

Методы диагностики бактериальных инфекций

Методы бактериальных инфекций

- Для диагностики бактериальных инфекций могут использоваться все методы микробиологической диагностики
- **Бактериологический метод** - «золотой стандарт» диагностики бактериальных инфекций .
- Позволяет не только выделить и идентифицировать возбудителя, но и подобрать антибактериальный препарат для лечения, а также провести эпидемическое исследование, определяя источник инфекции и цепочку передачи возбудителя; для этого часто используют **молекулярно-биологические** методы.
- **Серологические исследования** - в тех случаях, когда не удастся выделить возбудителя, в качестве дополнительного метода.
- **Микроскопический метод** - в большинстве случаев используют как ориентировочный.
- **Молекулярно-биологические методы** используют в качестве экспресс-диагностики и для типирования возбудителя.
- **Аллергологический метод** используют в качестве предварительного исследования при массовых обследованиях.

Возбудители бактериальных кишечных инфекций

Возбудители эшерихиозов

- ***Эшерихиозы*** - инфекционные болезни, возбудителями которых являются *Escherichia coli*.

Характеристика возбудителей

Морфология.

- E. coli - мелкие, прямые грамотрицательные палочки с закругленными концами, размером 0,4-0,6 x 2,0-6,0 мкм, подвижные за счет перитрихально расположенных жгутиков.
- Спор не образуют.
- Некоторые могут образовывать микрокапсулу и пили. В мазках расположены беспорядочно.

Культивирование.

- E. coli не требовательны к питательным средам. На плотных средах образуют гладкие, полупрозрачные колонии. На жидких средах вызывают диффузное помутнение и придонный осадок.
- Для диагностики эшерихиозов используют дифференциально-диагностические среды с лактозой - **среду Эндо**, на которой кишечные палочки формируют колонии красного цвета с характерным металлическим блеском.

Биохимические свойства.

- **E.coli** обладают выраженной биохимической активностью - расщепляют глюкозу и лактозу с образованием кислоты и газа, продуцируют индол, но не продуцируют сероводород.

Антигенная структура.

- **E. coli** обладают сложной антигенной структурой: имеют соматический **О-антиген**, определяющий серогруппу (их известно около 171), а также 100 разновидностей поверхностного **К-антигена**, который может маскировать О-антиген, вызывая феномен О-инагглютинабельности. В этом случае О-антиген можно выявить только после разрушения К-антигена кипячением. Типоспецифический **Н-антиген** определяет **серовар** (и насчитывается более 57).

Экология и особенности распространения.

- Вид **E. coli** не является однородным: среди них выделяют условно-патогенные и патогенные эшерихии.
- Условно-патогенные эшерихии входят в состав микрофлоры кишечника и влагалища. В составе микрофлоры толстой кишки они выполняют много полезных функций (являются антагонистами патогенных кишечных и гнилостных бактерий, грибов рода кандиды, участвуют в синтезе витаминов группы В, Е и К).
- Только у сильно иммунодефицитных людей (больных ВИЧ-инфекцией) они могут при попадании в другую экологическую нишу вызвать гнойно-воспалительный процесс

- Патогенные эшерихии подразделяются на возбудителей ***парентеральных эшерихиозов*** и ***диареегенные***.
- Патогенные отличаются от условно-патогенных возможностью синтезировать факторы патогенности, генетически связанные с наличием в геноме плазмид вирулентности и конвертирующих бактериофагов.
- Возбудители ***парентеральных эшерихиозов*** вызывают заболевания мочеполовой системы у детей и взрослых, менингит и сепсис у новорожденных.

Энтеральные эшерихиозы

- Энтеральные эшерихиозы - острые инфекционные болезни, характеризируемые поражением ЖКТ.
- Их возбудители - диареегенные *E. coli*.
- Диареегенные эшерихии неоднородны, подразделяются на несколько подгрупп, различающихся по:
 - особенностям экологии,
 - путям передачи,
 - особенностям патогенеза и
 - клинического проявления вызываемого ими заболевания, что обусловлено различиями факторов патогенности и их генетической детерминации.

