

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Врач-бактериолог , врач-вирусолог Комиссаров А.Г.

СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №75»

Специализированная централизованная

бактериологическая лаборатория

# Понятие об ОКИ

- **Кишечные инфекции** – инфекционные заболевания с фекально-оральным механизмом передачи, характеризующиеся острым (реже хроническим) течением, поражением различных отделов желудочно-кишечного тракта, сопровождающееся диареей, рвотой, болями в животе, лихорадкой и интоксикацией организма.

# Основные клинические формы ОКИ

- **Острый гастроэнтерит.**
- **Острый гастроэнтероколит.**
- **Острый энтероколит.**
- **Острый (хронический) колит.**

# Этиология ОКИ

**Вирусы**

**Бактерии**

**Токсины бактерий**

**Простейшие.**



# Вирусы

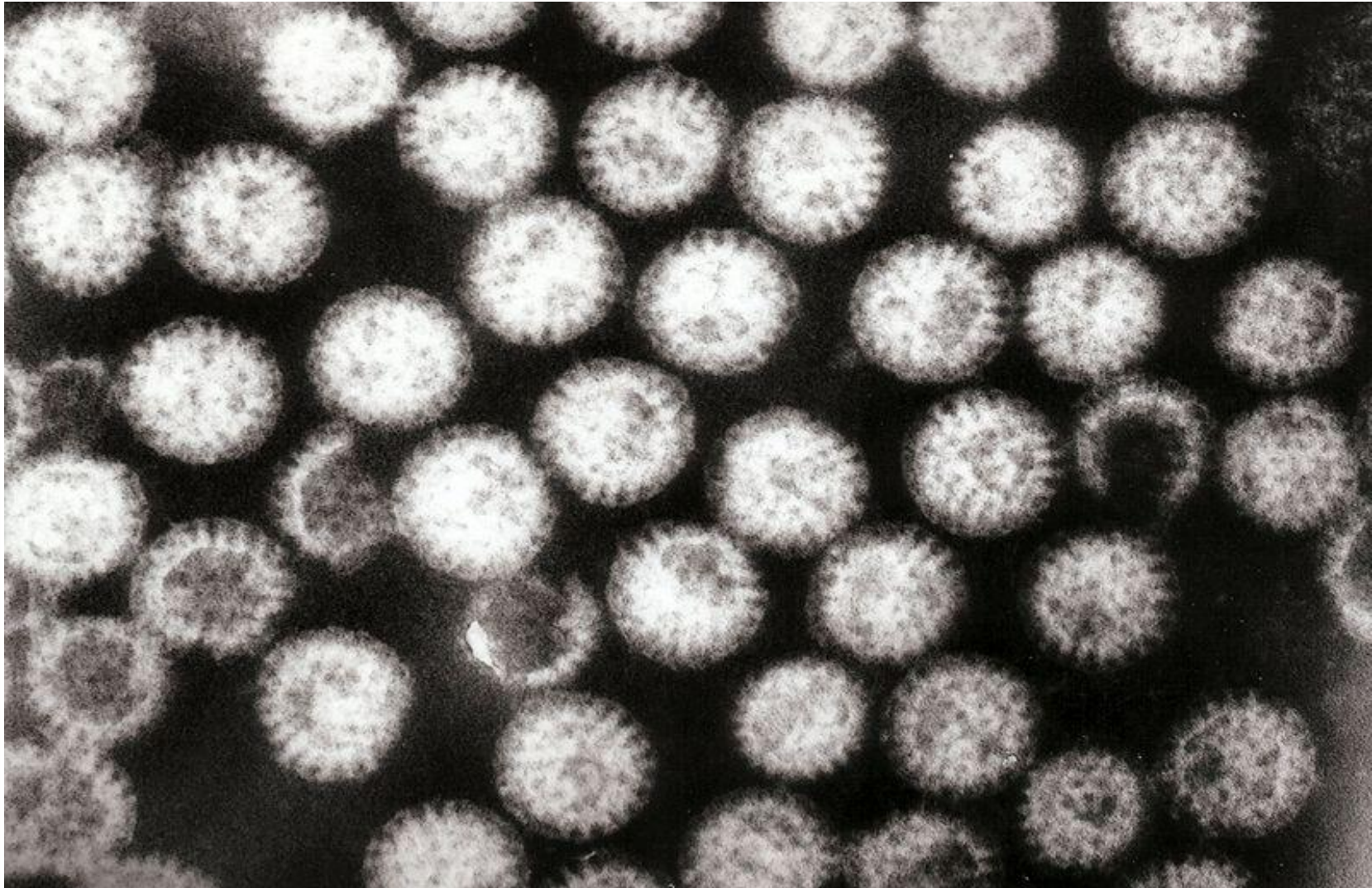


# Вирусы , геном которых представлен РНК.

- Ротавирусы человека серогруппы А
- Норовирусы I и II генотипа  
(Калицивирусы, вирусы типа Норволк)
- Астровирусы
- Коронавирусы (**Coronavirus OC43**)
- Торовирусы
- Саповирусы

