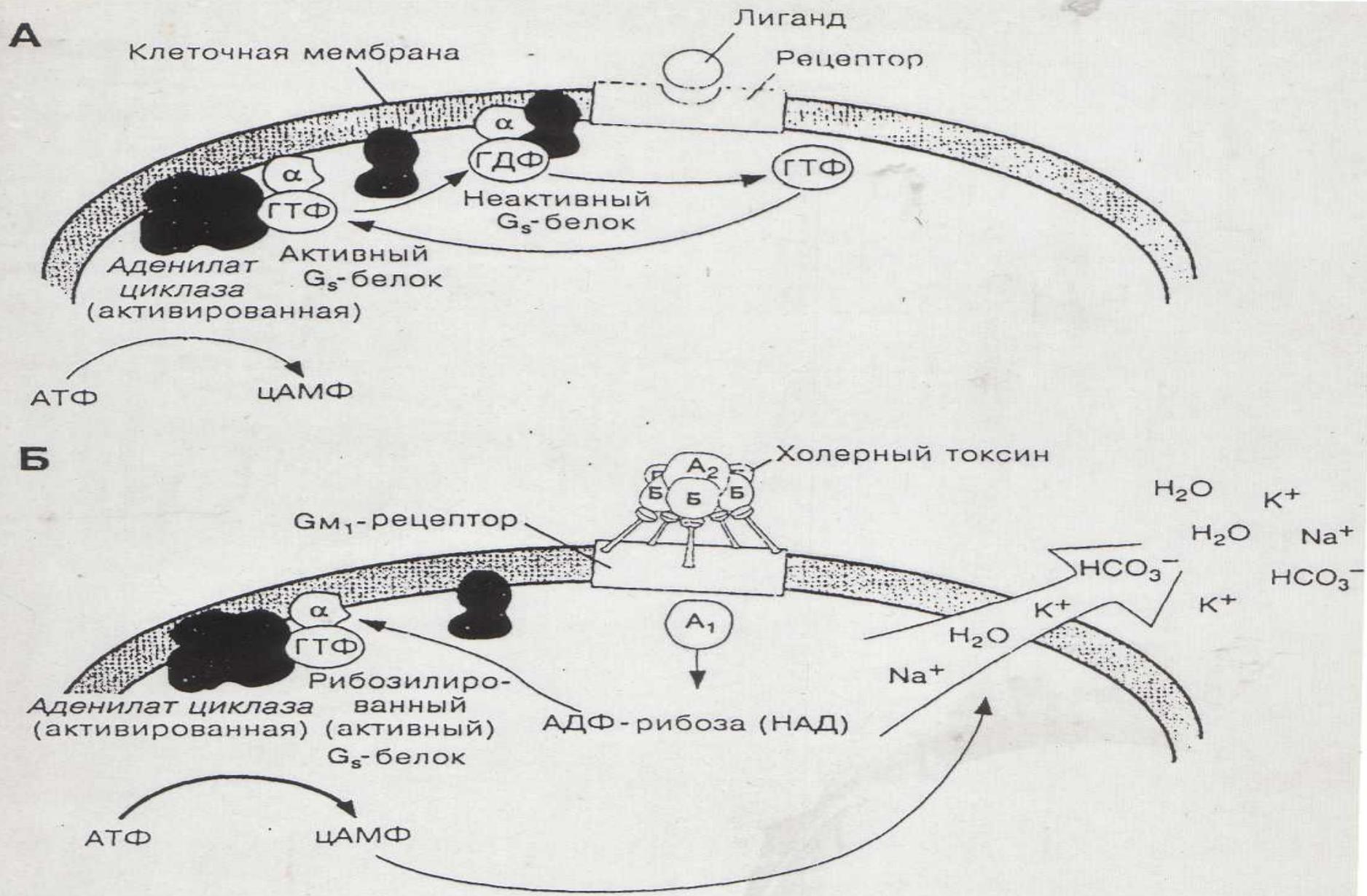
# Факторы патогенности холерного вибриона

- **токсин-корегулируемые пили адгезии** – ген *tcp* на «острове патогенности» хромосомы
- **Холерный токсин (холероген)** – гены *ctxAB* (или *vctxAB*) в составе умеренного нитевидного фага.

- Экзотоксин- холероген- термолабильный белок. Инактивируется формалином. Состоит из 2-х субъединиц А и В.

Частица В (пять пептидов) определяет взаимодействие с эпителиальными клетками и Ag специфичность.

Частица А- активирует внутриклеточную аденилатциклазу, приводит к повышению ц-АМФ и выходу электролитов и жидкости из клеток.



Принципиальная схема действия холерного экзотоксина.

## Факторы вирулентности V.cholerae

Фактор вирулентности	Эффект
Экзотоксин(холероген)	Нарушает водно-солевой обмен, действие, приводящее к гибели эпителия тонкой кишки
эндотоксин	Угнетение фагоцитоза, инфекционно-токсические проявления, понижение кровяного давления
Фибринолизин, гиалуронидаза	Ферменты агрессии

## ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ТОКСИНЫ

- ZOT (zonula occludens toxin) и ACE (accessory cholera enterotoxin) токсины, цитотоксический комплекс RTX, цитототонический фактор Cef, термостабильный токсин ST, NMDCY токсин (non membrane damaging cytotoxin), шигаподобный токсин Shb, No7 токсин (novel toxin), cholix toxin.
- **Фактор проницаемости** – нарушает проницаемость капилляров и клеточных мембран кишечной стенки.
- **Факторы адгезии и колонизации** – белки наружной мембраны, фимбрии, не менее важным фактором вирулентности холерных вибрионов являются токсин-корегулируемые пилы адгезии или TCR (от англ. - toxin-coregulated pilus) - ключевой фактор колонизации. За синтез пилей TCR отвечают гены tcrA-F, среди них ген tcrA - за биосинтез основной субъединицы пилей.

# ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

- **Ферменты агрессии:**
  - **муциназа** – способствует разрушению муцина на эпителиальных клетках, что облегчает всасывание токсических продуктов и открывает доступ к рецептору энтероцитов - ганглиозиду GM1 ;
  - **нейраминидаза** – обеспечивает взаимодействие с микроворсинками;
  - **протеаза** – способствует разрушению белков;
  - **гемолизин *V.cholerae eltor*** – разрушает эритроциты;
  - **гемагглютинин *V.cholerae eltor*** – способствует агглютинации эритроцитов;
  - продуцируют **лецитиназу, триглицероллипазу.**
- **Высокая подвижность** – жгутик состоящий из белка флагеллина.