Энтеральные эшерихиозы

- В пределах каждой подгруппы имеется определенный состав **О-серогрупп** или **ОН-сероваров**.
- Именно по **составу О-серогрупп** проводят первичную дифференциацию диареегенных эшерихий.
- Выделяют:
 - **энтеротоксигенные *E. coli* (ЭТКП)**, вызывающие холероподобное заболевание,
 - **энтеропатогенные *E. coli* (ЭПКП)** - возбудители эпидемических вспышек у детей первого года жизни;
 - **энтерогеморрагические *E. coli* (ЭГКП)**,,, являющиеся причиной геморрагического колита с развитием почечной недостаточности;
 - **энтероинвазивные *E. coli* (ЭИКП)**, вызывающие шигеллезоподобное заболевание и некоторые другие.

Микробиологическая диагностика.

- Основной материал для исследования - фекалии и рвотные массы.
- Диагностику осуществляют **бактериологическим** методом, определяя не только род и вид выделенной чистой культуры, но и принадлежность к **серогруппе**, что позволяет отличить **диареегенные *E. coli*** от **условно-патогенных**.
- Внутривидовая идентификация заключается в определении **серовара**.

Характеристика заболевания

- **Клиническая картина.** Болезнь начинается остро, с повышения температуры тела, болей в животе, диареи, рвоты и развития клинической симптоматики, характерной для каждой подгруппы *E. coli*, к которой относится возбудитель, вызвавший заболевание.
- **Иммунитет.** Надежный иммунитет к возбудителям парентеральных эшерихиозов **не вырабатывается**. Естественный иммунитет детей первого года жизни обеспечивают находящиеся в материнском молоке **бифидобактерии**, колонизирующие кишечник к 5-му дню жизни.
- **Лечение.** Антибиотикотерапия с учетом **антибиотикограммы**, проводят детям и при тяжелом течении.
- **Профилактика** - неспецифическая. Проводят санитарно-гигиенические мероприятия.

Возбудители дизентерии

- Бактериальная дизентерия, или ***шигеллез***, - инфекционная болезнь с поражением толстой кишки, развитием колита и интоксикацией организма.

Характеристика возбудителей

- **Таксономия.** Возбудителями являются бактерии рода *Shigella*.
- Имеются четыре вида шигелл: *Shigella dysenteriae* (группа А), *Shigella flexneri* (группа В), *Shigella boydii* (группа С) и *Shigella sonnei* (группа D).
- **Морфология.** Шигеллы - мелкие грамтрицательные палочки с закругленными концами. В мазке из чистой культуры расположены беспорядочно. Спор и капсул не образуют, неподвижны.
- **Биохимические свойства и культивирование.** Шигеллы биохимически малоактивны: не расщепляют лактозу; глюкозу расщепляют только до кислоты. Сероводород не продуцируют.
- Хорошо растут на простых питательных средах. Для выделения их из организма используют среды, содержащие лактозу и желчные кислоты (среду **Плоскирева**), а также селенитовый бульон, являющийся средой обогащения.
- **Антигенная структура.** Шигеллы обладают соматическим О-антигеном, в зависимости от строения которого они подразделяются на **серовары**.
- *Shigella sonnei* имеет также К-антиген.

- **Факторы патогенности.** Все виды шигелл инвазируют слизистую оболочку толстой кишки с последующим межклеточным распространением.
- Эта способность связана с крупной **плазмидой**, детерминирующей синтез чувствительных к трипсину белков-инвазинов, и фактором распространения микроорганизма через межклеточные пространства.
- В связи с тем, что белки-инвазины чувствительны к трипсину, шигеллы проникают в эпителий толстой кишки, вызывая патологический процесс.
- Кроме того, все шигеллы продуцируют белковые шига- и шигаподобные **цитотоксины**, поражающие эндотелий сосудов, следствием чего является появление в кале крови.
- **Shigella dysenteriae** серовара 1 продуцирует шига-токсина в **1000** раз больше, чем другие виды, в результате чего он попадает в кровь, поражая почки с развитием почечной недостаточности.
- Все шигеллы имеют **эндотоксин**, который вызывает интоксикацию организма, а при его накоплении происходит