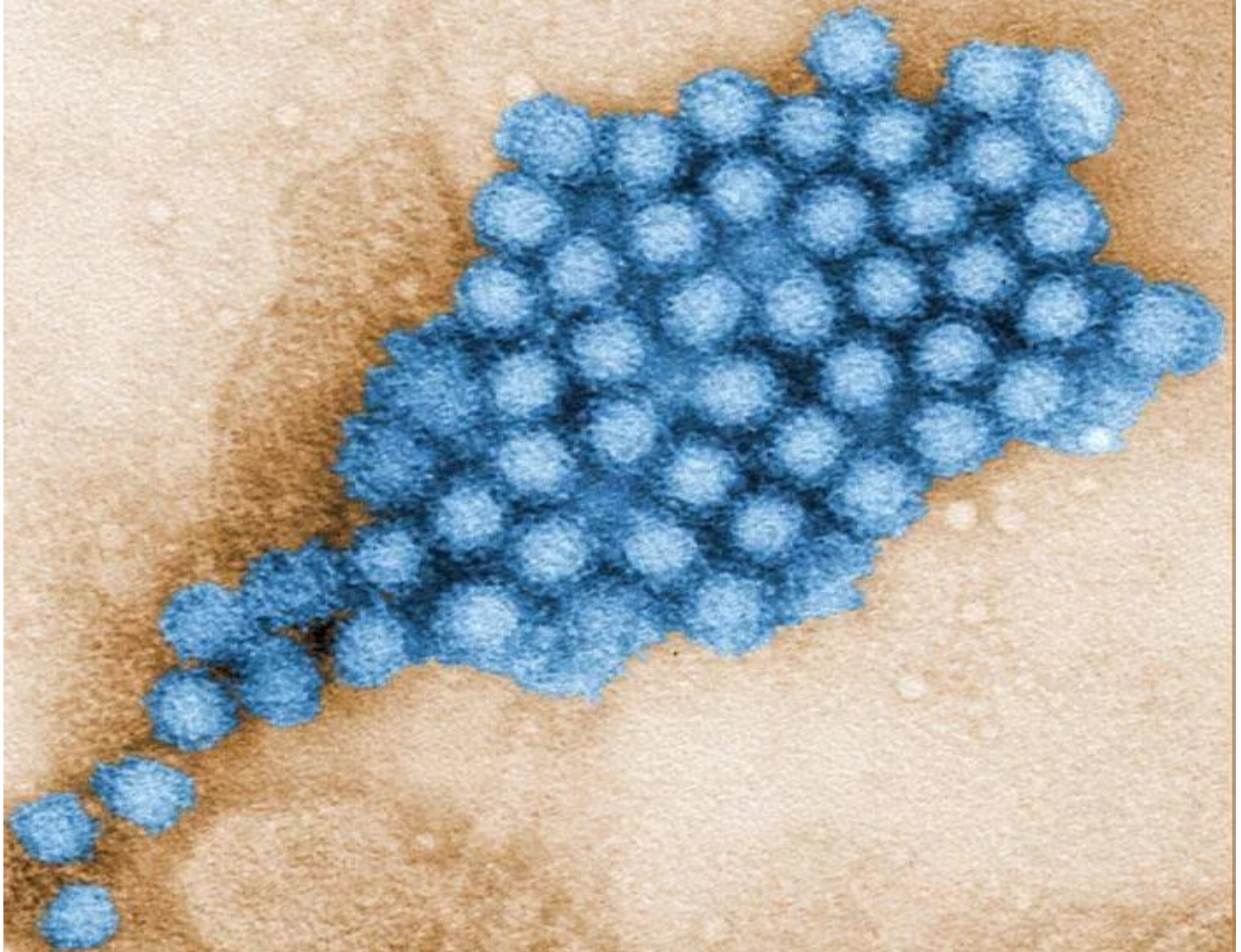


# Ротавирусы группы А

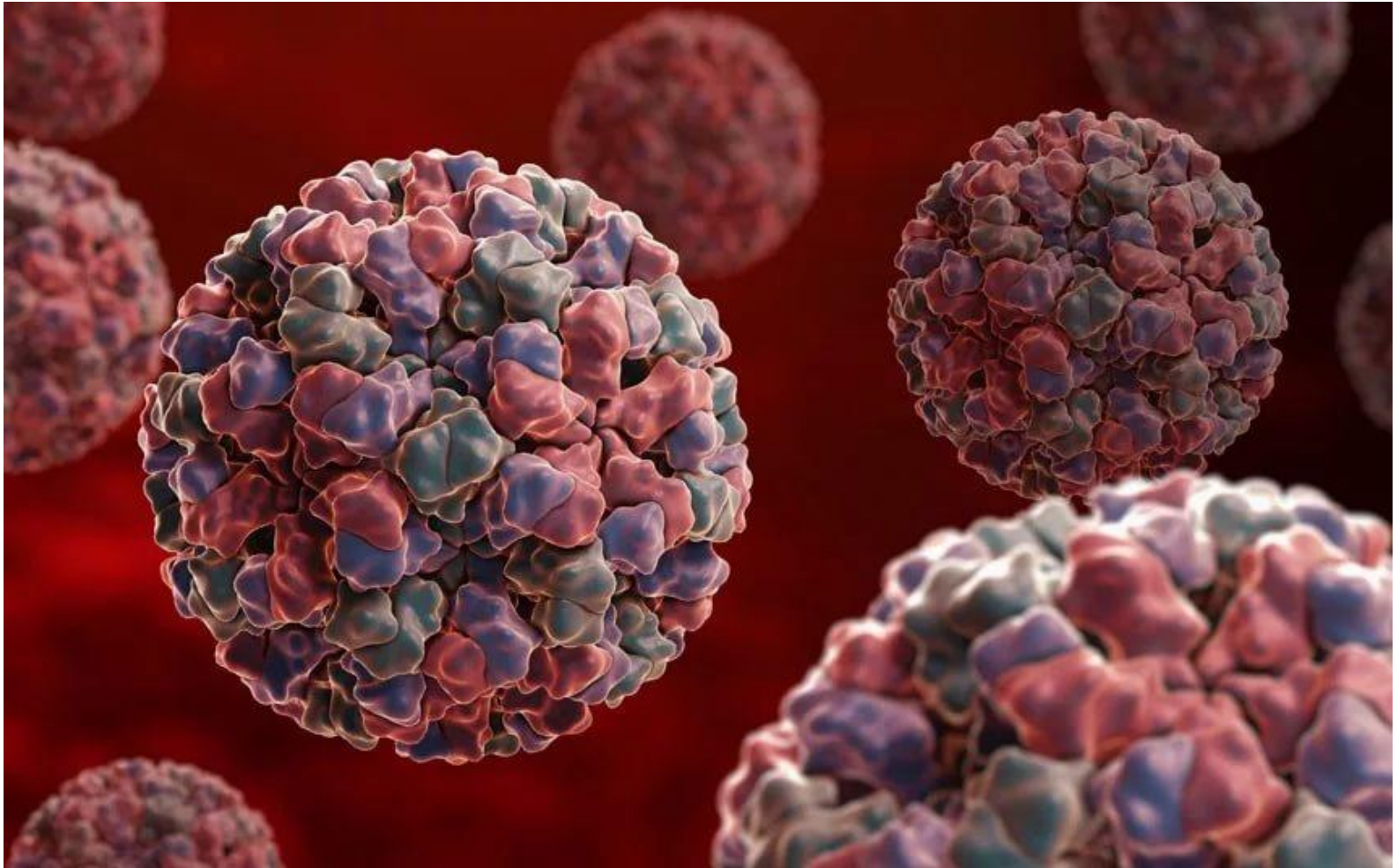




# Калицивирусы (Норовирусы)

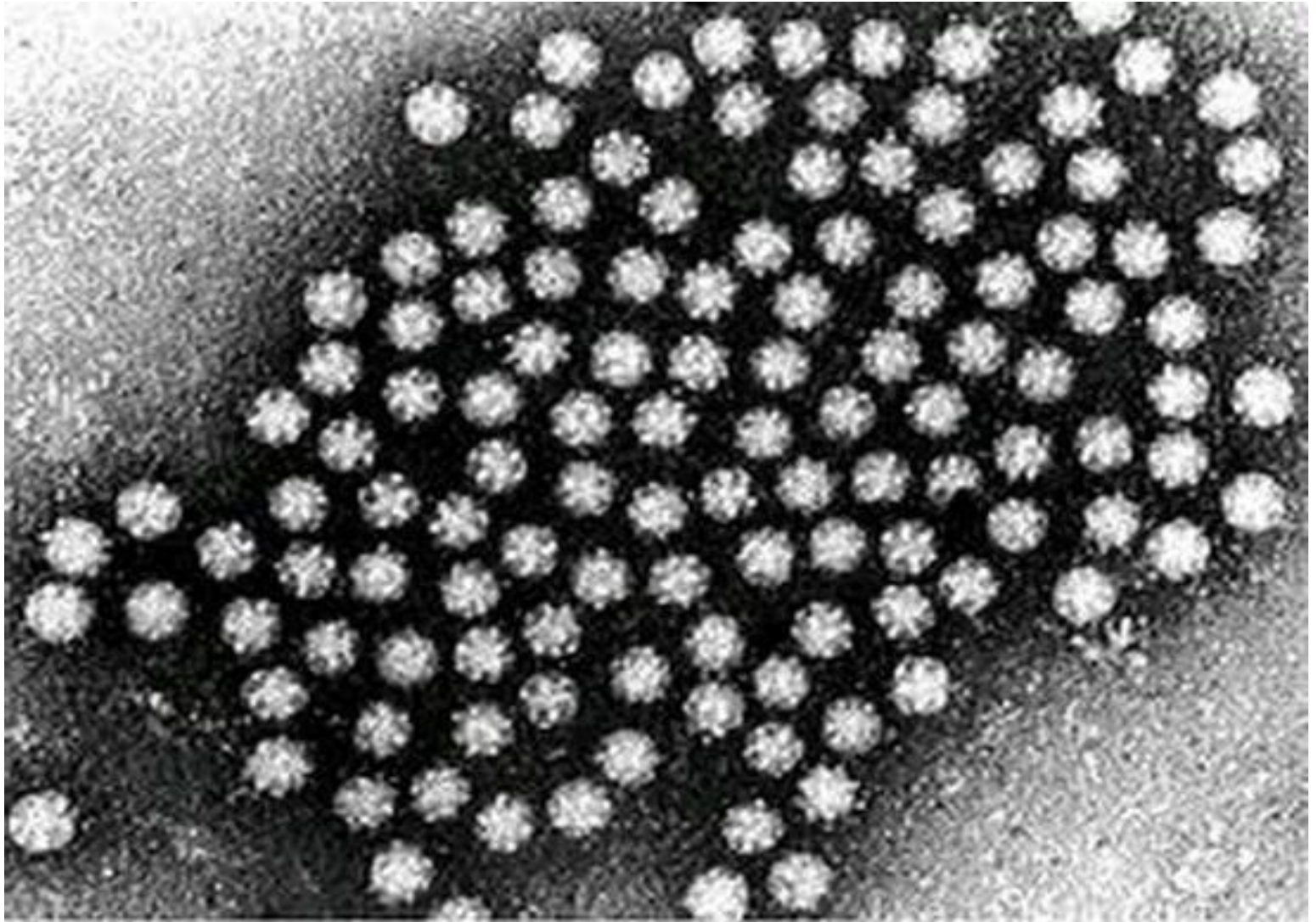


# Калицивирусы (Норовирусы)





# Астровирусы





# Коронавирусы



# Вирусы , геном которых представлен РНК

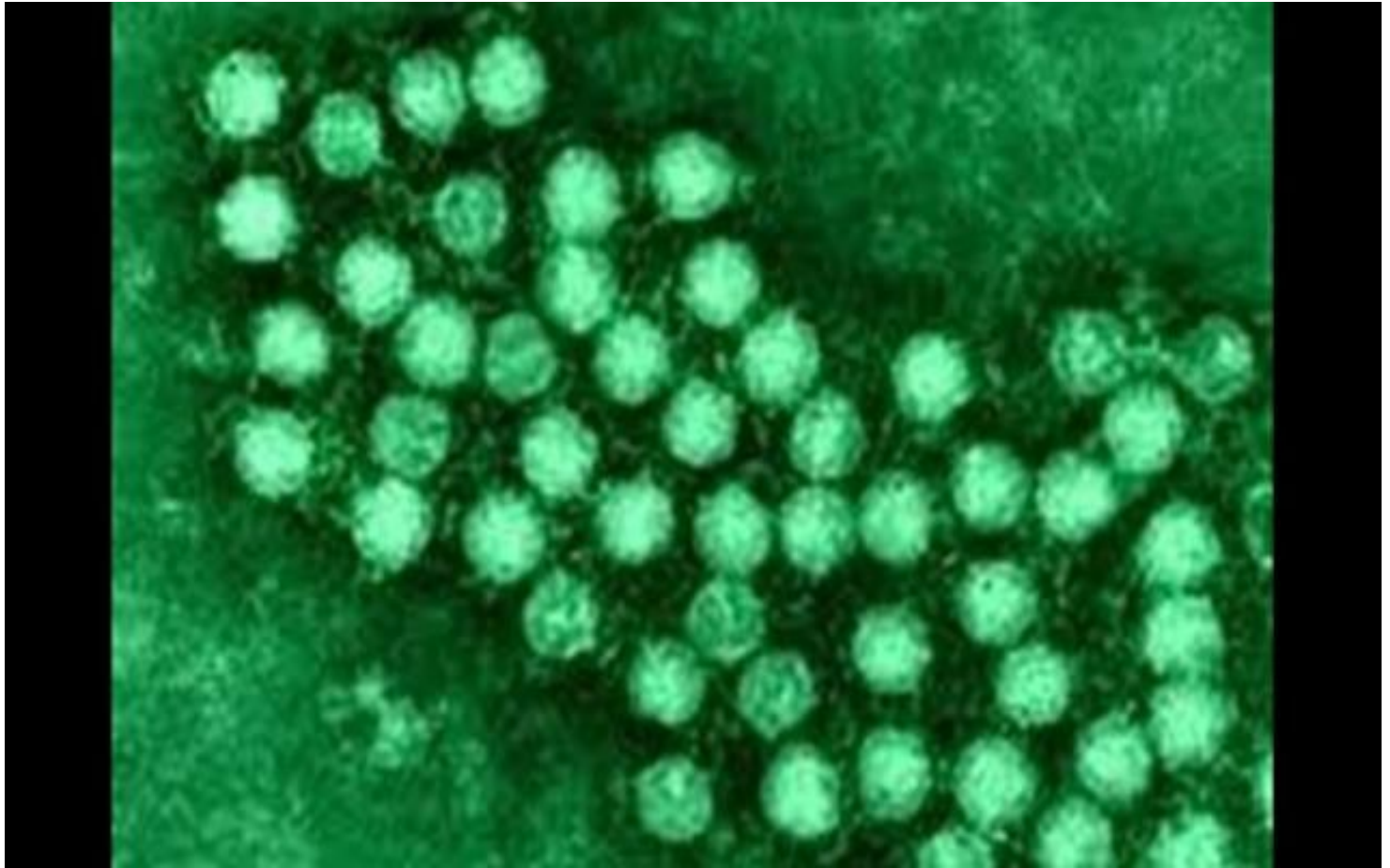
## Семейство Пикорнавирусы:

### 1. Энтеровирусы :

- Вирусы Коксаки А и В ,
- Полиовирусы 1-3 –го типов
- Энтеровирусы 68-71 серотипов
- ЕСНО-вирусы (3 тип )



# Энтеровирусы



# Вирусы , геном которых представлен РНК

## 2. Гепатовирус:

- Вирус гепатита А

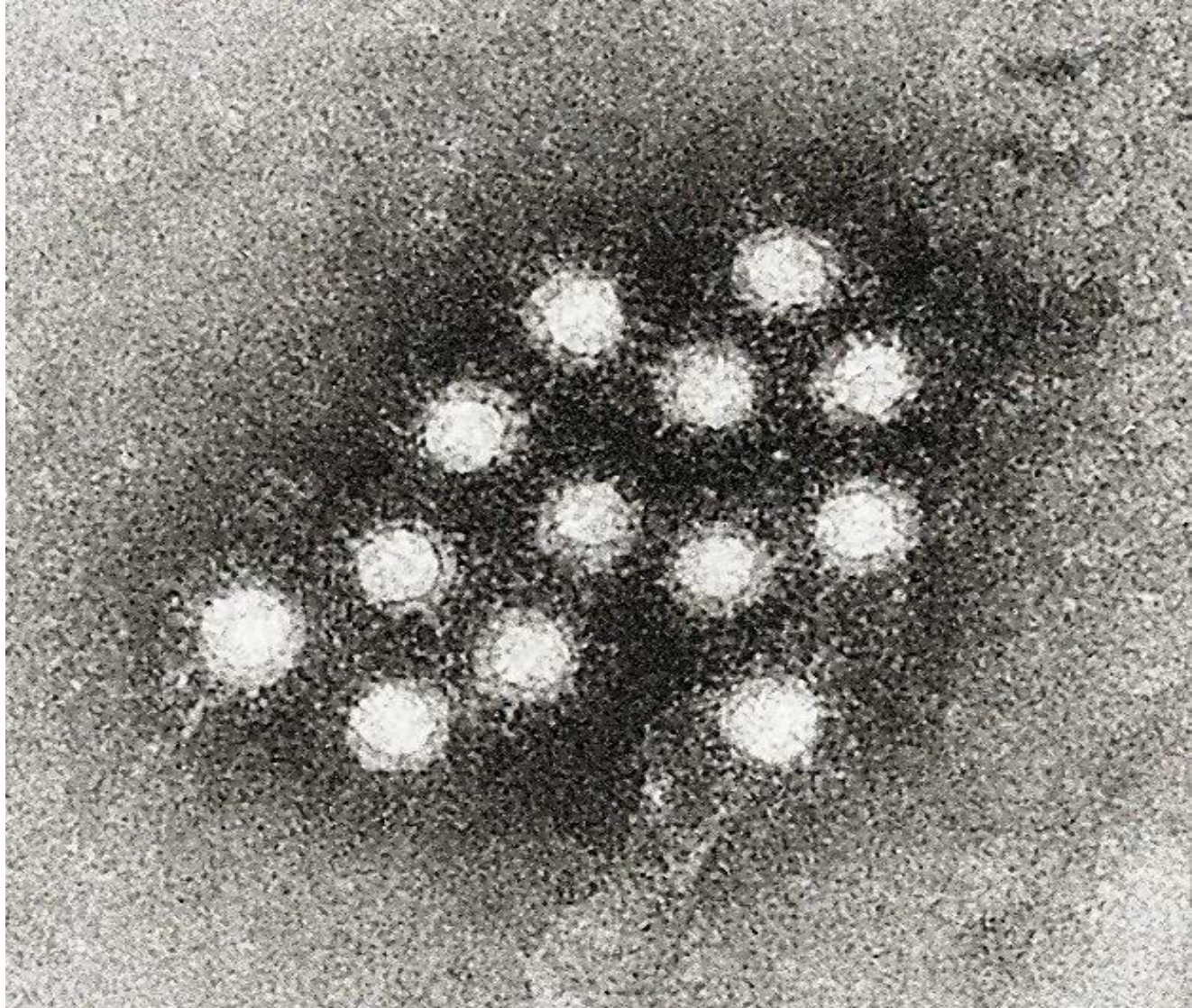
## 3. Парэховирусы

- Парэховирус человека.