# Этиопатогенез

Источник инфекции: больной или носитель

Пути передачи:

- Фекально-оральный
- Водный
- Контактной-бытовой

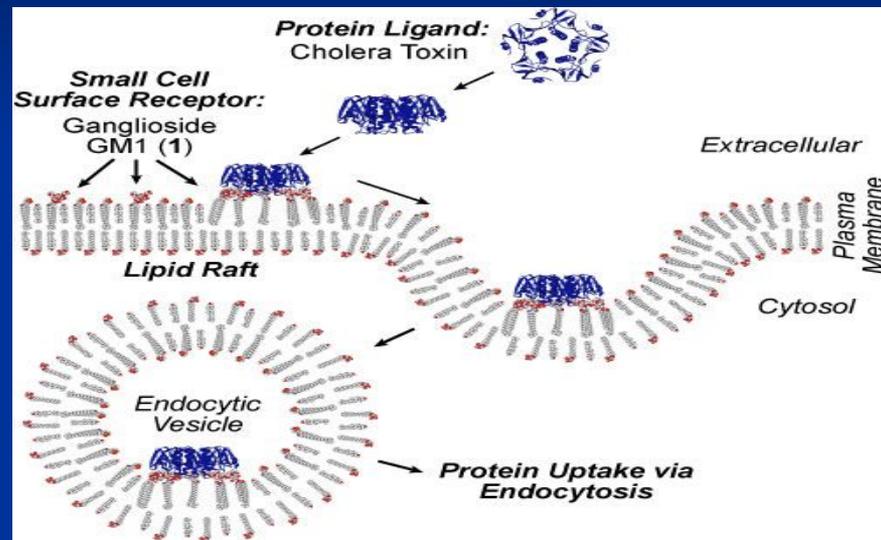


Инкубационный период от нескольких часов до 5 дней.

# ПАТОГЕНЕЗ ХОЛЕРЫ

После адгезии и колонизации слизистой тонкого кишечника возбудитель остается на поверхности клеток, не вызывая воспаления (I тип взаимодействия).

Образование комплекса токсина с ганглиозидом GM1 запускает эндоцитоз. Дальнейшие события полностью определяются действием холерогена.



# ПАТОГЕНЕЗ ХОЛЕРЫ

Потеря электролитов и воды приводит к обезвоживанию организма:

- Падает артериальное давление;
- Нарушается микроциркуляция;
- Развивается гипоксия тканей;
- Метаболический ацидоз;
- Гипокалиемия;
- Острая почечная недостаточность;
- Сердечная недостаточность;
- Возможен гиповолемический шок (алгид).

# Формы заболевания

- Типичные: желудочно-кишечные
- Атипичные: молниеносная, сухая, стертая, бессимптомная,
- Вибрионосительство







# Иммунитет

- Антимикробный, антитоксический
  - Относительно стойкий, видоспецифический
- С накоплением вибриоцидных АТ IgM и IgG.

Поствакцинальный иммунитет от 6 мес. до года.

## Методы исследования:

- Бактериологический;
- Бактериоскопический;
- Серологический;
- Молекулярно-генетический.



# Исследования, выполняются в лабораториях, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами III гр. патогенности

- Исследование материала от больных, контактных из окружающей среды до установления отрицательного результата или выделения вибрионов.
- Идентификация вибрионов: мазок, оксидаза, рост на полиуглеводной среде, слайд-агглютинация с холерными сыворотками O1, Oгава, Инаба, PO, O 139

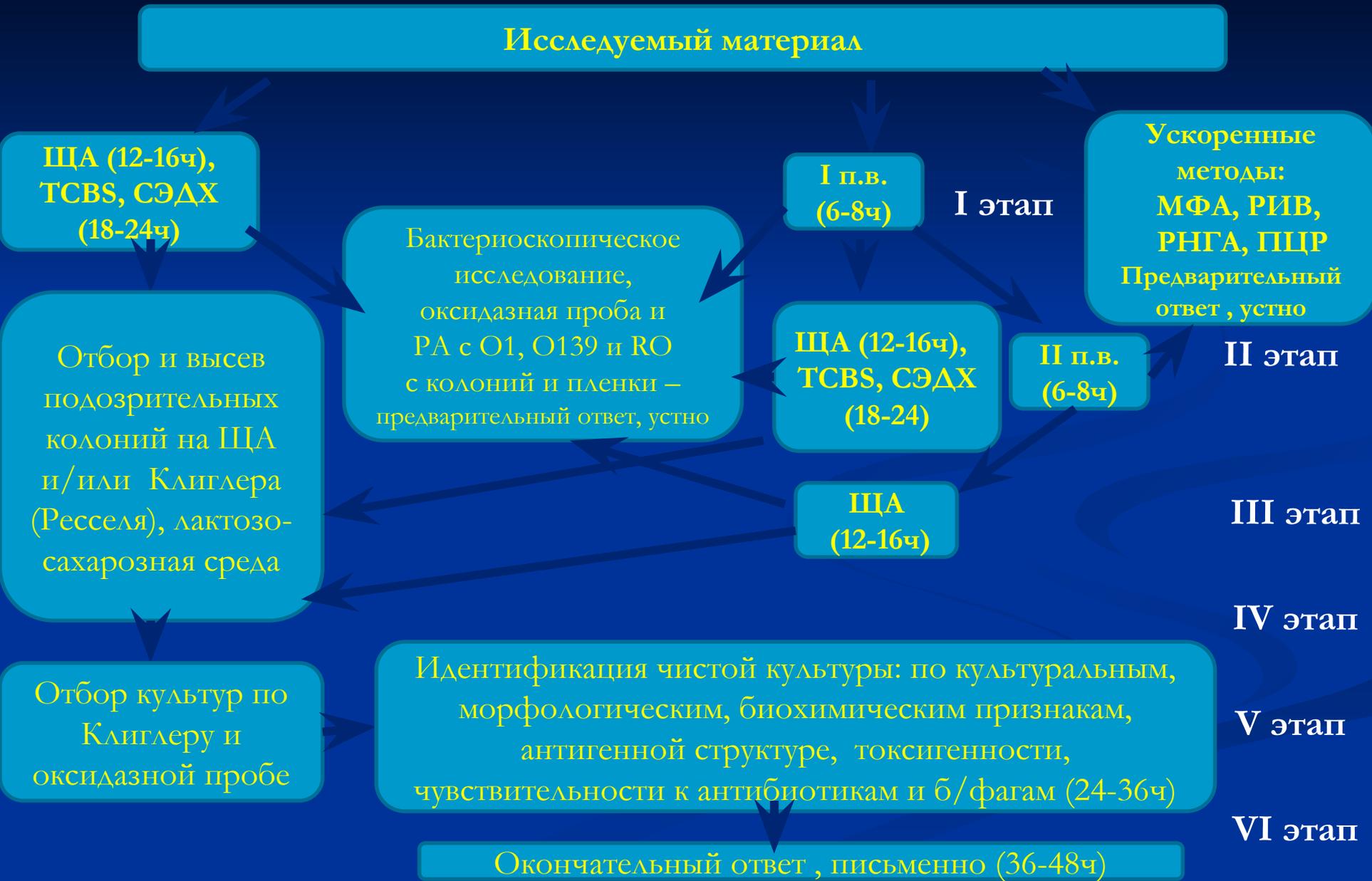
# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