- **Резистентность.** Наиболее неустойчив во внешней среде вид *S. dysenteriae*.
- Шигеллы хорошо переносят высушивание, низкие температуры, но быстро погибают под воздействием прямых солнечных лучей и при нагревании (при температуре 60 °C - через 30 мин, при 100 °C - мгновенно).
- Благоприятной средой для шигелл являются пищевые продукты. *S. sonnei* в молоке и молочных продуктах способны не только длительно переживать, но и размножаться.
- Дезинфицирующие средства (гипохлориты, хлорамин, лизол и др.) в обычных концентрациях шигеллы убивают.

- **Эпидемиология.**
- *Источники инфекции* - больные люди и бактерионосители.
- *Механизм заражения* - фекально-оральный.
- *Пути передачи*: пищевой (чаще с молочными продуктами), водный, контактно-бытовой.
- **Микробиологическая диагностика.**
- *Исследуемый материал* - фекалии.
- *Основной метод диагностики* - **бактериологический**. Посев следует производить непосредственно у постели больного. Выделяя чистую культуру, определяют вид возбудителя, для внутривидовой идентификации определяют его серовар и хемовар.
- При затяжном течении заболевания используют **серологический** метод (РА, РПГА).

Характеристика заболевания

Патогенез.

- **Шигеллезы** - инфекционные заболевания, характеризующиеся поражением толстой кишки с развитием колита и интоксикации организма.
- Бактериемии при шигеллезе не наблюдается.

Клиническая картина.

- Инкубационный период составляет 1-7 дней.
- Болезнь начинается остро, с повышения температуры тела (38-39 °C), появления болей в животе, частых позывов на дефекацию.
- В испражнениях обнаруживают слизь, слущенные клетки (как результат размножения микроорганизмов внутри эпителиальных клеток кишечника) и кровь (как следствие действия белкового цитотоксина).

Иммунитет. Непрочный и непродолжительный.

Профилактика. Для экстренной профилактики используют бактериофаг. Основную роль играют санитарно-гигиенические мероприятия.

Возбудители брюшного тифа и паратифов

- ***Брюшной тиф и паратифы А и В*** - острые кишечные инфекции, сходные по патогенезу и клиническим проявлениям, характеризующиеся:
 - циклическим течением,
 - поражением лимфатического аппарата тонкой кишки,
 - мезентериальных лимфатических узлов и
 - паренхиматозных органов,
 - а также бактериемией.
 - Клинически протекают с выраженной интоксикацией, развитием энтерита и сыпью.

Характеристика возбудителей

- **Таксономия.** Возбудители брюшного тифа и паратифов относятся к роду *Salmonella*, семейству *Enterobacteriaceae*, сероварам *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* и *S. Paratyphi B*.
- **Морфология.** Сальмонеллы - грамотрицательные палочки с закругленными концами, в мазках расположены беспорядочно. Не образуют спор и капсул, подвижны (перитрихи).

- **Культивирование.** Сальмонеллы – факультативные анаэробы, неприхотливы и хорошо растут на простых питательных средах и средах, содержащих желчь.
- На лактозосодержащих дифференциальных средах образуют бесцветные колонии, на висмут-сульфитном агаре - колонии черного цвета (*S. Paratyphi B* при росте на плотных средах образует слизистые валики). На жидких средах образуют диффузное помутнение. Средами накопления являются **желчный и селенитовый бульоны**.
- **Биохимические свойства.** Биохимически активны - расщепляют глюкозу, продуцируют сероводород. Не расщепляют лактозу и не образуют индол.