## 4. Вирус гепатита Е (Heperevirus) - эпидемический острый гепатит среди беременных



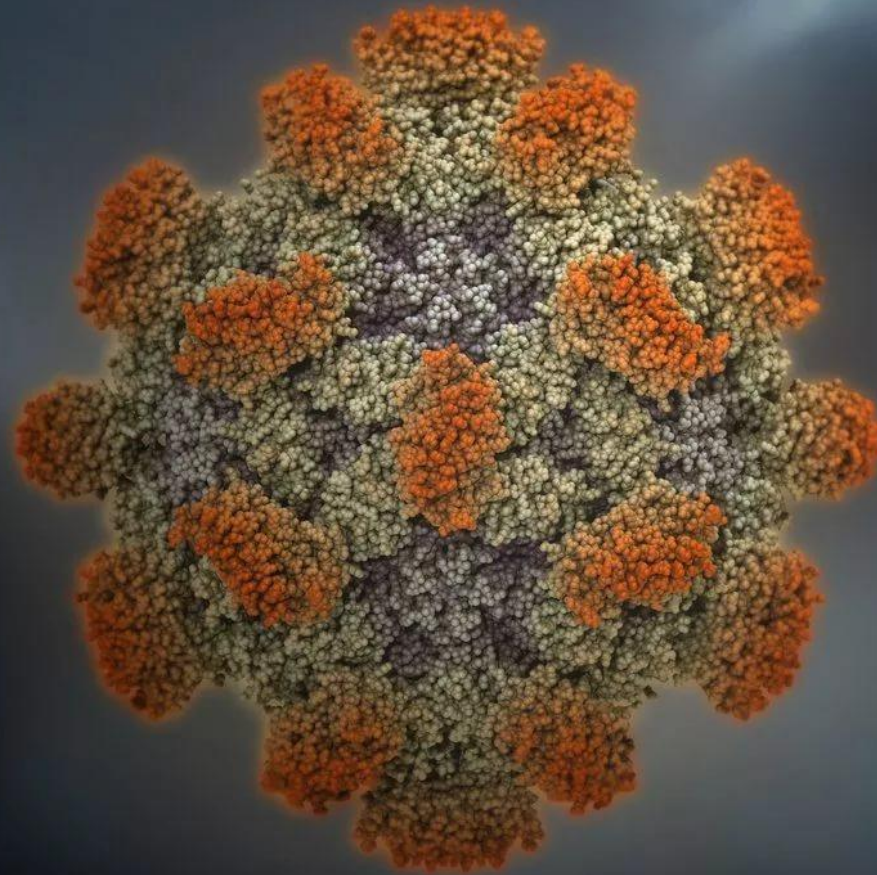
# Вирус гепатита А






# Вирус гепатита E

Hepatitis E  
PDB: 2ztn



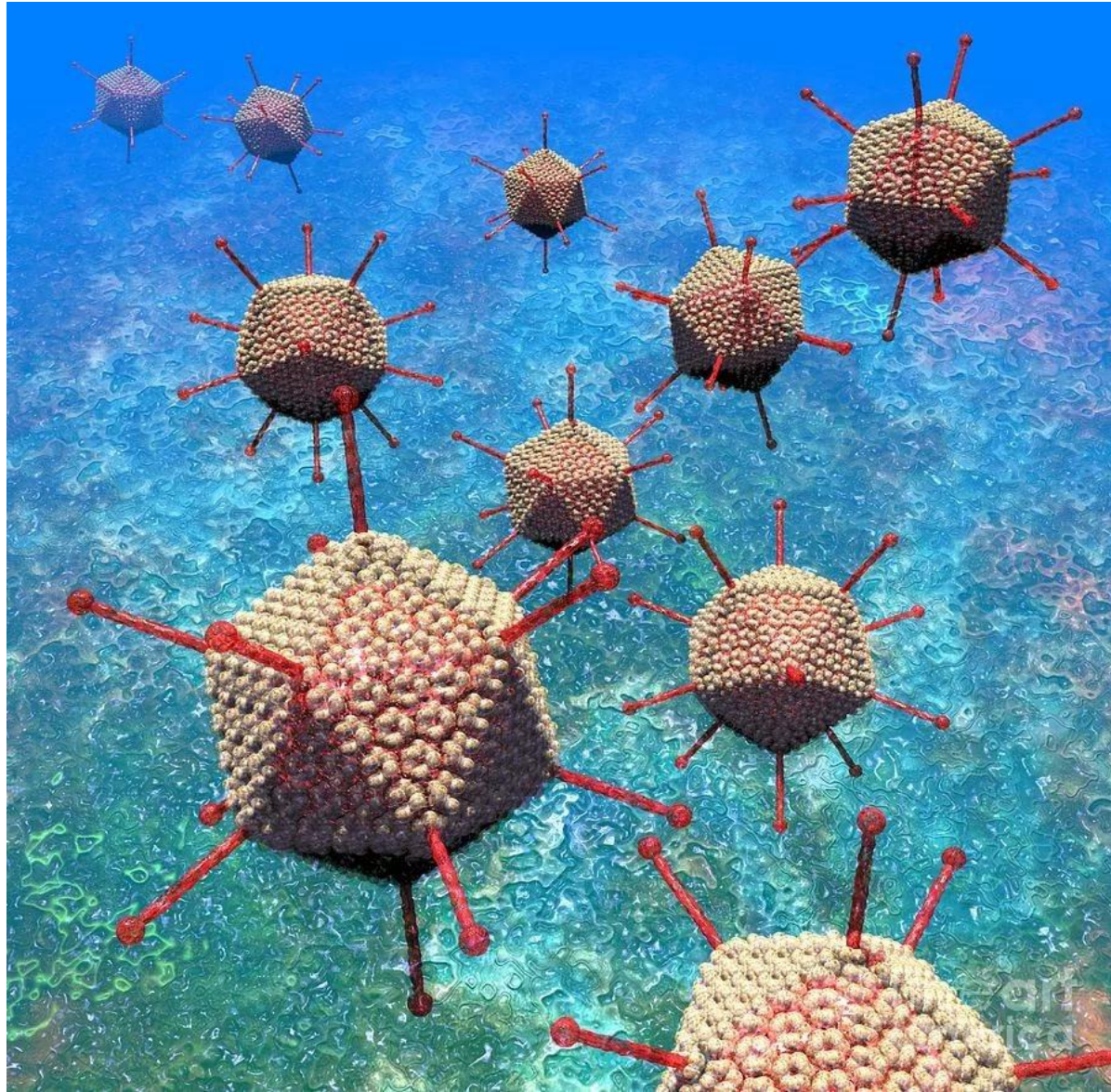


**Вирусы , геном которых  
представлен РНК**

**Аденовирусы группы F ( 40 и 41  
серотип) – гастроэнтериты , мезаде-  
ниты.**

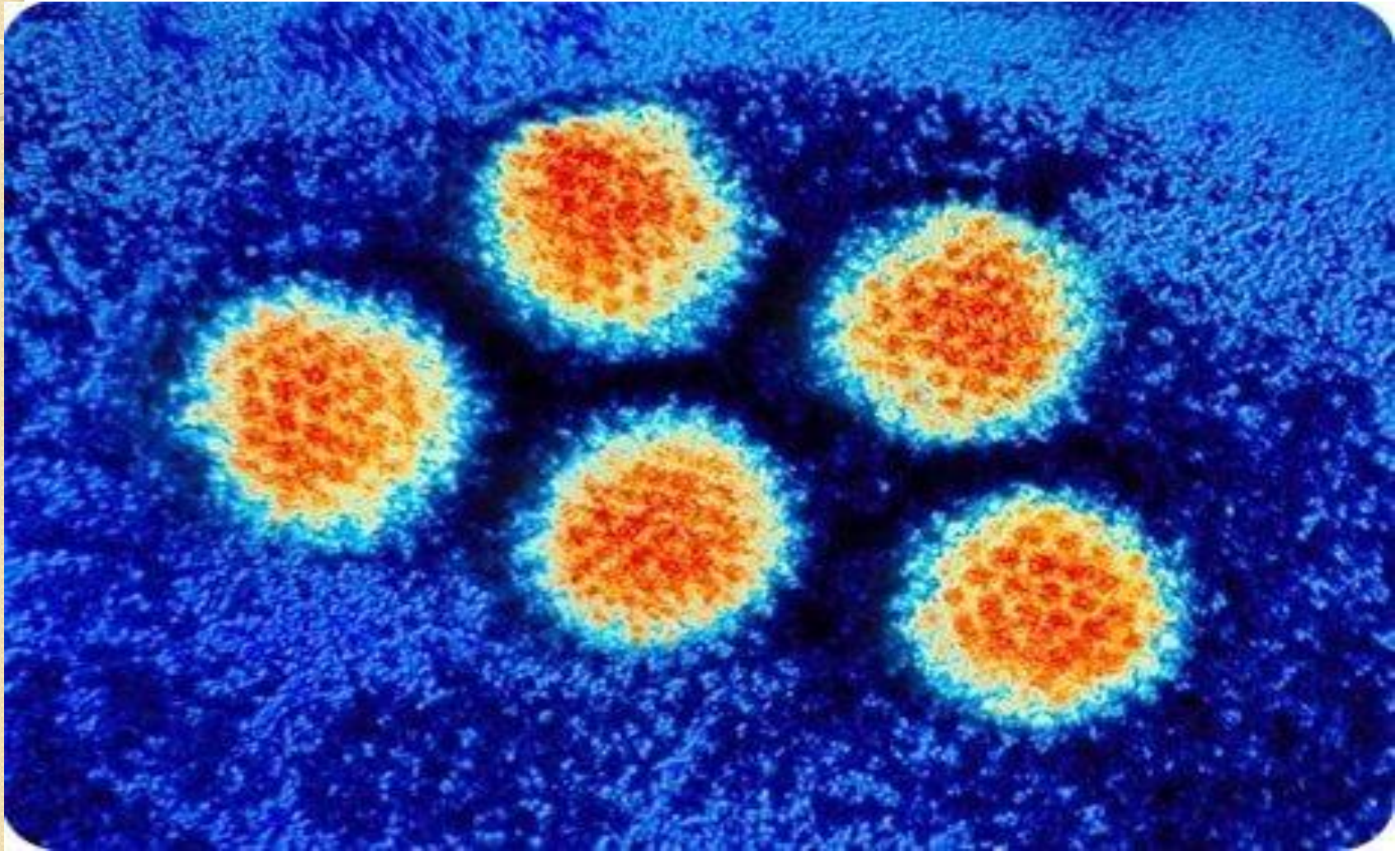


# Аденовирус группы F





# Аденовирус группы F

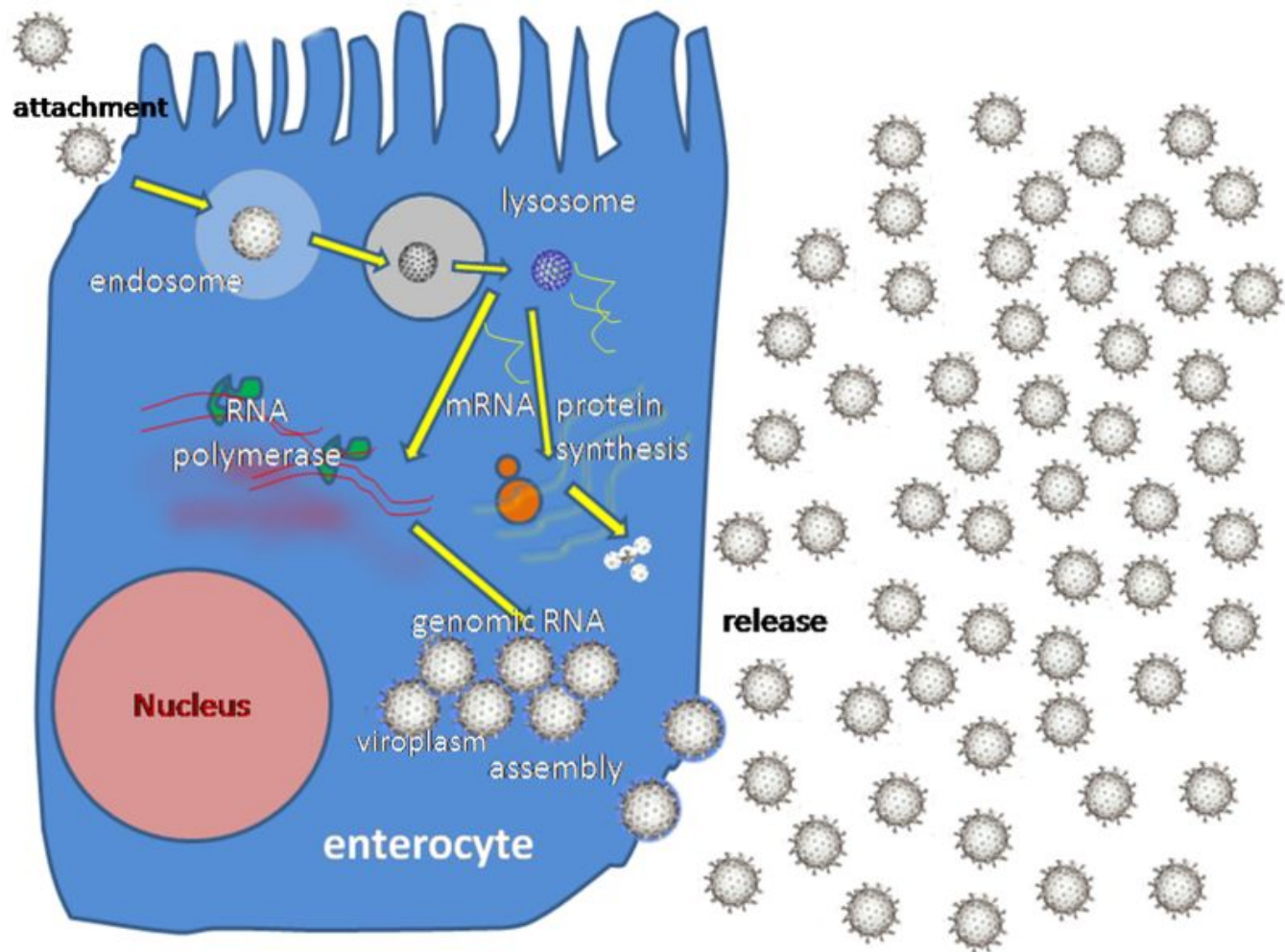




# Патогенез ОКИ вирусной этиологии

- Внутриклеточная репродукция вирусов внутри энтероцитов с последующей их гибелью, ферментативной недостаточностью, нарушением всасывания воды и электролитов с нарушением водно-солевого обмена.
- Для аденовирусов характерна персистенция в лимфоидных образованиях подслизистой оболочки ЖКТ с развитием мезаденита.

# Патогенез ОКИ вирусной этиологии



# Патогенез ОКИ вирусной этиологии

- Особенности вирусных кишечных инфекций:
  - Короткий инкубационный период.
  - Острейшее начало
  - Протекают по типу гастроэнтерита
  - Самоограничивающиеся заболевания

# Лабораторная диагностика ОКИ этиологии.

До 1.09.2021 года проводится на основе следующих документов:

- СП 3.1.1. 3108-13 «Профилактика острых кишечных инфекций»
- МУ 3.1.1.2969-11 «Эпидемиологический надзор , лабораторная диагностика и профилактика норовирусной инфекции»
- МУ 3.1.1.2957-11 «Эпидемиологический надзор , лабораторная диагностика и профилактика ротавирусной инфекции»

# Лабораторная диагностика ОКИ этиологии.

Проводится на основе следующих документов:

- МУК 4.2.2746-10 «Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов ОКИ с групповой заболеваемостью»
- МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортировки биоматериалов в микробиологические лаборатории».



# Лабораторная диагностика ОКИ этиологии.

С 1.09.2021 года проводится на основе следующих документов:

- **СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»**
- МУК 4.2.2746-10 «Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов ОКИ с групповой заболеваемостью»
- МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортировки биоматериалов в микробиологические лаборатории».

# Диагностика ОКИ вирусной этиологии

- ◆ **Иммунологические методы диагностики: выявление антигенов вирусов в фекалиях методом твердофазного ИФА и иммунохроматографии:**
- ◆ **«Ротавирус-антиген» , «ВекторБест» (ИФА)**
- ◆ **«Норовирус-антиген», «ВекторБест» (ИФА)**
- ◆ **«Аденовирус-антиген» , «ВекторБест» (ИФА)**
- ◆ **Тест-системы серии «R-Biopharm» (ИФА/ИХА)**
- ◆ **Тест-системы серии «NovaMed Ltd» (ИХА)**

# Экспресс-диагностика ОКИ вирусной этиологии



# Диагностика ОКИ вирусной этиологии

- ◆ Молекулярно-биологические методы диагностики методом ПЦР в «реальном времени»:
  - Набор «ОКИ-скрин» , серии «АмплиСенс»
  - Набор «Rotavirus, Norovirus ,Astrovirus»
  - Набор «Enterovirus-FL» , серии «АмплиСенс»
  - ▣ Набор «Norovirus I / II genogr.» , «АмплиСенс»
  - Набор «HVA» серии «АмплиСенс»/ «ВекторБест»

# Набор АмплиСенс«ОКИ-скрин»

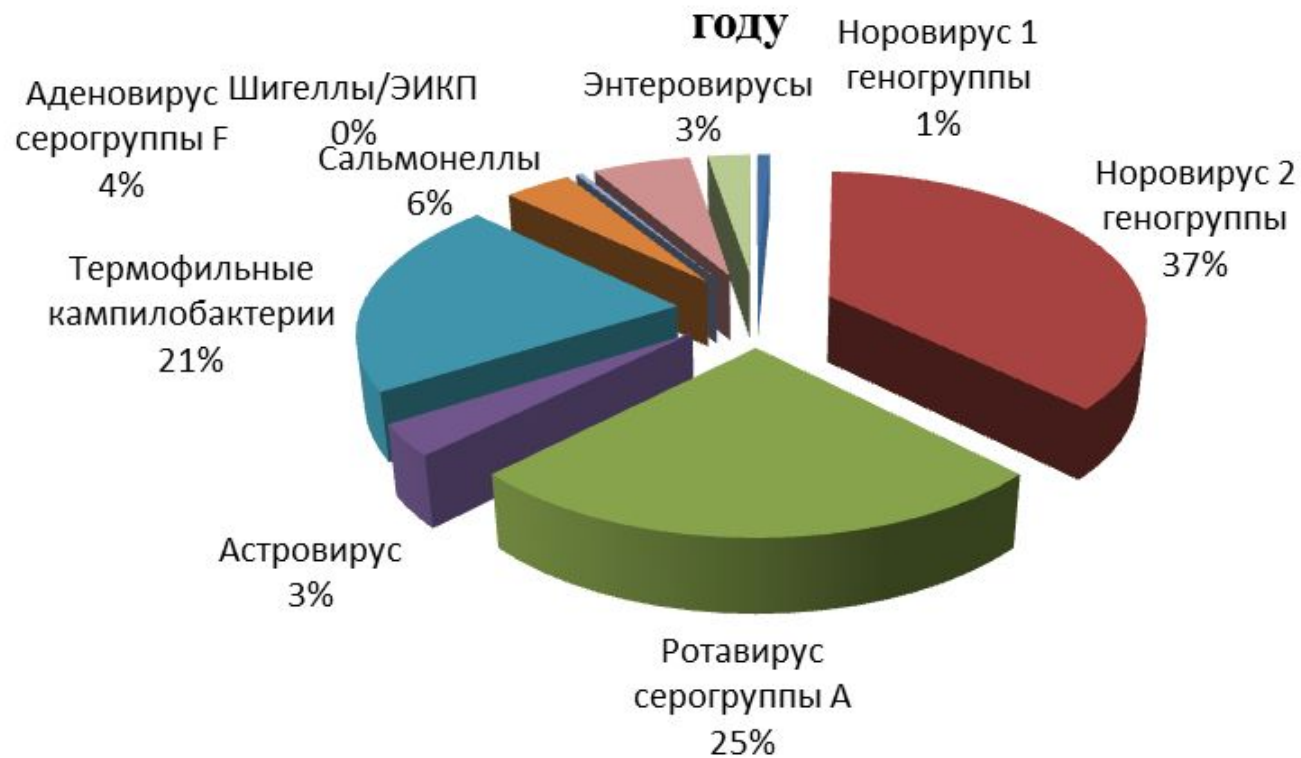
## Детектируемые возбудители:

- ◆ Норовирус II геногруппы
- ◆ Ротавирус серогруппы А
- ◆ Астровирус
- ◆ Аденовирус серогруппы F
- ◆ *Campylobacter* spp.
- ◆ *Salmonella* spp.
- ◆ *Shigella* spp./ EIEC



# Результаты исследования «ОКИ-скрин» на базе СЦБЛ «ГП №75» в 2020 г.

## Пейзаж положительных результатов ОКИ-скрин в 2020



# Набор АмплиСенс«Norovirus I/II»

## Детектируемые возбудители:

- ◆ Норовирус I геногруппы
- ◆ Норовирус II геногруппы

# Правила забора фекалий

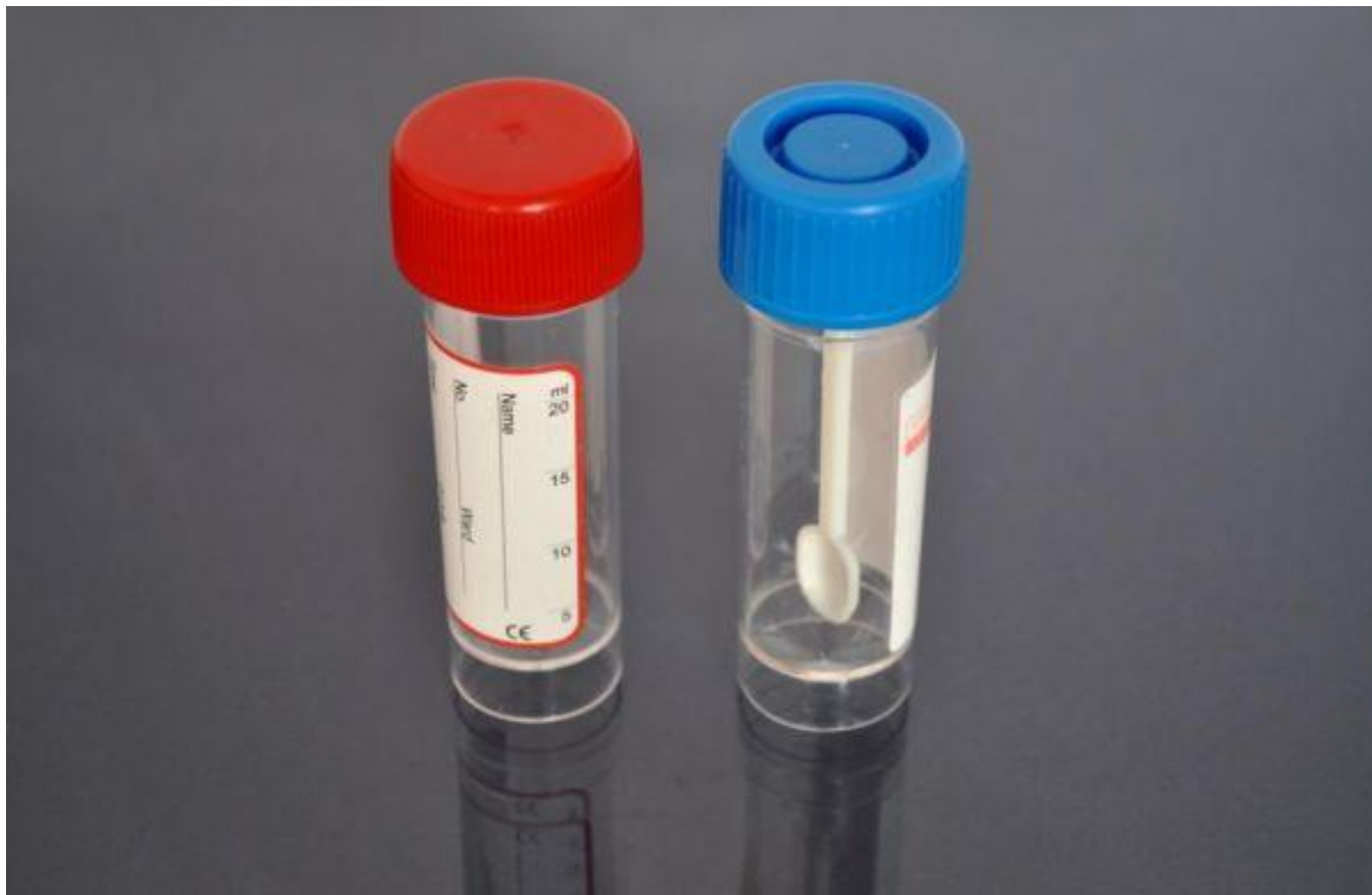
- Забор производит персонал ЛПУ из судна, горшка, простерилизованных без помощи дезинфектантов (автоклавированием, «сухим жаром» или кипячением в 1% растворе соды.)
- Патологический материал, содержащий примеси крови, слизи или гноя, забирают в объеме 2-3 г с помощью стерильного шпателя или ложки и помещают в стерильные баночки, закрывающиеся крышкой.