## ХОЛЕРЫ (МУК 4.2.2218-07)

### МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ:

- Испражнения и рвотные массы (10-20 мл);
- Желчь – порции В и С (по 10-12 мл);
- Трупный материал (отрезки по 10 см верхней, средней и нижней частей тонкого кишечника и желчный пузырь целиком. Содержимое кишечника и желчь - по 10 мл);
- Предметы, загрязненные испражнениями (постельное и нательное белье и др.).

# Этапы исследования:



# I этап

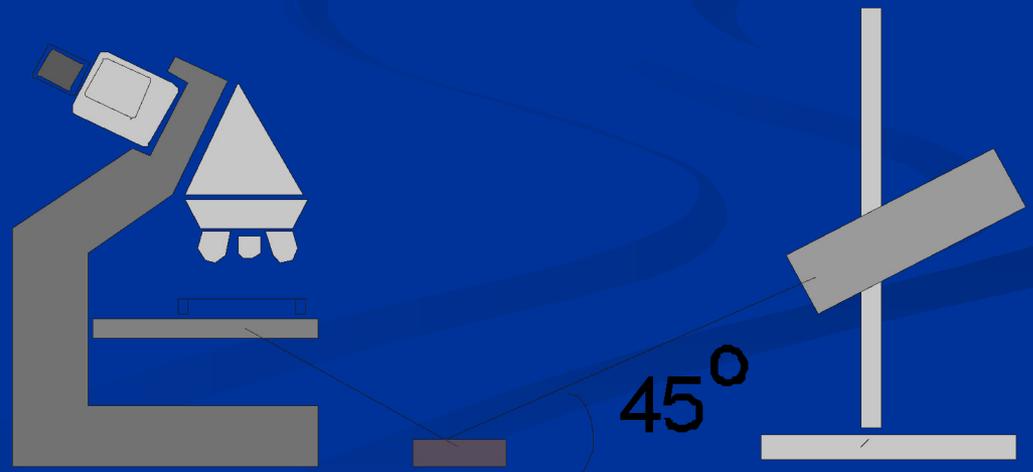
- Исследование нативного материала ускоренными методами: **МФА, РИВ, РНГА, ПЦР. Предварительный ответ, устно.**
- 
- Исследуемый материал (фекалии) от больных в объёме 0,5-1,0 мл засевают в 50-100 мл накопительной среды – 1% пептонную воду. Если материал взят в колбу или во флакон с 50 мл 1% пептонной воды, то её используют как 1 среду накопления. Если материал взят в пробирку, то её содержимое выливают в колбу с 50 мл 1% пептонной воды (1 среда накопления).
- Одновременно петлей материал засевают на щелочной агар и одну из элективных сред ТСBS и др. Посевы помещают в термостат при температуре 37°C.

## II этап

- Через **6-8 часов** с 1 среды накопления делают посев на 2 среду накопления ( 5-8 мл 1% пептонной воды) и одновременно большой бактериологической петлей с поверхностного слоя 1 среды накопления делают высев на щелочной агар и одну из элективных дифференциально-диагностических сред.
- Если в 1 среде накопления видна пленка и лёгкое помутнение среды, то делают мазок, смотрят подвижность, при возможности ставят с поверхностной пленки ориентировочную слайд-агглютинацию с холерной O1 сывороткой.

## III этап

- Через **12-16 часов**, если есть рост на 2 среде накопления, делают высев на щелочной агар (3 чашка).
- Чашки просматривают в проходящем свете или с помощью лупы. Если на чашках есть подозрительные колонии, отбор колоний можно начинать уже на III этапе через 10-12 часов от начала исследования, в остальных случаях – через 18-24 часа.



## IV этап

- Через **18-24 часа** - отбор подозрительных колоний в посевах на плотных средах нативного материала, а также в высевах из 1 и 2-ой накопительных сред. На щелочном агаре холерные вибрионы в S-форме вырастают в виде круглых, гладких, плоских, голубовато-прозрачных средней величины колоний с ровными краями. Через 10-12 ч их диаметр не превышает 1 мм, а к 18-24 ч достигает 2-3 мм. Темпы роста на элективных средах замедлены, поэтому просмотр следует проводить через 18-20 ч инкубации в термостате при температуре 37°C. Колонии на элективной среде TCBS имеют ярко-желтую окраску на зеленом фоне среды, полупрозрачные.

## IV этап

- Из колоний, выросших на щелочном агаре, делают мазок, окрашивают по Граму, смотрят подвижность и ставят микроагглютинацию на стекле с холерной сывороткой O1 в разведении 1:50, 1:100. Если реакция положительная, то ставят реакцию агглютинации с варианто-специфическими сыворотками Инаба, Отава в том же разведении.
- При отборе колоний можно пользоваться тестом на оксидазу, применяя систему индикаторную бумажную (СИБ). Холерный вибрион дает положительную реакцию на оксидазу (фиолетовое или ярко красное окрашивание в зависимости от индикатора).
- Далее делают посеvy со щелочного агара на полиуглеводную среду Клиглера (Ресселя). При положительной реакции происходит изменение цвета столбика (сахароза) без изменения цвета скошенной части (лактоза) и без образования газа и сероводорода. Далее подозрительные колонии отсевают на косой или щелочной агар для выделения чистой культуры и проводят идентификацию на холеру.