Антигенная структура и классификация

- В связи с тем что по основным **биохимическим свойствам** представители рода *Salmonella* однотипны, дифференциацию внутри рода проводят **по антигенной структуре**.
- Сальмонеллы обладают соматическим **О-антигеном** и жгутиковым **Н-антигеном**. Некоторые сальмонеллы обладают **К-антигеном**. Согласно классификации Ф. Кауфмана-П. Уайта, сальмонеллы подразделяются на серологические группы по общности строения **О-антигена**, а внутри серогруппы - на серовары в соответствии с различиями в строении **Н-антигена**.
- **Род *Salmonella*** состоит из двух видов: *S. enterica* и *S. bongori*.
 - Вид *S. bongori* подразделяется на 21 серовар и включает сальмонеллы, изолированные из **холоднокровных** животных.
 - Вид *S. enterica* включает все сальмонеллы, являющиеся возбудителями **человека и теплокровных** животных.
- Некоторые серовары сальмонелл, в частности *S. Typhi*, имеют полисахаридный Vi-антиген - разновидность К-антигена, который служит рецептором для бактериофагов.
- Установление фаговара *S. Typhi* необходимо для эпидемиологического анализа вспышек брюшного тифа в целях определения источника инфекции.

- **Факторы патогенности.** Возбудитель брюшного тифа и паратифов, так же как и другие серовары вида *S. enterica*, является ***факультативным внутриклеточным паразитом***, способным проникать в клетки эпителия слизистой оболочки кишечника и размножаться в макрофагах.
- Все сальмонеллы обладают также эндотоксином, принимающим участие в развитии лихорадки и нарушении водно-солевого обмена в кишечнике.

Резистентность

- Сальмонеллы устойчивы к воздействию факторов внешней среды.
- Выдерживают pH в диапазоне 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, в 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 гибнут мгновенно.
- Растворы дезинфицирующих веществ (5% фенол, 3% хлорамин, 3% лизол) убивают сальмонеллы в течение 2-3 мин.
- При неблагоприятных условиях сальмонеллы могут переходить в некультивируемую форму.

- **Эпидемиология.**
- Брюшной тиф и паратифы - антропонозные инфекции, источники заболевания - больные люди и бактерионосители.
- *Механизм заражения* - фекально-оральный.
- Среди *путей передачи* преобладает водный, реже встречаются пищевой и контактно-бытовой.
- **Микробиологическая диагностика.**
- Основной метод диагностики - **бактериологический**. Исследуют кровь, кал, желчь, костный мозг, мочу (в зависимости от стадии заболевания).
- Используют также **серологический** метод (РПГА, РА Видаля).

Характеристика заболевания

- **Патогенез.** Патогенез характеризуется цикличностью течения.
- Возбудитель попадает через рот, достигает тонкой кишки, где размножается в ее лимфатических образованиях, из которых попадает в кровь (**стадия bacteriemia**).
- С током крови разносится по всему организму, оседая в паренхиматозных органах (селезенке, печени, легких, костном мозге).
- Из печени сальмонеллы попадают в желчный пузырь, где могут сохраняться годами, а из него - вновь в тонкую кишку.
- В результате повторного попадания сальмонелл в лимфоидный аппарат тонкой кишки развивается аллергическая реакция, проявляющаяся в форме воспаления и некроза лимфатических образований.
- Из организма сальмонеллы выводятся в основном с калом и мочой.

Клиническая картина

- **Клинически** брюшной тиф и паратифы неразличимы.
- Болезнь начинается остро: повышается температура тела, появляются общая слабость, повышенная утомляемость, нарушаются сон и аппетит.
- Характерны помутнения сознания, бред, галлюцинации, сыпь.
- Очень тяжелыми осложнениями болезни являются прободение стенки тонкой кишки, перитонит, кишечное кровотечение, возникающие в результате некроза лимфатических образований тонкой кишки.
- **Иммунитет** после перенесенного заболевания - **напряженный и длительный**, обеспечивается совместным действием клеточного иммунного ответа, в котором **ведущая роль принадлежит активированным макрофагам**.
- **Гуморальный иммунитет** свидетельствует о наличии инфекционного процесса. Первыми к концу 1-й недели заболевания появляются **антитела к О-антигену**, которые достигают максимальных титров к **разгару** заболевания, а потом исчезают.
- Антитела к **Н-антигену** появляются в период **реконвалесценции**, а также у **привитых** лиц и **длительно сохраняются**.
- У бактерионосителей брюшного тифа обнаруживают **антитела к Vi-антигену**.