## Правила забора материала для ПЦР и ИФА с целью диагностики ОКИ вирусной этиологии

- **Нативные фекалии забирают в первые дни заболевания , для сбора используют стерильные контейнеры,**
- **Пробы забирают стерильной лопаточкой , заполняя исследуемым материалом 1/3 флакона.**
- **Исследование мазков неинформативно из-за низкого содержания в них возбудителей.**



# Контейнер для забора фекалий



# Правила забора материала для ПЦР и ИФА с целью диагностики ОКИ вирусной этиологии

## Образцы хранят:

- при комнатной температуре – до 6 часов,
- при температуре 2-8<sup>0</sup>С – в течение 3 суток.
- При температуре -20<sup>0</sup>С – до 1 мес.

# Пробоподготовка фекалий для ИФА с целью диагностики ОКИ вирусной этиологии

## Согласно инструкции к набору реагентов

**ИФА наборы RIDASCREEN® для выявления антигенов вирусных инфекций в кале**  
**Схема анализа**

Аналитика  
Analytica  
www.analytica.ru

гарантия качества лабораторных исследований

Ротавирус	C 0901	96
Аденовирус	C 1001	96
Астровирус	C 1301	96

Приготовить суспензию кала в буфере  
(в соответствии с инструкцией)

---

Внести в лунки по 2 капли образца, К+ и К-

---

Добавить 2 капли конъюгата

---

60 мин (20-25 °С)

---

Промыть 5 раз буфером  
Добавить 2 капли субстрата

---

15 мин (20-25 °С)

---

Добавить 1 каплю стоп-реагента  
Фотометрировать при 450 нм



r-biopharm

129145 Москва, з/я 93  
7085 721 0163  
1099777 6800  
E-mail: info@analytica.ru



## Пробоподготовка фекалий для ПЦР с целью диагностики ОКИ вирусной

### этиологии

- В соответствующее пробам количество микроцентрифужных пробирок (объемом 1,5 мл) вносят 0,8 мл фосфатного буфера (стерильного изотонического раствора натрия хлорида).
- В каждую пробирку отдельным наконечником с аэрозольным барьером (или одноразовыми лопатками) вносят 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспендируют на вортексе до образования гомогенной суспензии.

## Пробоподготовка фекалий для ПЦР с целью диагностики ОКИ вирусной

**этиологии**  
При невозможности исследования материала в течение суток и/или необходимости длительного хранения к 10-20 %-й суспензии **фекалий** в фосфатном буфере (или стерильном изотоническом растворе натрия хлорида) добавляют глицерин в конечной концентрации 10-15 %.

Подготовленные таким образом пробы замораживают только после тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30-40 минут.

# Пробоподготовка фекалий для ПЦР с целью диагностики ОКИ вирусной этиологии

Приготовление осветленного экстракта фекалий для выявления вирусных агентов:

- Для приготовления осветленного экстракта фекалий используют фекалии водянистой консистенции, свежеприготовленную суспензию фекалий или суспензию, подвергавшуюся замораживанию с глицерином.
- Взвесь фекалий интенсивно гомогенизируют на вортексе. Осветляют полученную суспензию путем центрифугирования при 12 тыс об./мин. на центрифуге «MiniSpin», Eppendorf, Германия) в течение 5 минут.



# Пробоподготовка фекалий для ПЦР с целью диагностики ОКИ вирусной

## этиологии Условия хранения материала и предварительно обработанных проб

- **Образцы нативных фекалий:**
  - при температуре 2-8°C — в течение 1 суток.
- **Фекальная суспензия с глицерином, бактериальная фракция и осветленный фекальный экстракт:**
  - при температуре минус 20°C — в течение 1 недели;
  - при температуре минус 70°C — длительно.
- Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

# Протозойные инфекции кишечника

Обусловлены паразитированием в кишечнике одноклеточных эукариотических организмов разных типов простейших Царства Protozoa (Простейшие , Protista)

- Паразитические амебы (Rhizopoda)
- Жгутиконосцы (Polymasigota)
- Кокцидии (Sporozoa)
- Инфузории (Ciliophora)

# Протозойные инфекции кишечника

**Многие паразитические организмы распространены повсеместно:**

- **Лямблии**
- **Паразитические амёбы**
- **Бластоцисты**
- **Диентамебы**



# Протозойные инфекции кишечника

Однако значительное число видов встречается преимущественно в тропической и субтропической зоне:

- Дизентерийная амёба
- Изоспора
- Циклоспора

# Протозойные инфекции кишечника

Для каждого вида кишечных простейших характерна своя экологическая ниша:

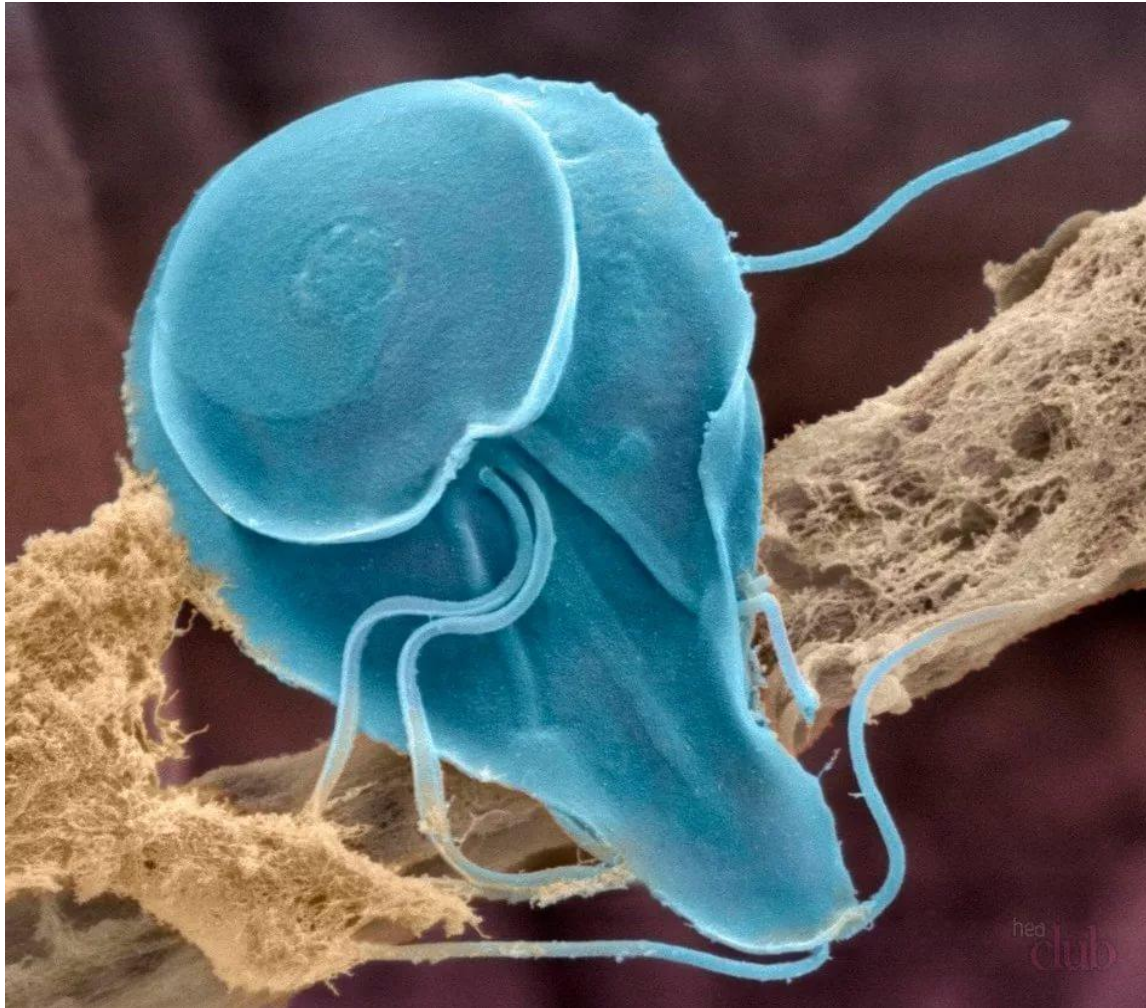
- В тонком кишечнике преобладают лямблии и простейшие класса кокцидий (криптоспоридии, изоспоры, саркоцисты)
- В их жизненном цикле существуют эндогенные внутриклеточные стадии, развивающиеся в эпителии кишечника, или имеющие тропизм к области его микроворсинок (криптоспоридии).

# Лямблии

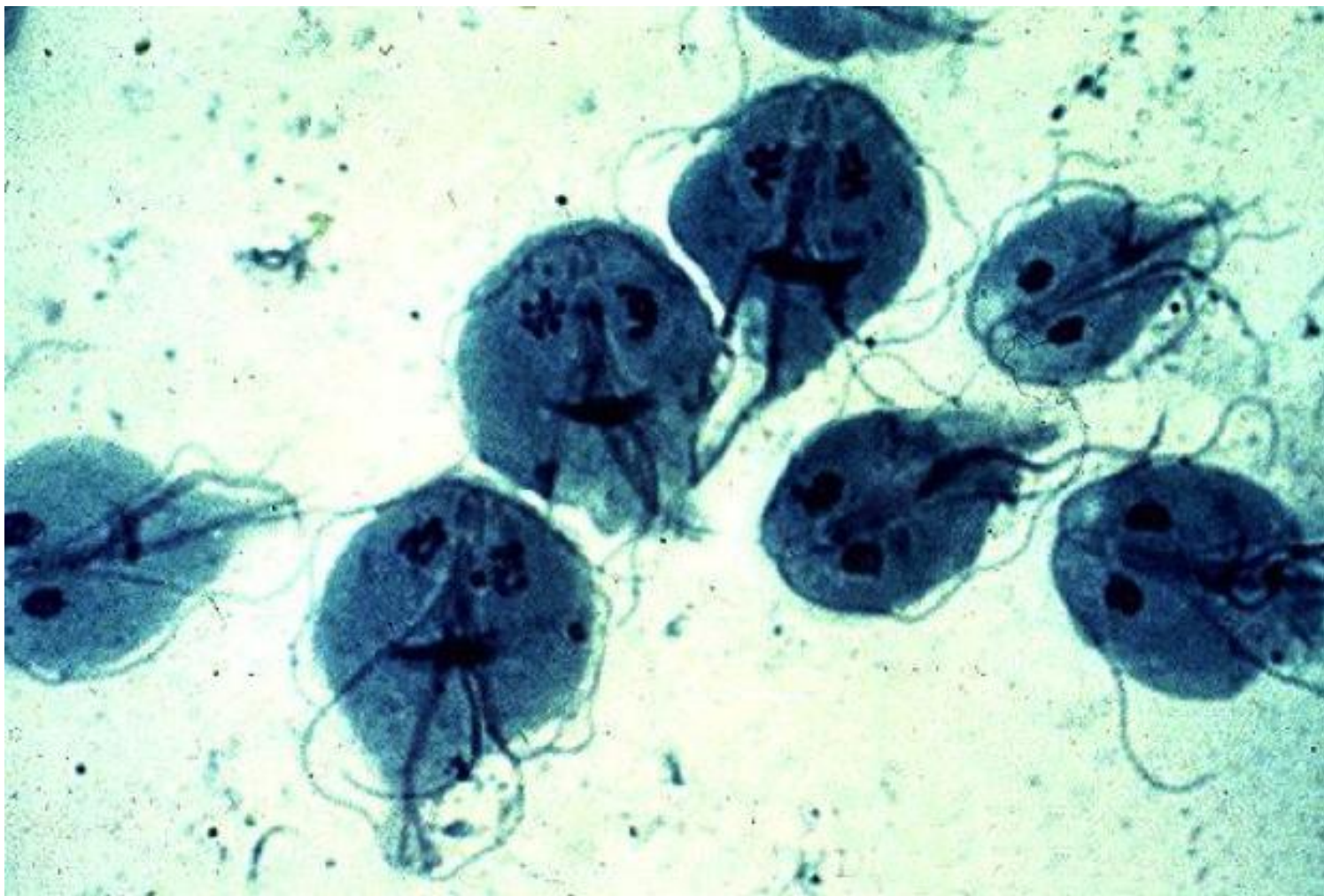
- **Лямблии (*Lambliia intestinalis*)**
- Вызывает **лямблиоз**- протозооз , протекающий как в виде латентного паразитоносительства , так и в манифестных формах с преимущественным поражением тонкого кишечника.
- Обитает в тонком кишечнике. Способны существовать только в тесном контакте с поверхностью щеточной каймы эпителия тонкого кишечника.
- Характерно цистообразование.
- Путь передачи-водный. Устойчивы к хлору.