## Вэтап: Ідентіфікацыя культур холерных вібрыонаў

- Культуры, выдзеленыя на розных этапах, ідэнтыфіцыруюць с целью определения их принадлежности к виду *Vibrio cholerae* соответствующей серогруппы (O1, O139 и др.).
- **Предварительную идентификацию** проводят по комплексу признаков, включая морфологию колоний, подвижность, пробу на оксидазу и агглютинацию на стекле с сыворотками O1 (1:100), RO (1:50) и O139. Для культур, положительно реагирующих с сывороткой O1, устанавливают принадлежность к серологическим вариантам Инаба и Огава также в слайд-агглютинации.
- Окончательную идентификацию культур, выделенных на полиуглеводной среде или щелочном агаре, агглютинирующихся на стекле, проводят по **сокращенной или полной схеме**.

## Сокращённая схема идентификации:

- Морфология и подвижность микробных клеток
- Оксидазная проба
- Слайд-агглютинация с O1 или O139 сывороткой
- Развернутой РА с холерными сыворотками O1, Инаба, Отава, RO
- Чувствительность к холерным диагностическим фагам (классическому и эльтор)

- O/F тест и отношение к отдельным углеводам (манниту, маннозе, сахарозе и арабинозе в средах Гисса, а также лизину, орнитину и аргинину)

## Оценка эпидемической значимости:

- Гемолитическая активность по Грейгу
- Чувствительность к фагам холерным эльтор stx<sup>+</sup> и stx<sup>-</sup>

**Ответ выдается письменно**

# БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ВИДОВ V. CHOLERAЕ

Признаки	V. cholerae cholera	V. cholerae eltor	V. cholerae bengalii
Реакция Фогеса-Проскауэра (образование ацетоина при ферментации глюкозы)	± (чаще -)	± (чаще +)	± (чаще +)
Чувствительность к полимиксину В (50 ед/мл)	+	-	-
Чувствительность к классическому монофагу (С или 4 группа по Мукерджи)	+	-	-
Чувствительность к Фагу Эль-Тор V группы (по Мукерджи)	-	+	-
Гемолиз эритроцитов барана	-	±	±
Агглютинация куриных эритроцитов	-	+	+
Гексаминовый тест	-	+	-
Агглютинация с О-сывороткой:	+	+	+
O1	+	+	-
O139	-	-	+

# Идентификация атипичных культур холерных вибрионов.

- Антигенная изменчивость холерных вибрионов O1 может выражаться в ослаблении до 1/4 титра или утрате агглютинабельности холерными сыворотками O1, Инаба, Огава. Встречаются штаммы, агглютинирующиеся только холерной сывороткой O1 серогруппы и не реагирующие с варианто-специфическими сыворотками (Инаба и Огава), что делает невозможным установление их серовара.

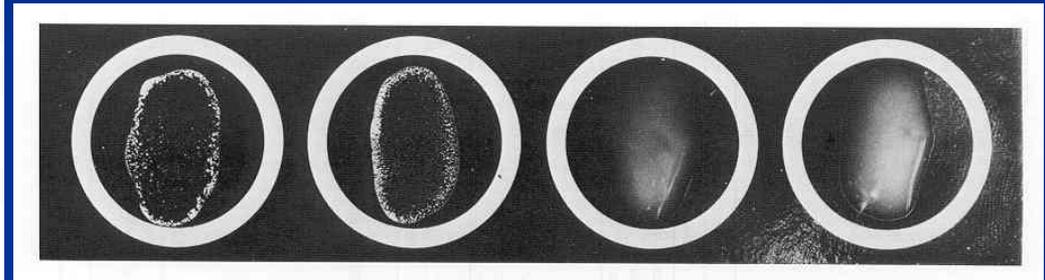
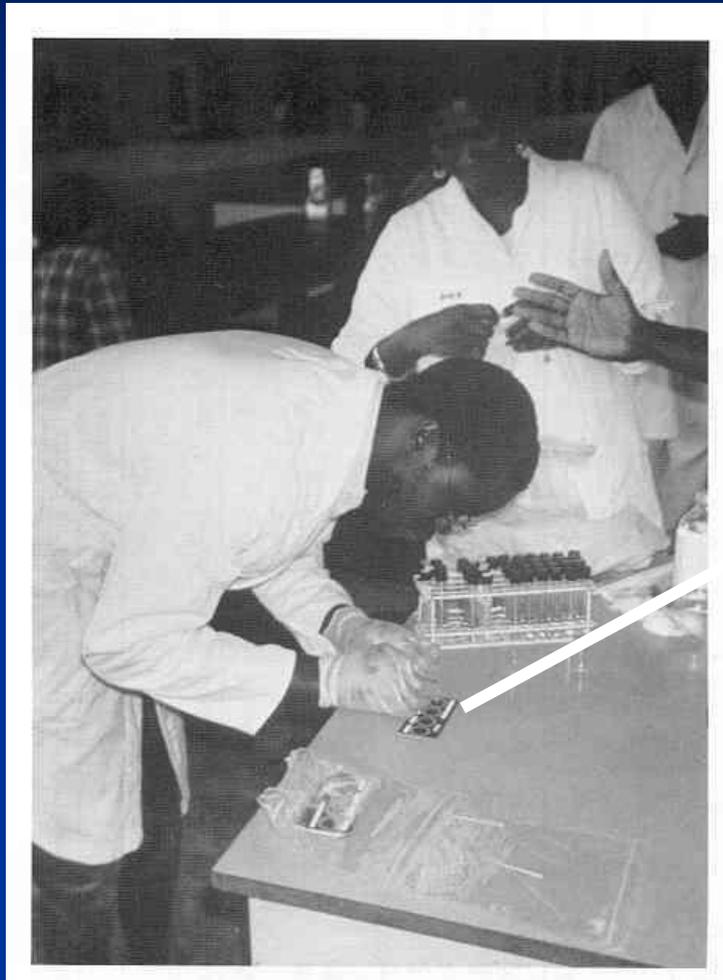
- В случае **S-R** диссоциации культуры холерных вибрионов агглютинируют RO-сывороткой. При этом в одних случаях штаммы агглютинируются всеми холерными сыворотками, в т.ч. и RO, их обозначают как SR-варианты, в других - измененные холерные вибрионы в диагностических титрах агглютинируются только с RO-сывороткой и не агглютинируются холерными сыворотками O1, Инаба и Огава, их относят к R-вариантам.