- **Лечение.** Этиотропная антибиотикотерапия.
- **Профилактика.**
- Для специфической профилактики брюшного тифа используют вакцины - брюшнотифозную сорбированную и брюшнотифозную спиртовую, обогащенную Vi-антигеном.
- Для профилактики по эпидемическим показаниям людям, которые проживают совместно с больным и которые употребляли продукты и воду, зараженные или подозрительные на заражение *S. Typhi*, назначают брюшнотифозный бактериофаг.
- Неспецифическая профилактика включает санитарно-бактериологический контроль за системами водоснабжения, соблюдение санитарно-гигиенических правил при приготовлении пищи, выявление бактерионосителей среди работников пищеблоков, торговли, своевременное выявление и изоляцию больных.

Возбудители сальмонеллезов

- **Сальмонеллез** - острая кишечная инфекция, характеризующаяся поражением тонкой кишки с развитием энтерита.

Характеристика возбудителей

Таксономия.

- *Возбудители* - многочисленные серовары вида *S. enterica*, за исключением сероваров *S. Typhi*, *S. Paratyphi A* и *B*.

Эпидемиология.

- Основной *источник болезни* - домашние животные (крупный и мелкий рогатый скот, свиньи) и птица (куры, утки, гуси и др.).
- *Механизм передачи* – фекально-оральный
- *Основной путь передачи* - пищевой.
- *Факторами передачи* могут быть молоко и мясо животных (*S. Typhimurium*, *S. Dublin*), яйца кур (*S. Enteritidis*).
- В замкнутых коллективах, где сосредоточены иммунодефицитные пациенты (отделения реанимации), наблюдаются случаи госпитального сальмонеллеза, при котором источником инфекции являются люди, а путями передачи - контактно-бытовой и воздушно-пылевой.

Микробиологическая диагностика.

- Проводят **бактериологическим и серологическим** методами.
- **Бактериологическому** исследованию подвергают испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, желчь, костный мозг, кровь (при системных формах заболевания).
- **Серологическое исследование** проводят с помощью РПГА и ИФА. Важное диагностическое значение имеет нарастание титра АТ в динамике заболевания.

Характеристика заболевания

Патогенез.

- Сальмонеллы проникают в организм через рот, достигают тонкой кишки, где развивается патологический процесс. Проникая через эпителиальный слой тонкой кишки в субэпителиальное пространство, вызывают воспаление и нарушение водно-солевого баланса, следствием чего является диарея.

Клиническая картина.

- Инкубационный период составляет 12-24 ч.
- Болезнь характеризуется повышением температуры тела, тошнотой, рвотой, диареей, болями в животе. Продолжительность болезни составляет 7 дней.
- В некоторых случаях наблюдаются молниеносные генерализованные формы, протекающие по типу брюшного тифа, приводящие к смерти.

- **Иммунитет** - ненапряженный, непродолжительный
- **Лечение** - симптоматическое. Этиотропную антибиотикотерапию применяют только при генерализованных формах.
- **Профилактика.** Основную роль играет специфическая профилактика среди сельскохозяйственных животных и птиц. Большое значение имеет **неспецифическая профилактика**, включающая ветеринарно-санитарные мероприятия, направленные на предупреждение распространения возбудителей среди сельскохозяйственных животных и птиц, а также соблюдение **санитарно-гигиенических правил** на мясоперерабатывающих предприятиях, при хранении мяса и мясных продуктов, правил приготовления пищи, правильной кулинарной и термической обработки пищевых продуктов.

Возбудители холеры

- **Холера** - острая инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением тонкой кишки с нарушением водно-солевого обмена и развитием интоксикации, относится к особо опасным, карантинным инфекциям.
- **Характеристика возбудителей**
- **Таксономия.**
- Возбудители холеры относятся к виду *Vibrio cholerae* серогрупп О1 и О139.
- **Морфология.** Холерный вибрион - грамотрицательная палочка в форме запятой. Не образует спор и капсулы, подвижен (монотрих).