# Лямблии

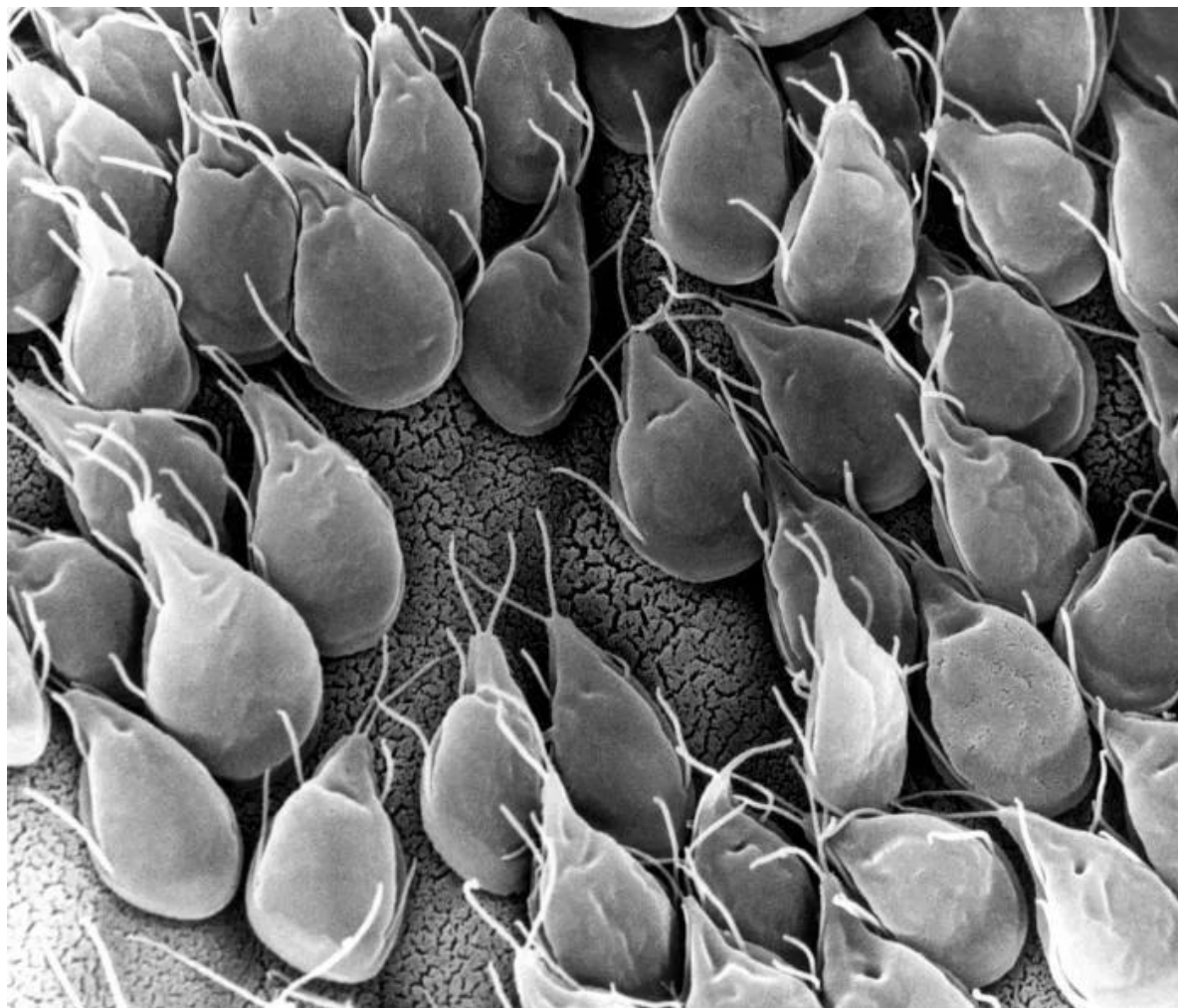


# Лямблии



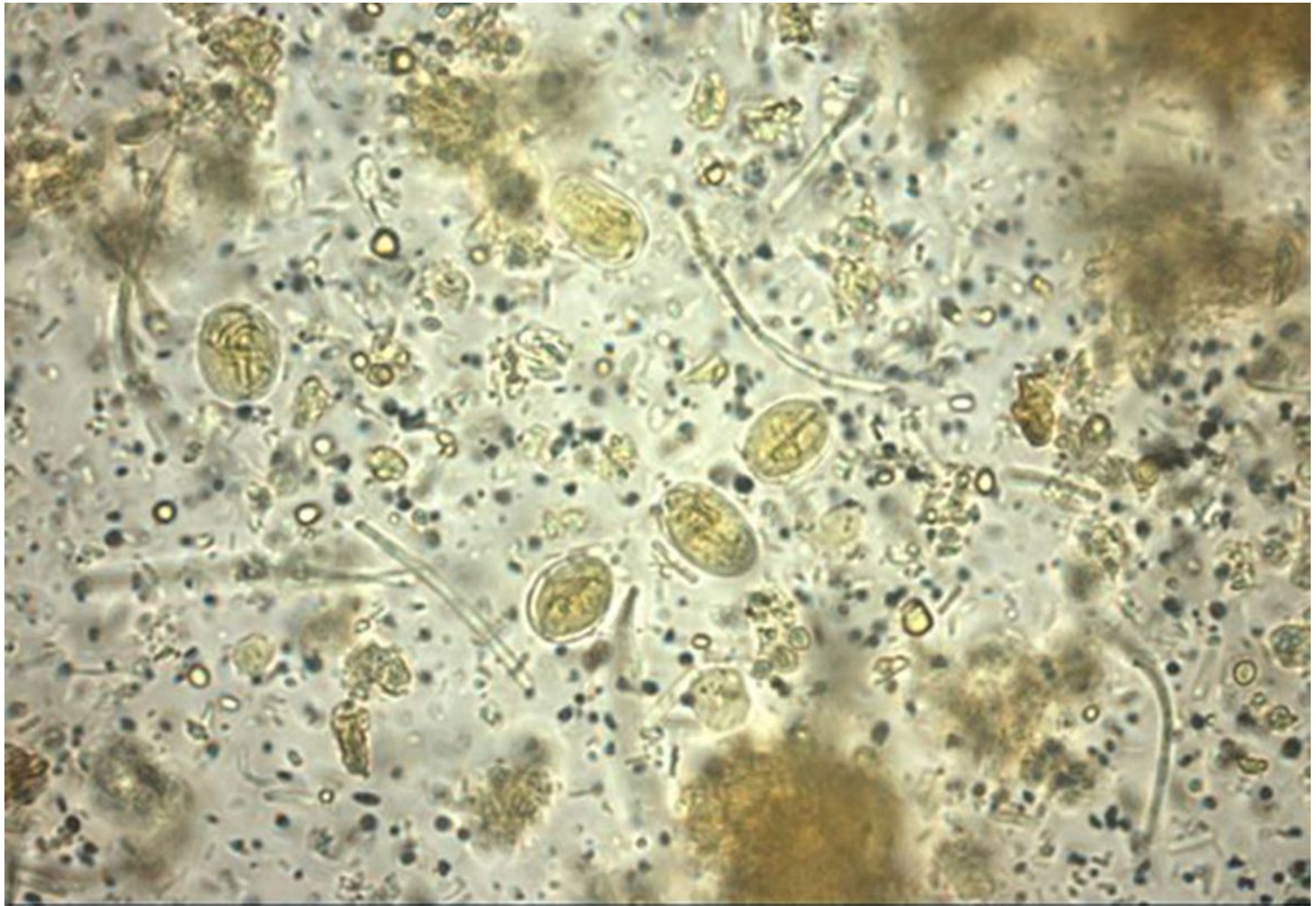


# Лямблии





# Лямблии

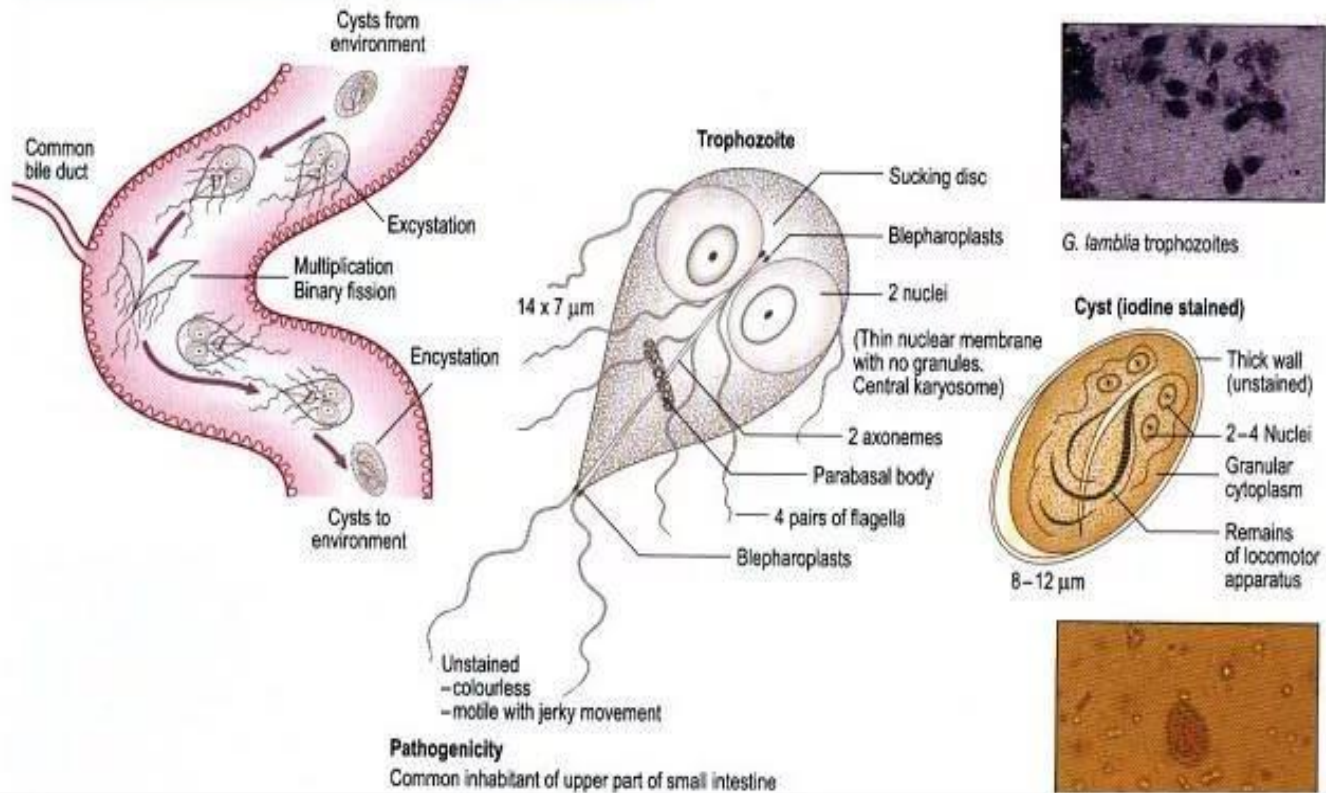


Цисты *Lamblia intestinalis*. Окраска раствором Люголя. ©

# Лямблии

## *Giardia intestinalis* (*G. lamblia*)

### Life cycle



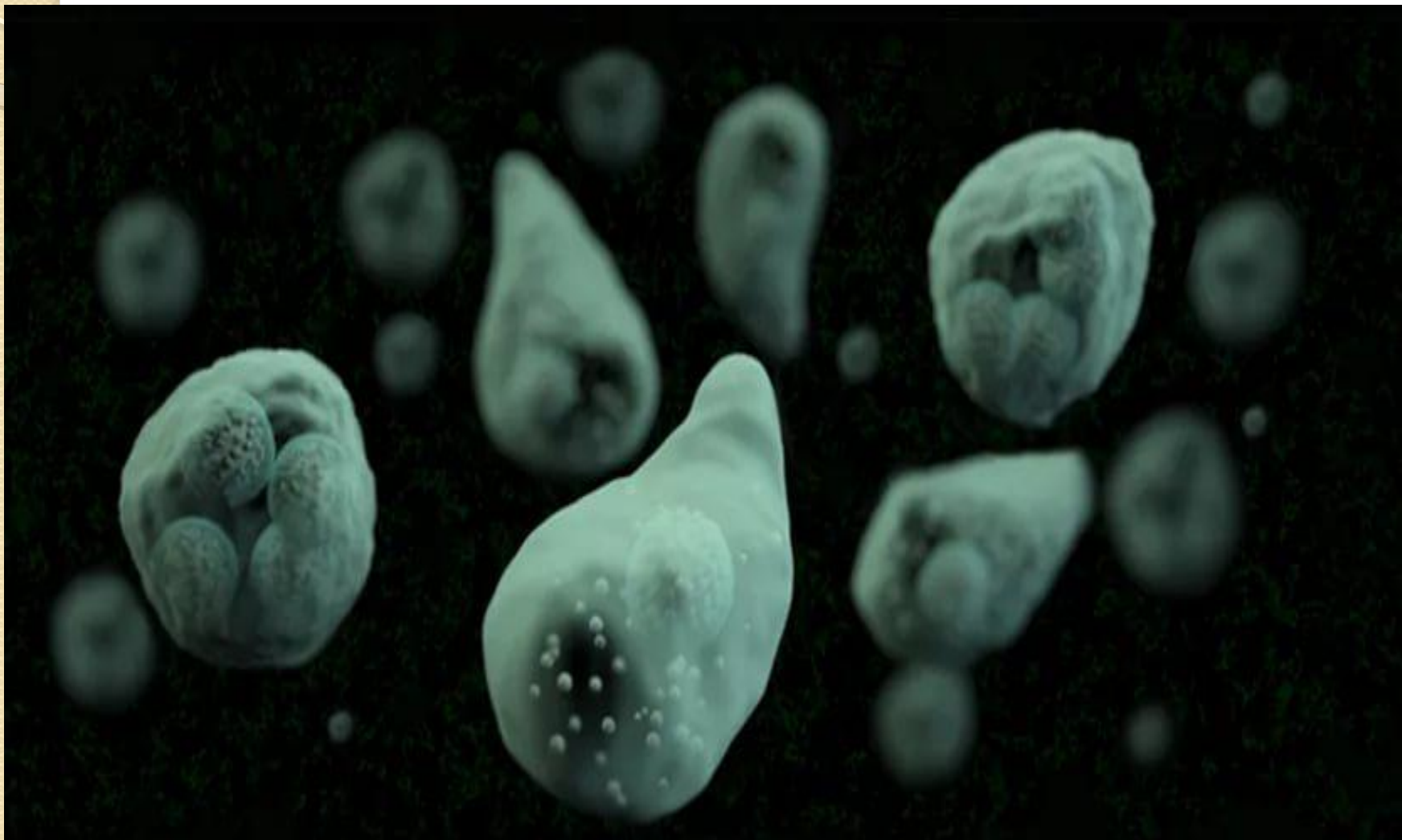
# Протозойные инфекции кишечника

Для каждого вида кишечных простейших характерна своя экологическая ниша:

- Толстый кишечник колонизируют паразитические амебы, балантидии и бластоцисты.
- При определенных условиях их представители *Entamoeba histolytica* и *Balantidium coli* могут нарушать целостность слизистой оболочки.