- В последние годы возросла частота встречаемости резистентных к диагностическим холерным фагам штаммов среди холерных вибрионов O1, выделяемых как от людей, так и из объектов окружающей среды.

# Ускоренные методы диагностики

- Реакция иммобилизации вибрионов
- РИФ (МФА),
- ПЦР для обнаружения *ctx*- гена
- РНГА с применением эритроцитарных или полимерных иммуноглобулиновых O1, O139 диагностикумов
- РНаг

# Латекс-агглютинация с образцами жидкого стула



+

+

-

-

J. J. FARMER III

F. W. HICKMAN-BRENNER *The Genera Vibrio and  
Photobacterium// Procariotae*

**Схема оценки эпидемической значимости *Vibrio cholerae* eltor**  
**по чувствительности к бактериофагам ctx<sup>+</sup> и ctx<sup>-</sup>**  
**и гемолитической активности**

Группы	Варианты	Гемолиз по Грейгу	Чувствительность к фагам		Оценка эпидемической значимости
			ctx <sup>+</sup>	ctx <sup>-</sup>	
I	1	-	+	-	Эпидемически опасны
II	2	-	-	-	Для оценки эпидемической значимости необходимы дополнительные исследования на наличие генов ctx АВ и tcp А или определение токсигенности на кроликах-сосунках
	3	-	+	+	
	4	+	+	+	
	5	+	+	-	
III	6	+	-	+	Эпидемически не опасны
	7	+	-	-	
	8	-	-	+	

- Окончательный положительный ответ должен быть выдан устно и письменно через 36-48 часов по результатам полной, сокращенной или ускоренной идентификации выделенной культуры с определением вида, серогруппы (и сероварианта для O1), биовара, эпидемической значимости и антибиотикограммы.
- На культуры, которые агглютинируются холерной сывороткой O1 до 1/4 титра, но не чувствительны к фагам в рабочем разведении, также выдают положительный ответ о принадлежности культуры к *Vibrio cholerae* O1.

- **Окончательную оценку вирулентности холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп дают в специализированных лабораториях по данным молекулярного зондирования на ген холерного токсина в реакции ПЦР.**
- **Отрицательный ответ** выдают через 36-48 часов - только после окончания исследования по полной схеме.

## Серологический метод:

- Определение агглютининов в сыворотке крови (развернутой РА – серовары Огава, Инаба и О139 (ДТ – 1:40 и ↑); РНГА (ДТ – 1:40 и ↑); РНАг (ДТ – 1:50 (1:80) и ↑)
- Определение вибриоцидных антител (РВА) в сыворотке крови (вибриоцидным титром – гибель не менее 50% клеток холерного вибриона)
- Определение токсиннейтролизующих антител в сыворотке крови (РНГА с эритроцитарным холерным энтеротоксическим диагностикумом (ЭХЭД) - ДТ – 1:160 и ↑)

## ■ Критерии ЧП:

- в неэндемических районах – *единичный подтвержденный местный случай;*
- в эндемических районах – *резкое повышение заболеваемости по сравнению с обычным уровнем, особенно при появлении множественных очагов и летальных исходов*



Примерный штат лаборатории на 1000 анализов в сутки  
(700 от людей и 300 – воды) при 36-часовой рабочей  
неделе по МУ 3.4.1030-01

№	Функциональная группа	Врачи	Лабо- ранты	Сани- тарки
1	Группа приема материала	-	7	-
2	Группа пересевов	-	6	-
3	Группа просмотра п-в и отбора колоний	7	3	-
4	Группа идентификации и уск. д-ки	7	9	-
5	Группа обеззараживания материала	-	5	-
6	Группа мойки посуды и стерилизации	-	3	22
7	Группа розлива и подготовки сред	-	8	-
8	Группа регистрации и выдачи ответа	1	3	-
9	Группа мат.-тех. обеспечения	-	1	8
	<b>Итого:</b>	<b>15</b>	<b>45</b>	<b>30</b>

# Этиотропная терапия

- Антибиотики (тетрациклин, доксициклин),  
Антибиотик резерва- ципрофлоксацин
- Симптоматическая терапия



# Специфическая профилактика

Вакцинация по эпидемическим показаниям.

- Холероген-анатоксин
- Химическая холерная вакцина
- Корпускулярная убитая вакцина



# Галофильные вибрионы

Большой вклад в изоляцию и исследование галофильных вибрионов был внесен японскими исследователями Т. Фуджино и Р. Саказаки.



Галофильные вибрионы широко распространены в воде морей и океанов. Они обнаружены в морских гидробионтах (рыба, моллюски), водорослях, иле и соленой воде.

Известно более 30 видов галофильных вибрионов, причем 17 из них способны вызывать заболевания у человека



Название вибриона	Вызываемые заболевания
<i>V.parahaemolyticus</i>	Гастроэнтериты, раневые инфекции и инфекции глаз
<i>V.alginolyticus</i>	Раневые инфекции, наружные отиты
<i>V.furnissii</i>	Гастроэнтериты
<i>V.hollisae</i>	Гастроэнтериты
<i>V.damsela</i>	Раневые инфекции
<i>V.vulnificus</i>	Септицемии или раневые инфекции, пневмонии, эндометриты
<i>V.fluvialis</i>	Гастроэнтериты, раневые инфекции

# Морфология

- В мазках галофильные вибрионы имеют вид прямых или слегка изогнутых палочек с закругленными концами длиной до 1-3 мкм, шириной 0,2-0,4 мкм, лежащих хаотично отдельно друг от друга.
- характерен полиморфизм. Могут встречаться шаровидные формы, в некоторых случаях образуются нити.
- Спор и капсул галофильные вибрионы не образуют. Хорошо красятся анилиновыми красителями, грамотрицательны.
- подвижны благодаря наличию полярно расположенного жгутика или пучка жгутиков.

# АГ- свойства

О-АГ соматический - термостабилен, выдерживает нагревание до  $+100^{\circ}\text{C}$ , не разрушается под действием спирта и соляной кислотой

К-АГ поверхностно-капсульный - термолабилен, причем их сочетание стабильно.

Наборы агглютинирующих О- и К-сывороток для серологического типирования выпускаются пока только в Японии.