- **Культивирование.** *Vibrio cholerae* – факультативный анаэроб, неприхотлив к питательным средам. Хорошо растет на 1% щелочной (pH = 9,0) пептонной воде, щелочном агаре. Эти среды являются для него элективными. Особенность *Vibrio cholerae* - быстрый рост: пленка на поверхности жидкой среды образуется в течение 6-8 ч.
- **Биохимические свойства.** Биохимически активен - оксидазоположителен, расщепляет сахарозу, продуцирует индол. По биохимическим свойствам, гемолитической активности и чувствительности к бактериофагам подразделяется на два биовара: *eltor u cholerae classic*.
- **Антигенная структура.** Обладает О- и Н-антигенами. В зависимости от строения О-антигена подразделяется более чем на 200 серогрупп. Внутри серогруппы О1 подразделяется на три серовара. **Возбудителями холеры являются только серогруппы О1** (которая может быть представлена биоварами как *eltor*, так и *cholerae classic*) и **О139** (имеет фенотип *eltor*)

- **Факторы патогенности.**
- Основными факторами патогенности являются пили, обеспечивающие прикрепление возбудителя к эпителию тонкого кишечника, белковый энтеротоксин (холероген) и нейраминидаза, способствующая действию токсина.
- У *V. Cholerae* также имеется эндотоксин
- **Холероген** нарушает водно-солевой обмен, вызывая гиперсекрецию воды и хлоридов в просвет кишечника, в результате чего возникают диарея и обезвоживание организма.
- **НА** способствует реализации действия токсина, обеспечивая его прикрепление к мембране кишечного эпителия.
- **Резистентность.**
- Возбудители холеры чувствительны к УФ-облучению, высушиванию, дезинфектантам (за исключением четвертичных аминов), кислым значениям pH, нагреванию.

- **Эпидемиология.**
- *Источники инфекции* - больные люди и бактерионосители, вода.
- *Механизм заражения* - фекально-оральный.
- Среди *путей передачи* преобладает водный, возможны пищевой и контактно-бытовой.
- Возбудитель холеры, особенно биовар Эль-Тор, способен к существованию в воде в симбиозе с гидробионтами, водорослями, в неблагоприятных условиях может переходить в некультивируемую форму. Эти свойства позволяют отнести холеру к антропосапронозным инфекциям.
- **Микробиологическая диагностика.**
- Основной метод диагностики - **бактериологический**. Материалы для исследования - кал, рвотные массы, вода, пищевые продукты.
- Для **экспресс-диагностики** используют РИФ и ПЦР.

Характеристика заболевания

- **Патогенез.** Вибрионы попадают через рот в желудок, где под действием соляной кислоты могут погибнуть. Но при поступлении большого количества бактерий они достигают тонкой кишки, где прикрепляются к эпителию, выделяют токсин, нарушающий водно-солевой обмен. При гибели вибрионов высвобождается эндотоксин, вызывающий интоксикацию.
- **Клиническая картина.** Болезнь развивается остро: повышается температура тела до 38-39 °С, появляются рвота, диарея. Эта стадия продолжается 1-3 дня, и болезнь может закончиться (при легкой форме холеры) или перейти в следующую стадию - гастроэнтерита (форма средней тяжести), когда усиливаются рвота и диарея.
- Больной при этом теряет много жидкости. Резкое обезвоживание приводит к нарушениям функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем, развиваются судороги.
- Затем болезнь может перейти в третью стадию (тяжелая форма) - холерного алгида, которая в 17% случаев заканчивается смертью.
- **Иммунитет** - непрочный и непродолжительный.
- **Лечение.** Возмещение потери жидкости и этиотропная антибиотикотерапия.
- **Профилактика.** Выполнение санитарно-гигиенических и карантинных мероприятий. Для специфической профилактики, имеющей вспомогательное значение, применяют холерную убитую вакцину и холерную комбинированную вакцину, состоящую из двух компонентов - холерогена (анатоксина) и О-антигена холерного вибриона.