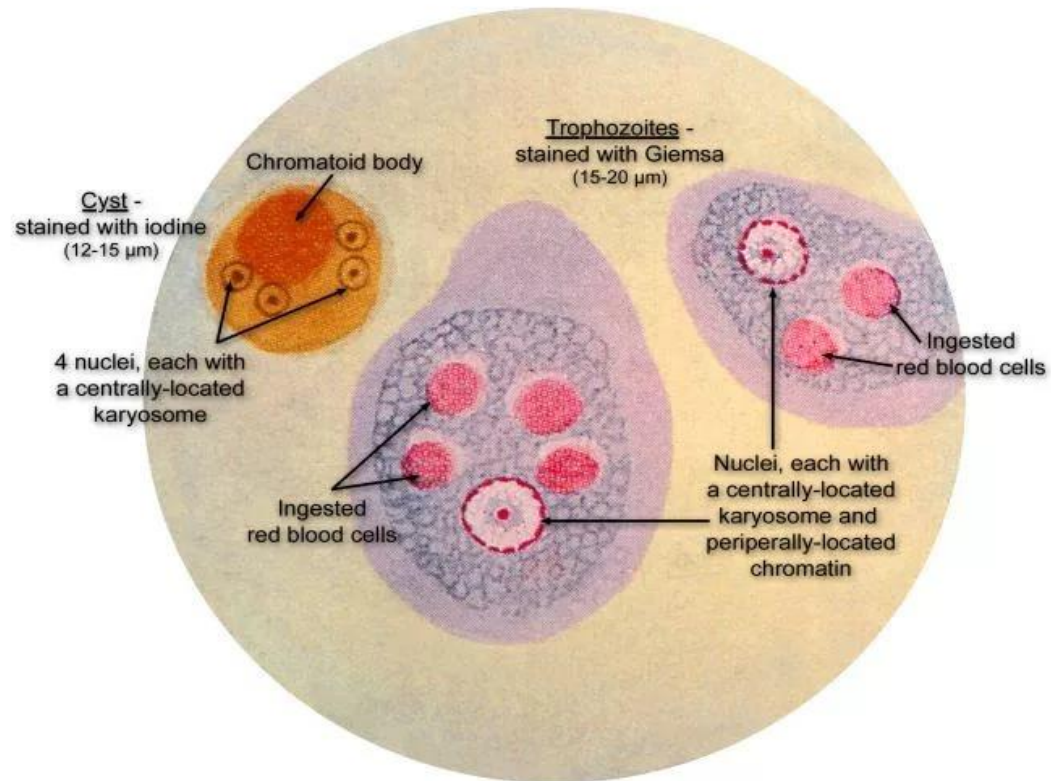
# Дизентерийная амёба



# Амебиаз

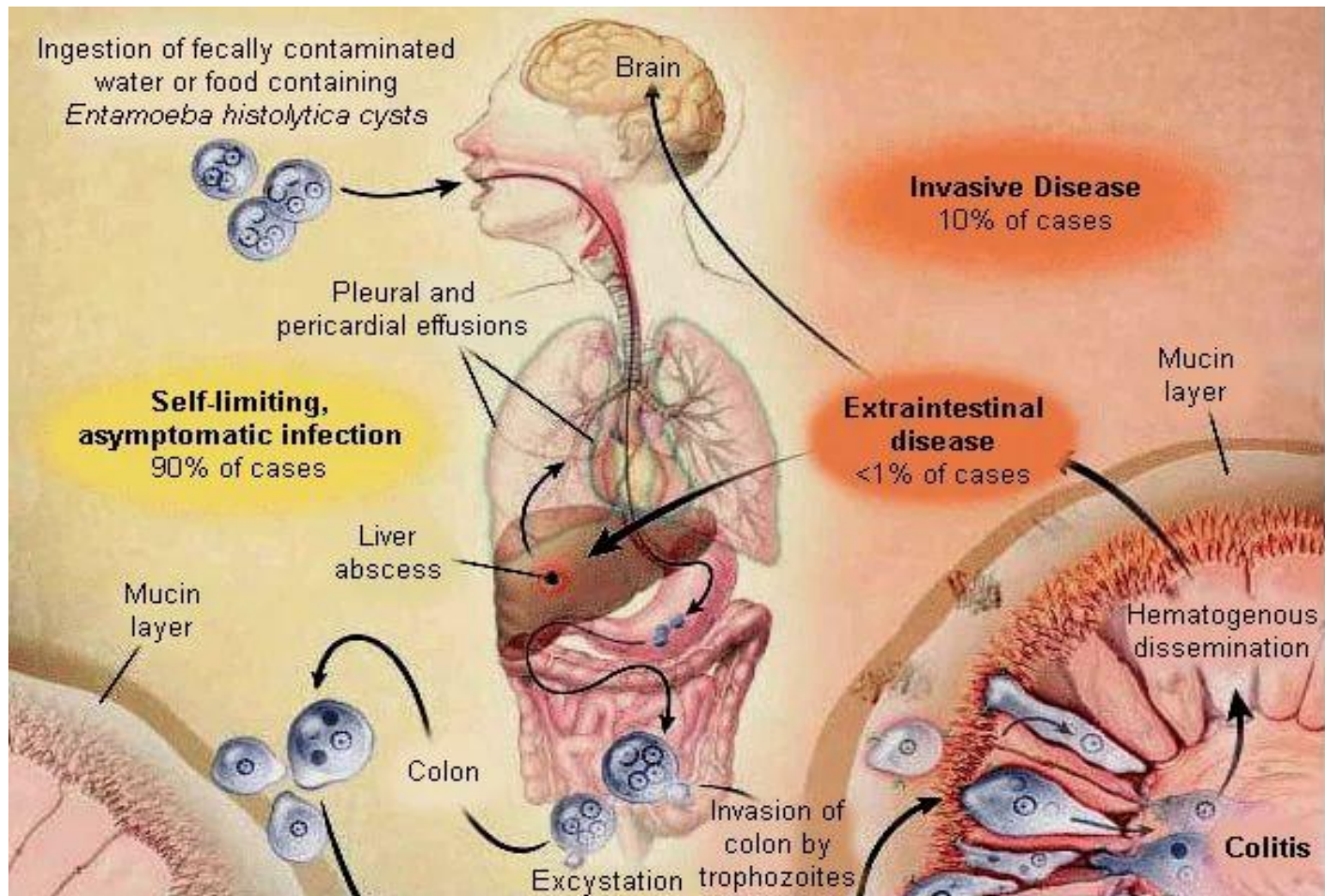
- протозойный антропоноз , в клинически выраженных случаях проявляющийся преимущественно язвенным поражением толстого отдела кишечника , а также развитием абсцессов в печени и в других органах.
- Возбудитель – дизентерийная амеба ( *Entamoeba histolytica* )

# Дизентерийная амёба





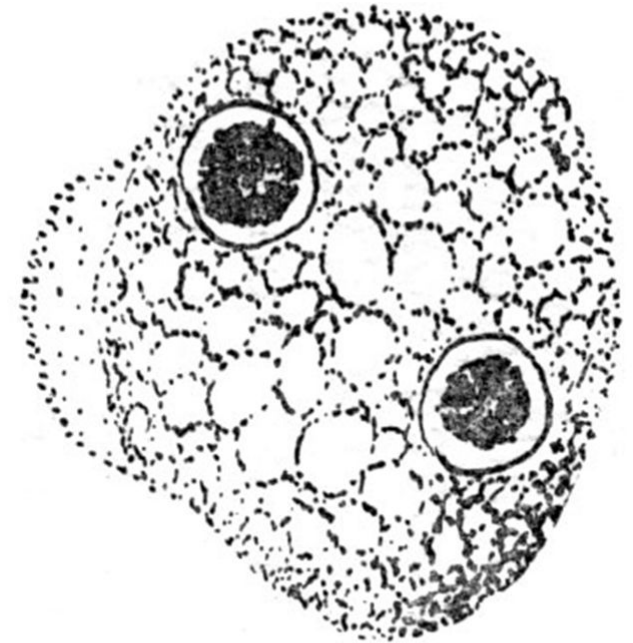
# Дизентерийная амёба





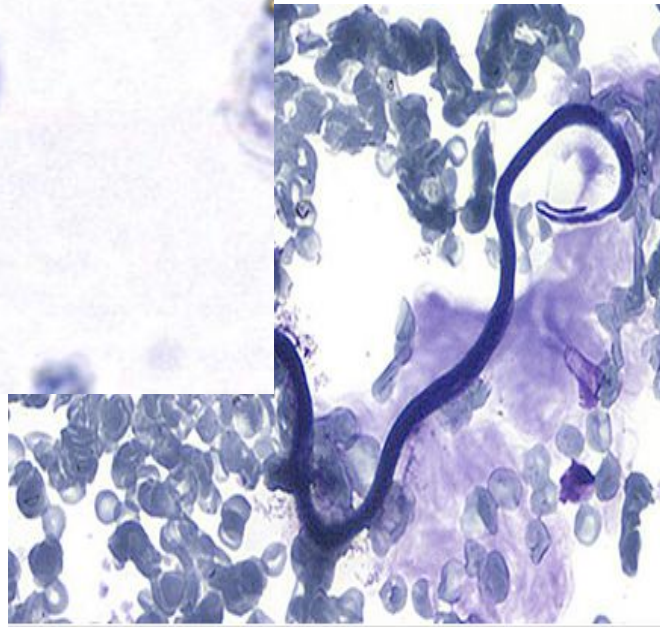
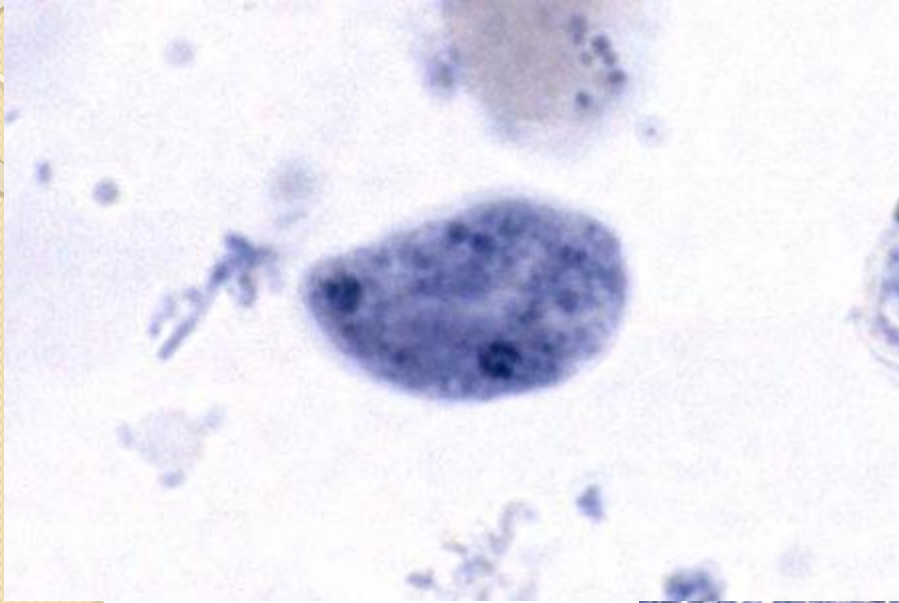
# Диентамеба (*Dientamoeba fragilis*)

- Паразит человека.
- Обитает в толстом кишечнике
- При наличии в кишечнике большого количества диентамеб может наблюдаться диарея.
- При обычных исследованиях кала диентамебы выявляются редко, т.к. Определить их в нативных мазках трудно, а приготовление окрашенных препаратов трудоемко.
- Фактором передачи служат яйца остриц и других нематод.



*Dientamoeba fragilis*  
(по В.Г. Гнездилову, 1959).

# Диянтамёба фрагилис



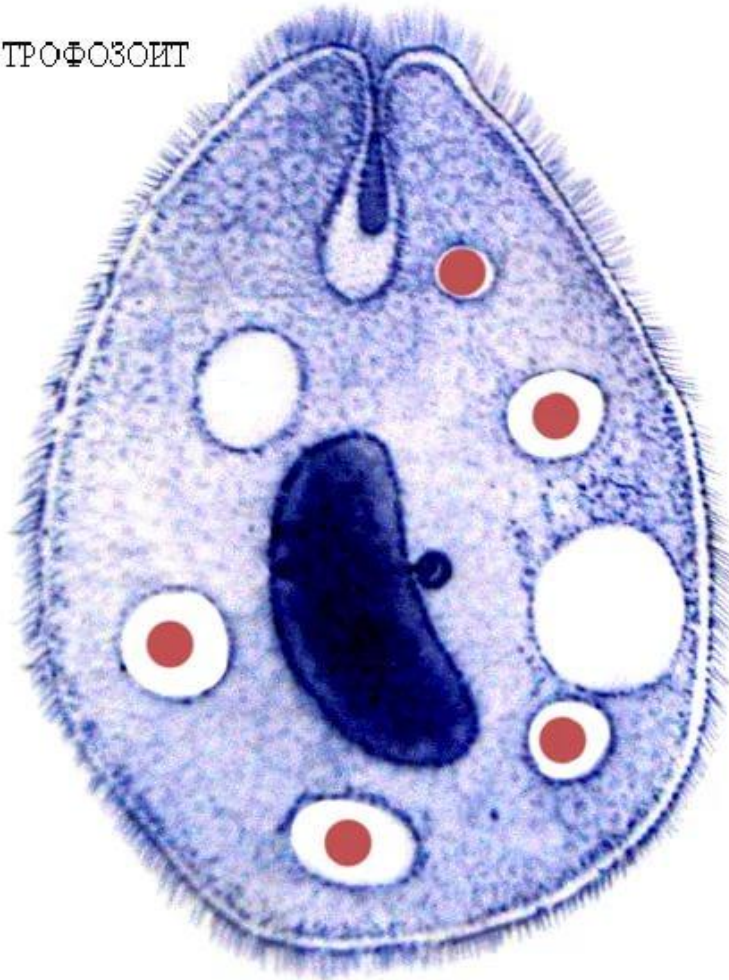
# Инфузории, вызывающие кишечные протозозы

- **Балантидий- *Balantidium coli***
- Наиболее крупное из обитающих в кишечнике человека простейших.
- Балантидиаз- протозойное зоонозное заболевание, характеризующееся общей интоксикацией, язвенным поражением толстой кишки, изнурительным поносом и истощением.
- Чаще протекает бессимптомно.

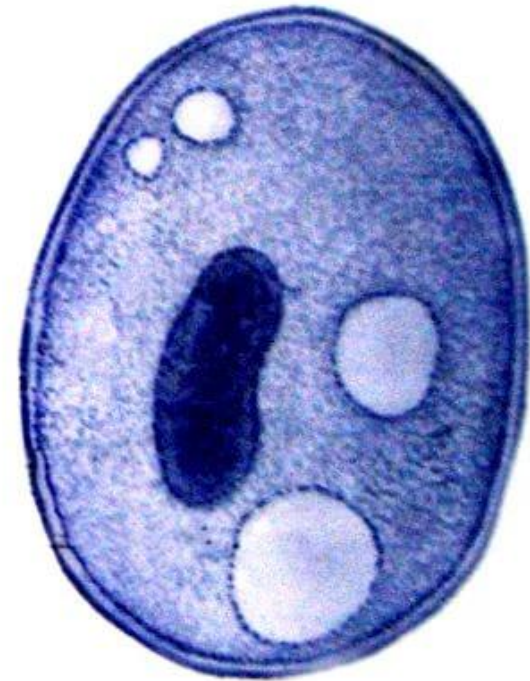


# Balantidium coli

ТРОФОЗОИТ

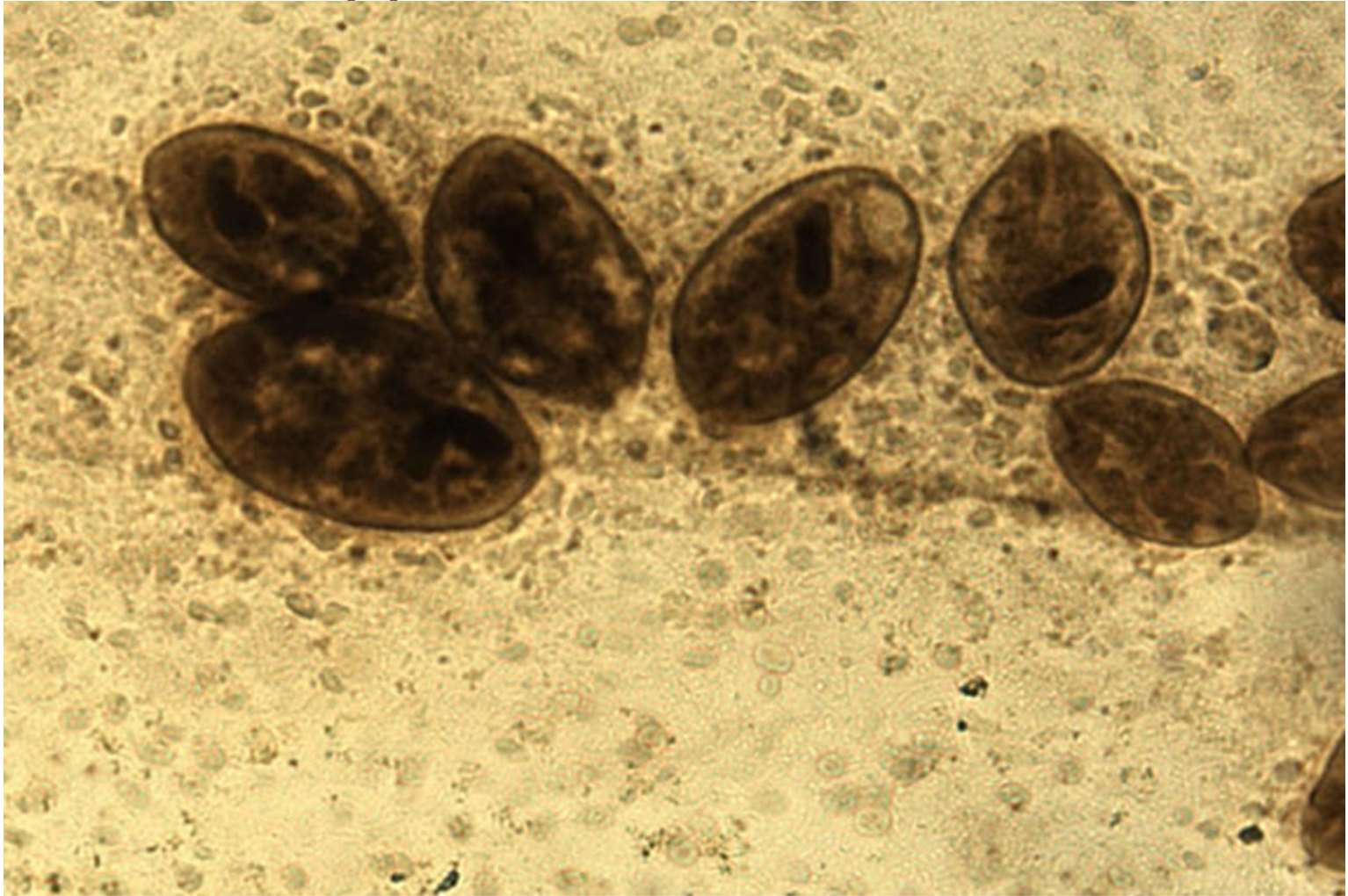


ЦИСТА





# Балантидий



Вегетативные стадии *Balantidium coli*. Окраска железным гематоксилином по Гайденгайну. ©

# Изоспоры

- Изоспороз- антропонозная протозойная кишечная инфекция , характеризующаяся лихорадкой , поражением желудочно-кишечного тракта , обезвоживанием организма и снижением массы тела.
- Наблюдается чаще у детей у лиц с иммунодефицитом ( на фоне ВИЧ-инфекции)