- Н-АГ жгутиковый - термолабилен, неспецифичен, встречается у всех вибрионов в жгутиках.

# Культуральные свойства

Мезофилы, размножаются при  $t^{\circ}$  от  $+12,8^{\circ}\text{C}$  до  $+43^{\circ}\text{C}$   
(оптимальная температура  $+35^{\circ}\text{C}$ ,  $+37^{\circ}\text{C}$ ).

Факультативные анаэробы,

хорошо растут на питательных средах с  
обязательным содержанием  $\text{NaCl}$  от  $0,5\%$  до  $10\%$ .  
(в жидких средах галофильные вибрионы растут  
при более высоких концентрациях  $\text{NaCl}$ ).

- концентрация водородных ионов (pH) - от  $6,0$  до  $10,0$  (оптимальная  $7,5-8,5$ ).

- На плотных средах образуют разнообразные по морфологии формы колоний и менее прозрачные. Характерен феномен роения.
- Для культивирования галофильных вибрионов используют питательные среды: Касаткиной, ТСBS-агар, среды Эндо, Плоскирева, щелочной агар и пептонную воду с 3% NaCl.



## Характер роста вибрионов на среде TCBS

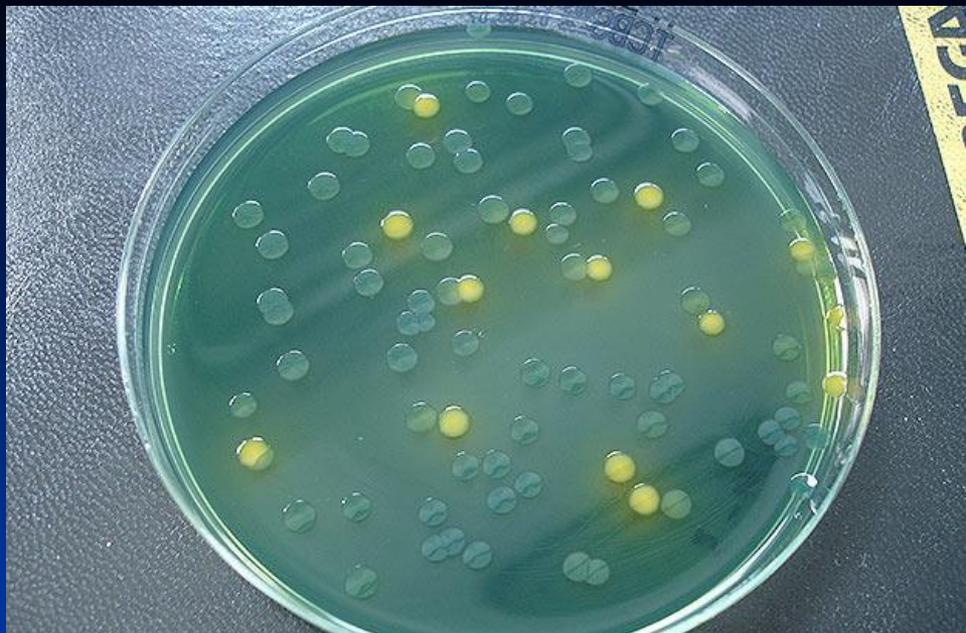
Организм	Цвет колоний %		Интенсивность роста	Клиническая значимость
	Зеленый	Желтый		
<i>V. cholerae</i>	0	100	++++	++++
<i>V. mimicus</i>	100	0	++++	++
<i>V. metschnikovii</i>	0	100	++	+/-
<i>V. hollisae</i>	100	0	+	++
<i>V. damsela</i>	95	5	++ при 36 °C	++
<i>V. fluvialis</i>	0	100	++++	++
<i>V. furnissii</i>	0	100	++++	++
<i>V. alginolyticus</i>	0	100	++++	++
<i>V. parahaemolyticus</i>	99	1	++++	++++
<i>V. vulnificus</i>	90	10	++++	+++
<i>V. carchariae</i>	0	100	++++	+/-
<i>V. cincinnatiensis</i>	0	100	+	+/-

# CHROMagar™ Vibrio



Патоген Хромогенный Соли

CHROMagar



- При росте в жидких средах галофильные вибрионы образуют плотную, грубую пленку, или она вообще может отсутствовать.

# Резистентность

- Сохраняют жизнеспособность при температуре  $+4^{\circ}\text{C}$  в течение 2-3 суток. При этой температуре происходит постепенное отмирание клеток, но единичные особи выживают до 8 суток.
- При комнатной температуре ( $+18^{\circ}\text{C}$ ,  $+20^{\circ}\text{C}$ ) галофилы способны выживать длительное время. При нагревании до  $+60^{\circ}\text{C}$ ,  $+80^{\circ}\text{C}$  отдельные клетки выживают в течение 15 минут. При низких температурах – они могут выживать до 1-2 месяцев.
- Вибрионы чувствительны к левомецетину, тетрациклину, фуразолидону, стрептомицину, полимиксину В, рифампицину, гентамицину.

# Распределение галофильных вибрионов, патогенных для человека по группам Хейберга

Виды вибрионов	Ферментация			Группа Хейберга
	Арабино за	Манноза	Сахароз а	
<i>V.fluvialis</i>	+	+	+	III
<i>V.vulnificus</i>	-	+	-	V
<i>V.alginolyticus</i>	-(+)	+	+	I,III
<i>V.parahaemolyticus</i>	+(-)	+	-	VII,V
<i>V.hollisae</i>	+	-(+)	+	VIII,VII
<i>V.furnissii</i>	+	+(-)	+	III,IV
С образованием газа				
<i>V.damsela</i>	-	+	-	V

# Основные свойства галофильных вибрионов

ПРИЗНАКИ	Виды галофильных вибрионов						
	<i>V.fluvialis</i>	<i>V.vulnificus</i>	<i>V.alginolyticus</i>	<i>v.parahaemolyticus</i>	<i>V.hollisae</i>	<i>V.furnissii</i>	<i>V.damsela</i>
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+
Тест Хью-Лейфсона	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Чувствительность к O/129	+	+	+	+	+	+	+
Образование газа из глюкозы	-	-	-	-	-	+	+
Образование газа из арабинозы	+	-	-	+	-(+)	+	+
Образование газа из маннозы	+	+	+	+	-(+)	+	+
Образование газа из сахарозы	+	-	+	-	-	+	-
Ферментация лактозы	-	+	-	-	-	-	-
Ферментация целлобиозы	-(+)	+	-	-	-	-(+)	-
Ферментация маннита	+	+	+	+	-	+	-
Ферментация салицина	-	+	-	-	-	-	-
Образование ацетилметилкарбинола	-	-	+	-	-	-	+
Рост с 6%NaCl	+	+	+	+	+	+	+
Рост с 10%NaCl	-(+)	-	+	-	-	-	-
Восприимчивость к	+	+	+	+	+	+	+

# БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

## ОТНОШЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ ВИБРИОНОВ К ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИМ УГЛЕВОДАМ

Виды вибрионов	Ферментация		
	арабинозы	маннозы	сахарозы
<i>V. cholerae</i>	-	+	+
<i>V. mimicus</i>	-	+	-
<i>V. metschnikovii</i>	-	+/-	+
<i>V. fluvialis</i>	+	+	+
<i>V. vulnificus</i>	-	+(-)	-(+)
<i>V. alginolyticus</i>	-	+	+
<i>V. parahaemolyticus</i>	+(-)	+	-(+)
<i>V. hollisae</i>	+	-(+)	-
<i>V. furnissii</i>	+	+(-)	+
	с образованием газа		
	-	+	-
<i>V. damsela</i>	с образованием газа у некоторых штаммов		
<i>V. cincinnatiensis</i>	+	x	+
<i>V. harveyi</i>	-	x	+(-)

Условные обозначения: () - в скобках указан редко встречающийся вариант; +/- - приблизительно 50% штаммов не обладают этими признаками; X - нет данных.

# Вирулентность

- адгезины, обуславливающие их выраженные адгезивные свойства,
- фермент лецитиназа,
- основной фактор патогенности термостабильный гемотоксин, определяет прямой гемолиз и термолабильный гемолизин
- энтеротоксины и цитолизины



- характерный признак патогенных штаммов *V.parahaemolyticus* - способность к гемолизу эритроцитов кролика или человека на агаре, содержащем 7%NaCl.

Этот тест получил название «феномена Канагава».

Штаммы, обладающие этим свойством, относятся к канагава-положительным, не обладающие – к канагава-отрицательным.

# Этиопатогенез

Источником инфекции являются морепродукты не прошедшие надлежащей кулинарной обработки или инфицированные вибрионами после приготовления, в результате нарушения правил хранения и транспортировки готовой продукции, а также морская вода.

# Кишечные заболевания

в виде трех клинических форм:

- гастроэнтеритической (наиболее часто встречающейся),
- дизентерие- и
- холероподобной, при разной тяжести состояния.

# Внекишечные заболевания

- После ранений у иммунодефицитных людей и у наркоманов после инъекций могут развиваться абсцессы на руках и ногах, причиной которых является заражение инъекционных ран и раневых участков морскими галофильными вибрионами. В этом участвуют *V.alginolyticus*, *V.vulnificus*, *V.parahaemolyticus* и др.



# Лабораторная диагностика

галофильных инфекционных заболеваний вне зависимости от клинической формы сводится:

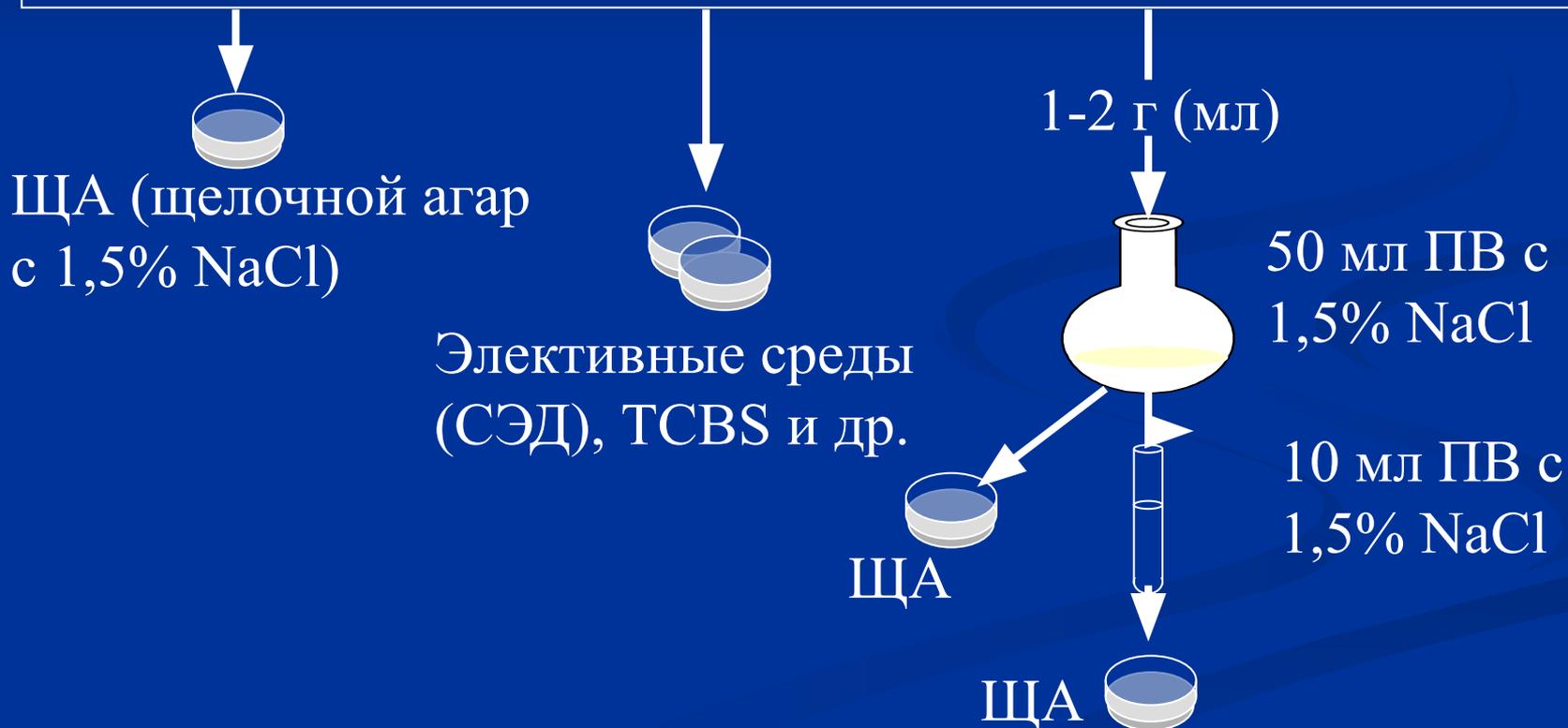
- микроскопическому
- бактериологическому методу с выделением чистой культуры возбудителя и его идентификацией.