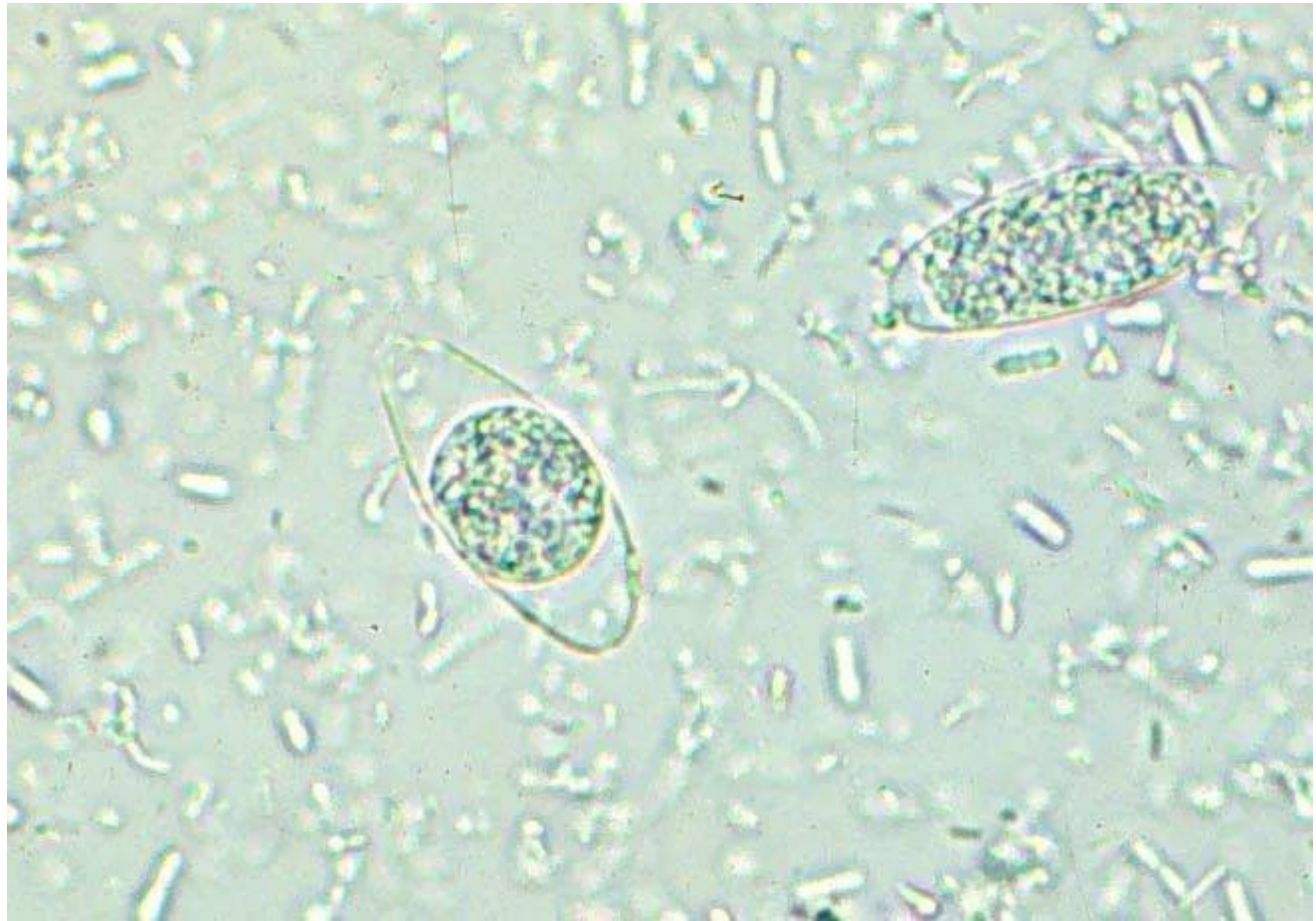


# Izospora bellii

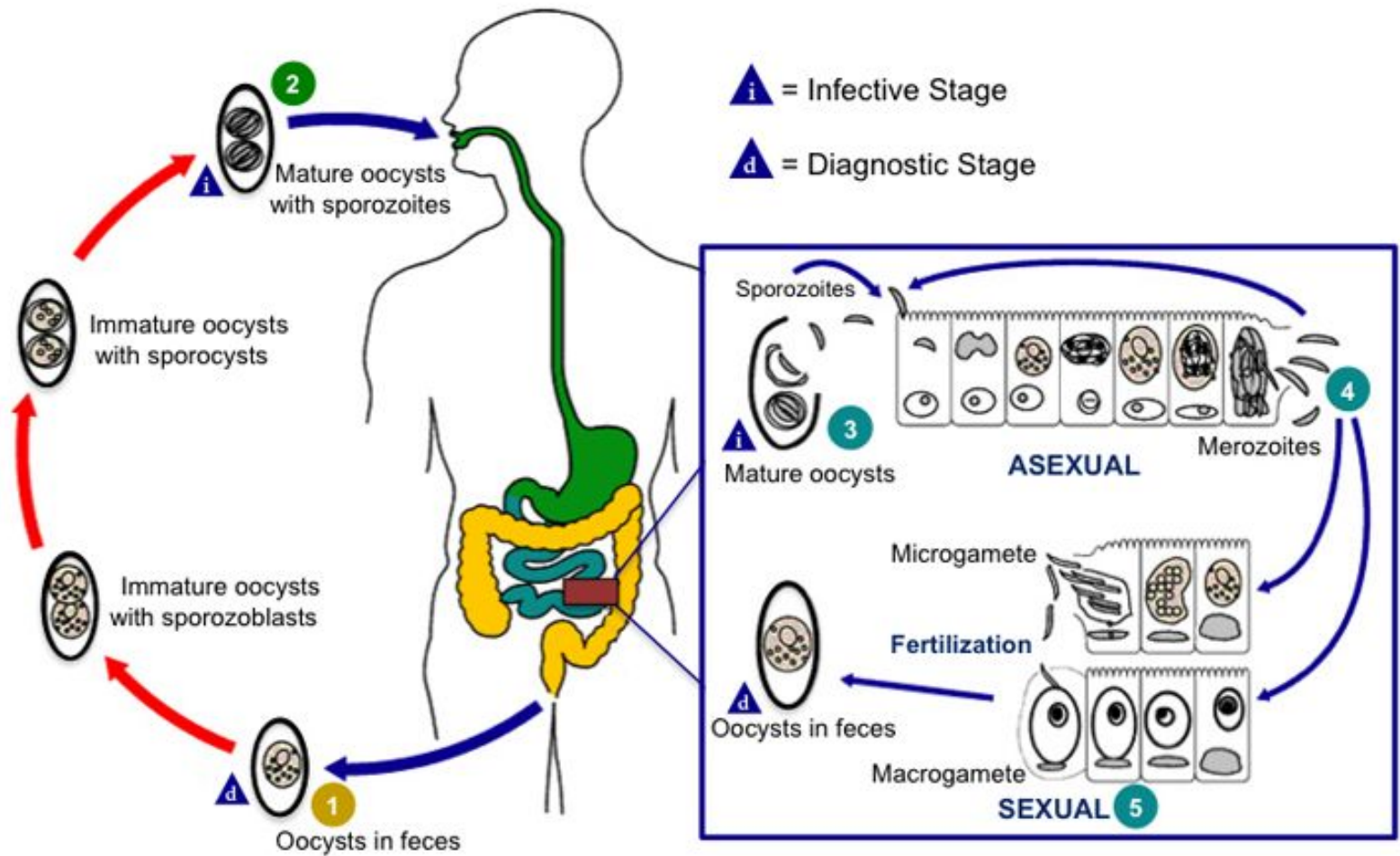




# Izospora bellii



# Izospora belli

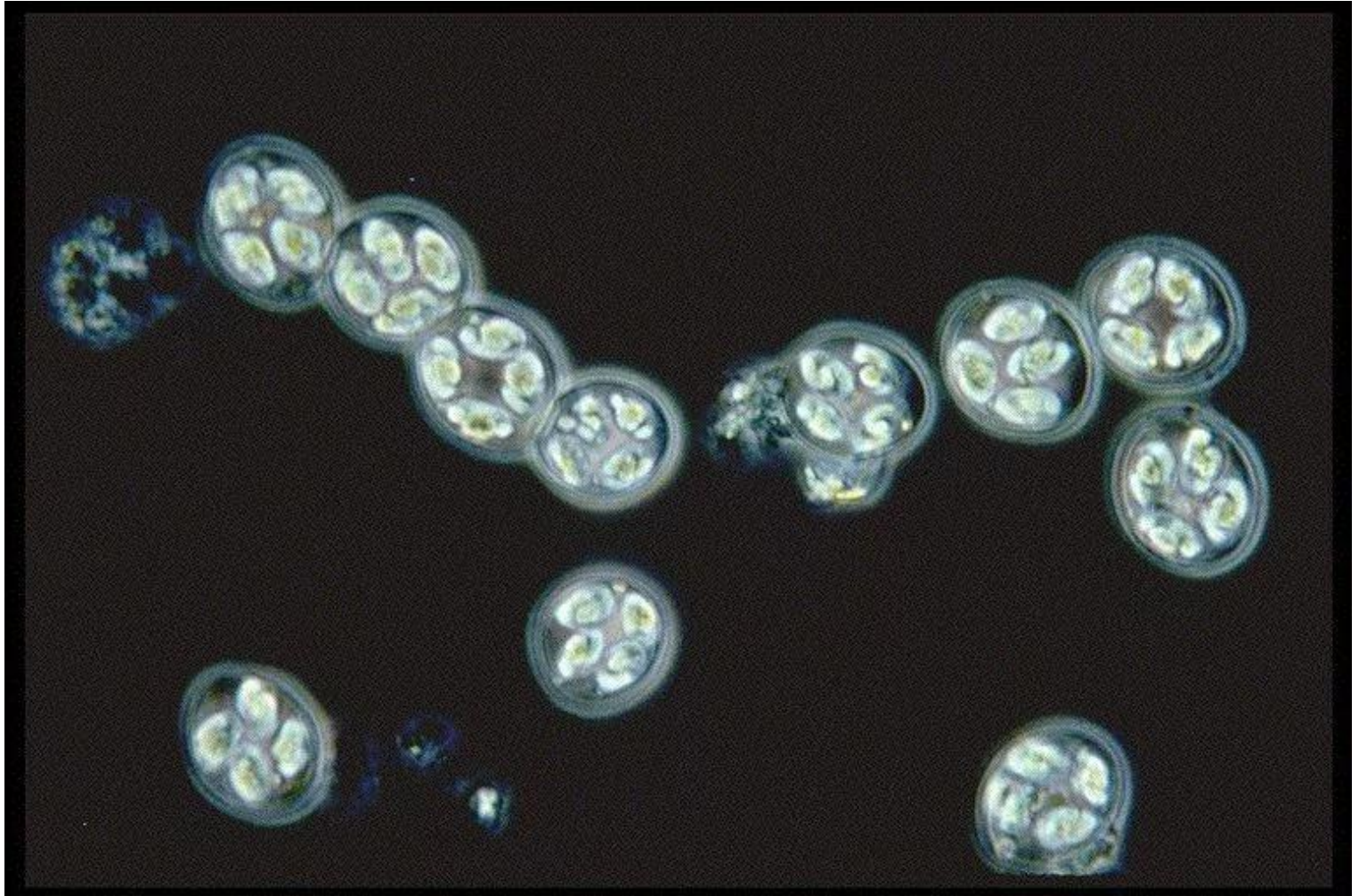


# Криптоспоридии

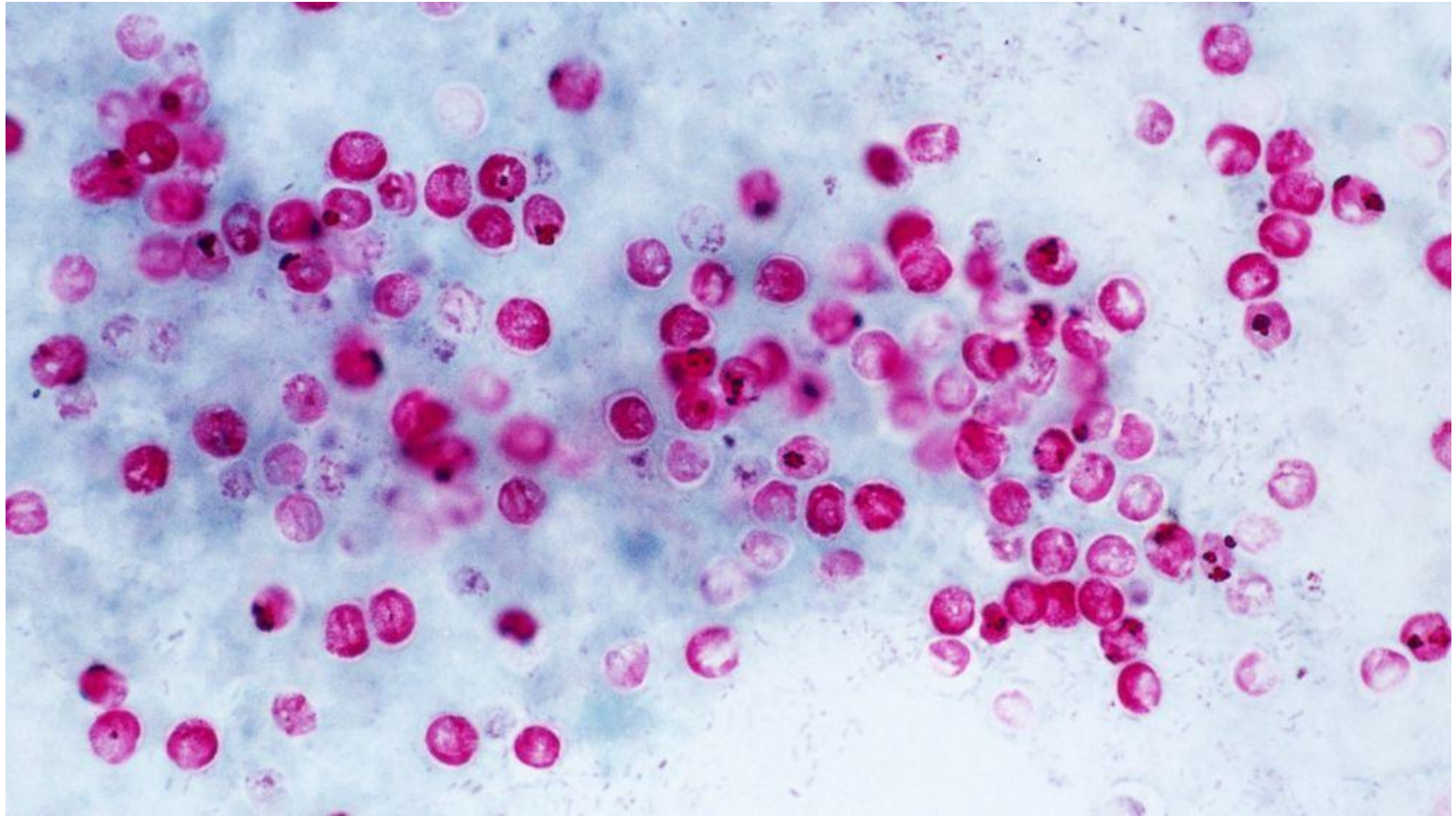
- Криптоспоридиоз- протозойное заболевание , протекающее с поражением слизистых оболочек пищеварительной системы и появляющееся профузной диареей , синдромом мальабсорбции и потерей массы тела.
- Наблюдается чаще у детей у лиц с иммунодефицитом ( на фоне ВИЧ-инфекции)