# Критерии диагностики пищевых отравлений вызываемых *V.parahaemolyticus*

«Критериями диагностики заболеваний вызванных *V.parahaemolyticus* является обнаружение их в подозреваемом продукте в количестве  $10^6$  и более живых клеток в 1 г/мл, с одновременным обнаружением того же типа возбудителя в кале пострадавших»

# Посев материала (1-2 дни исследования) согласно МУК 4.2.1793-03

**РВОТНЫЕ МАССЫ, ПРОМЫВНЫЕ ВОДЫ ЖЕЛУДКА,  
ИСПРАЖНЕНИЯ**



# Посев материала (1-2 дни исследования) согласно МУК 4.2.1793-03

## ОТДЕЛЯЕМОЕ РАН



# Кровяно - солевой агар (среда Wagatsuma)

- Дрожжевой экстракт - 5 г
- Пептон - 10 г
- Натрий хлористый - 70 г
- Маннит - 5 г
- Агар - 15 г
- 0,1% кристалл-виолет – 0,01 мл
- Дистиллированная вода - 1 л

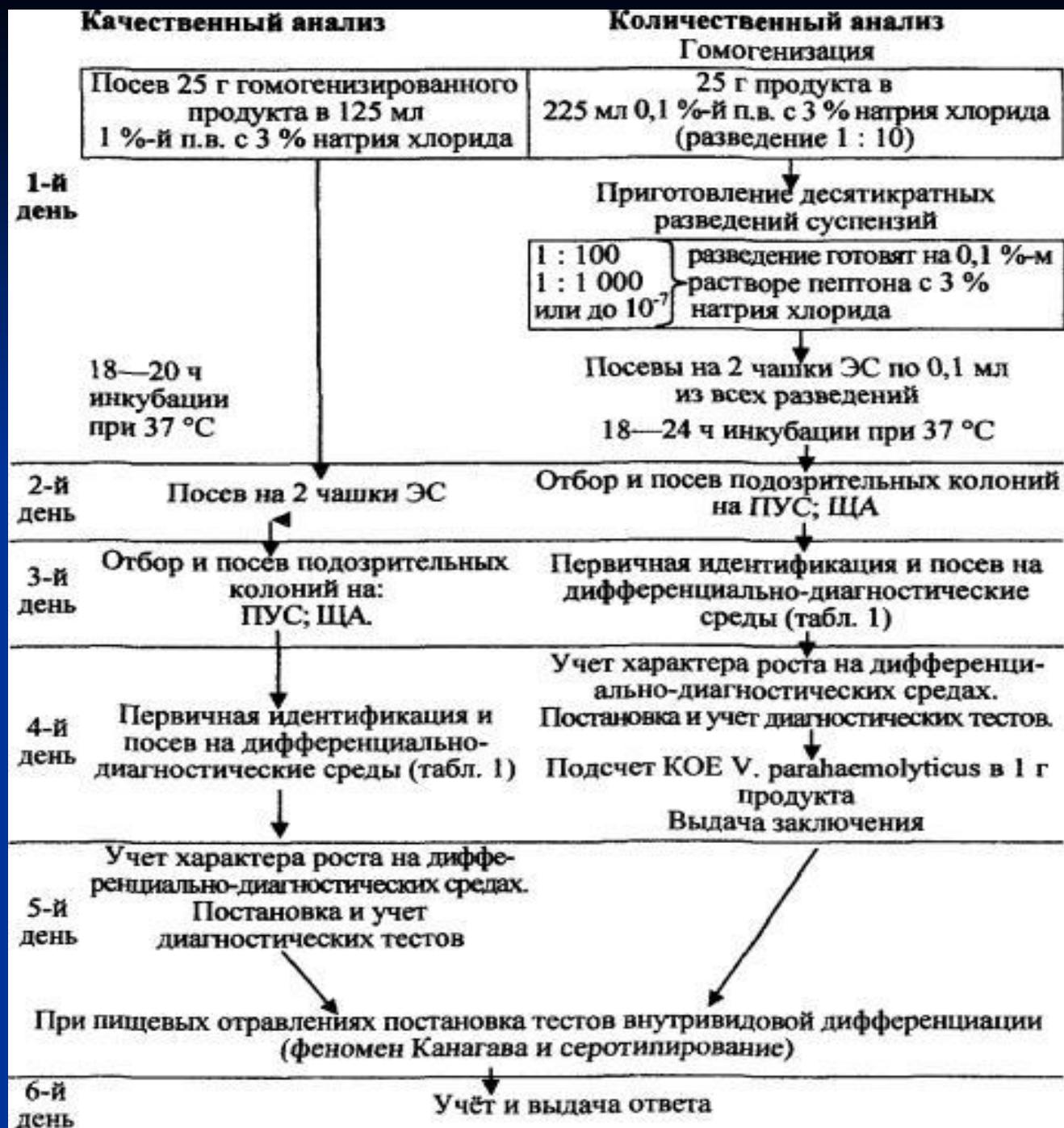
Растворяют все ингредиенты в воде, кипятят, устанавливают рН 7,5.  
НЕ СТЕРИЛИЗУЮТ. Охлаждают до 50 °С и добавляют 10% отмытых человеческих эритроцитов и разливают в чашки

Среду инкубируют при 35 °С 18-20 часов.

Энтеропатогенные *V.parahaemolyticus* вызывают гемолиз эритроцитов

Инструкция ... №1135-73

Штаммы дифференцируются по чувствительности к бактериофагам. Различают А, В, С и D монофаги, способные лизировать до 60% штаммов галофильных вибрионов, выделенных из разных экосистем.



# Лечение

- восстановление нормального водно-солевого обмена или регидратация
- Этиотропная терапия показана при тяжелом и длительном течении заболевания- тетрациклин, препараты нитрофуранового ряда.
- При септических процессах и раневых инфекциях- карбенициллин, цефалотин, хлорамфеникол, гентамицин или тетрациклин

- Благодарим за внимание!