# Cryptosporidium parvum

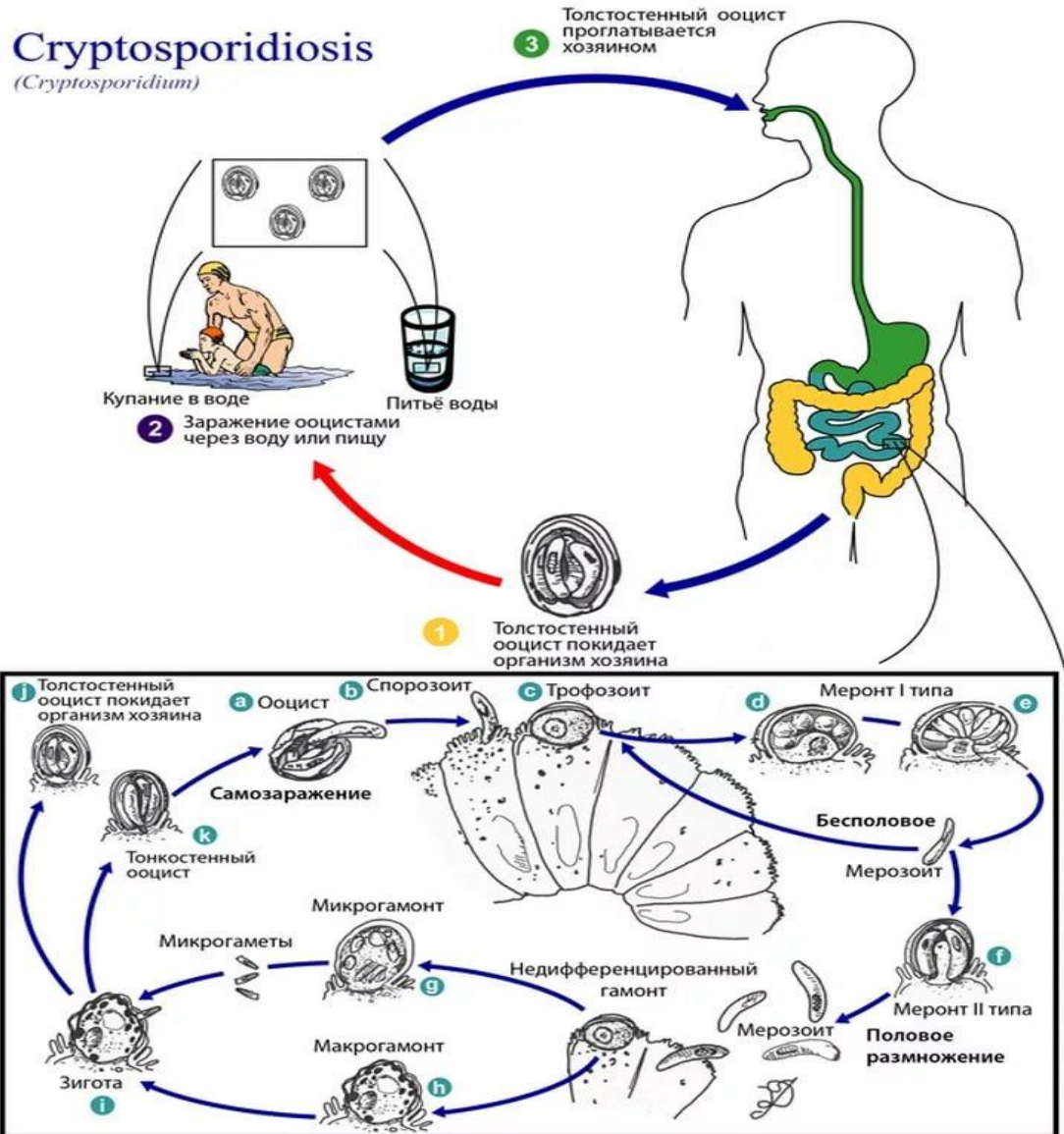


# Cryptosporidium parvum





# Cryptosporidium parvum

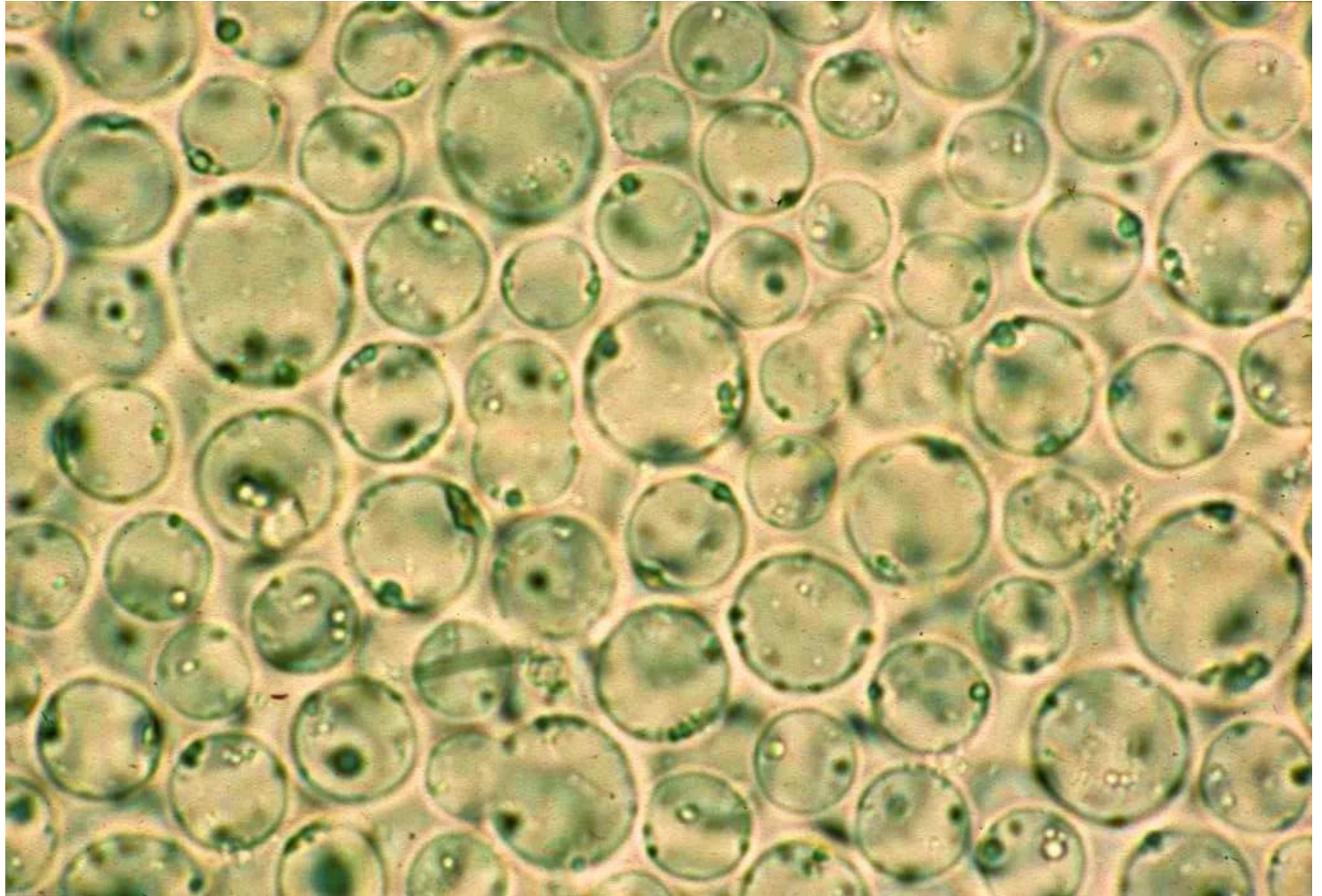




# Бластоциста (*Blastocystis hominis*)

- Кроме амёб из класса Rhizopoda в толстом кишечнике обитает бластоциста человеческая.
- Полиморфный паразит ( амебоидная , гранулярная , вакуолярная формы )
- Патогенная роль не определена.
- В тропических странах инвазировано до 40% населения.
- Обнаруживаются в сочетании с другими патогенными микроорганизмами ЖКТ ( сальмонеллы , шигеллы).
- Тяжелые кишечные расстройства развиваются у лиц с хроническими инфекциями (особенно у детей ).

# Blastocysta hominis

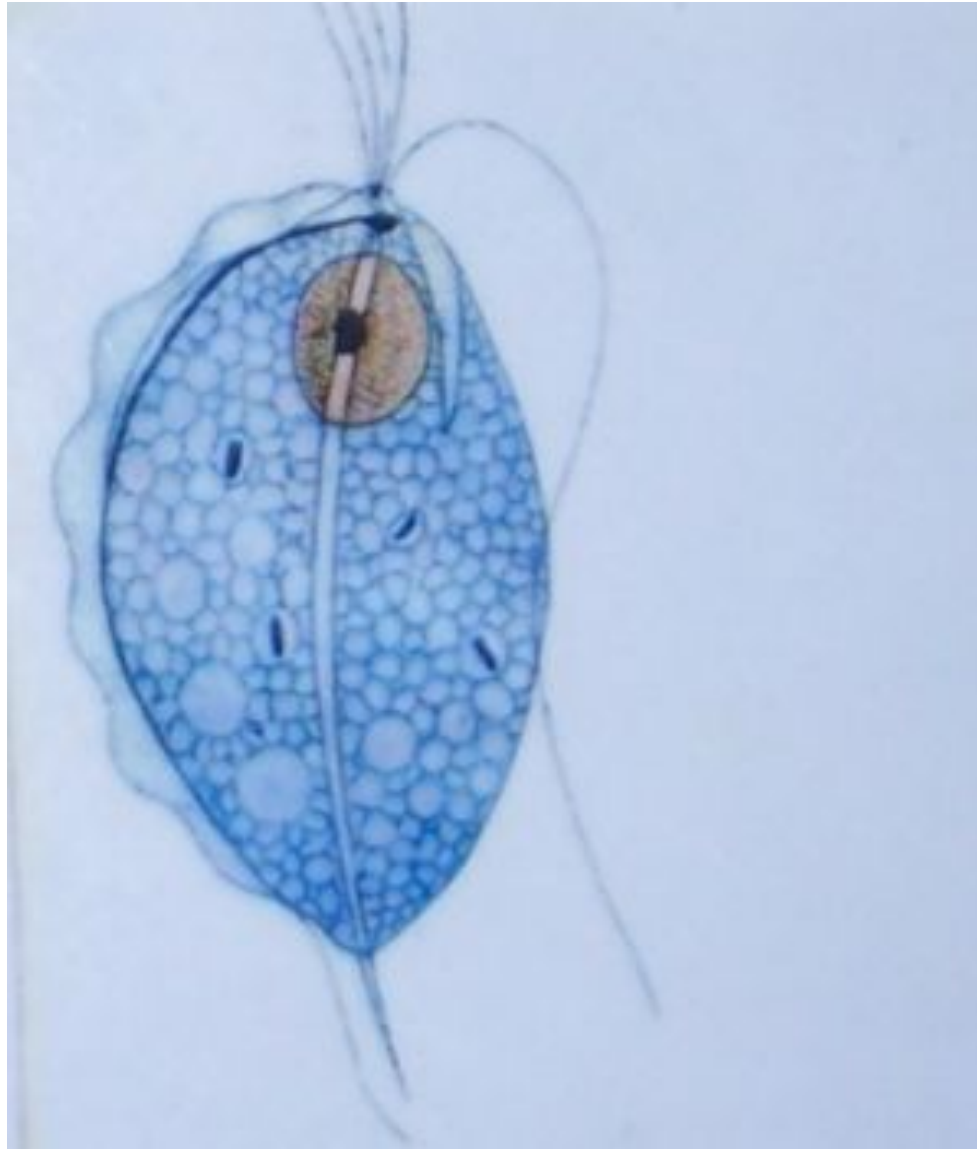


# Кишечная трихомонада-

- **Pentatrichomonas (Trichomonas) hominis**
- Условно-патогенный микроорганизм.
- Вызывает **кишечный трихомоноз**- протозооз , проявляется симптомами колита и энтероколита.
- Обитает в толстом кишечнике.
- Цист не образует.
- Питаются бактериями.
- Их количество увеличивается при диете богатой клетчаткой.



# Кишечная трихомонада



# Диагностика кишечных протозойных инвазий

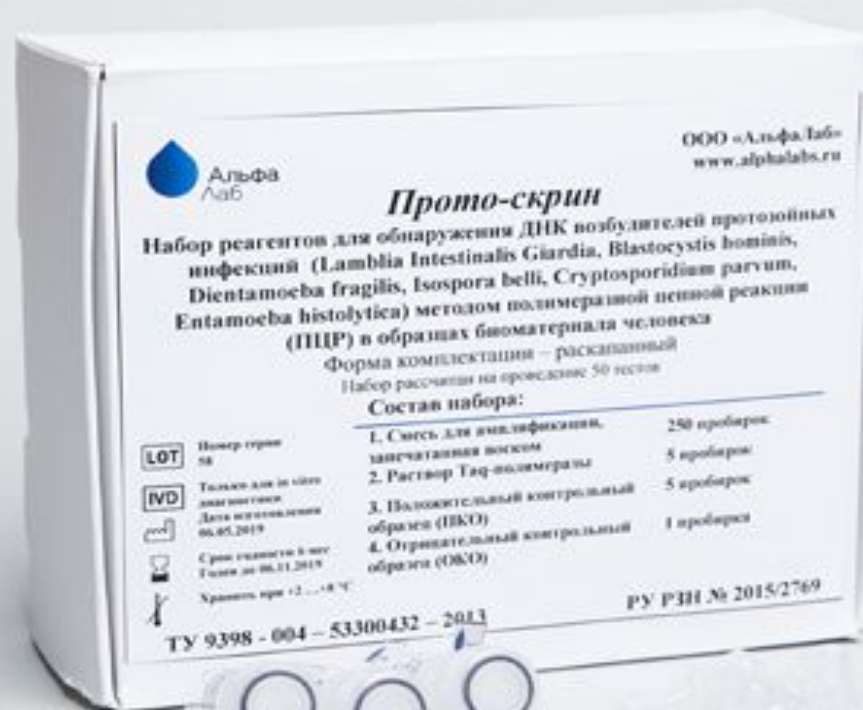
- ◆ **Иммунологические методы диагностики: выявление антигенов простейших в фекалиях методом твердофазного ИФА и иммунохроматографии:**
  - ◆ **Антигены лямблий**
  - ◆ **Антигены криптоспоридий**
  - ◆ **Антигены дизентерийной амебы**

# Диагностика кишечных протозойных инвазий

- ◆ Молекулярно-биологические методы диагностики методом ПЦР в «реальном времени»:
  - Набор «Прото-скрин» , «АльфаЛаб»
  - Набор «**Giardia lamblia -FL**» , серии «АмплиСенс» ( на стадии регистрации)
- Микроскопический метод диагностики – основной.



# Набор «Прото-скрин»



# Набор «Прото-скрин»

Набор реагентов предназначен для выявления наиболее часто встречающихся у человека протозойных инвазий :

Лямблиоза

Амебиоза

Бластоцистной инвазии

Криптоспоридиоза

Изоспороза

# Набор «Прото-скрин»

Перечисленные инфекции имеют общие пути заражения и могут иметь сходные клинические проявления (нарушения функций желудочно-кишечного тракта, аллергические реакции, астенизация и др.), что обуславливает необходимость одновременного скрининга на наличие указанных возбудителей и проведения дифференциальной диагностики.

Материалом для исследования являются фекальные образцы.



# Набор «Прото-скрин»

Взятие, транспортирование и хранение исследуемого материала должно проводиться в строгом соответствии с методическими рекомендациями «Взятие, транспортировка, хранение клинического материала для ПЦР-диагностики», разработанными ФБГУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии».

# Набор «Прото-скрин»

.Для исследования используются фекальные образцы.

Контейнер с материалом доставляется в лабораторию и хранится до начала исследования при 2-8 °С. Время от взятия материала до начала исследования не должно превышать 24 часов.

При необходимости более длительного хранения материал помещают в морозильную камеру и хранят при температуре не выше минус 18 °.

# Набор «Прото-скрин»

## Рекомендации по выделению ДНК из фекальных образцов.

ДНК желательно выделять из жидкого материала.

Если образец твердый (кал), небольшое количество материала (не более 100 мг) ресуспендировать в транспортной среде или физиологическом растворе.



# Набор «Прото-скрин»

При выделении ДНК из твердого материала небольшое количество образца необходимо перенести непосредственно в пробирку с лизирующим раствором (на кончике наконечника дозатора).

Внимание: использование избытка материала для выделения может привести к ингибированию ПЦР

# Набор «Прото-скрин»

Выделение ДНК из клинического материала.

Для выделения ДНК из клинических образцов используются наборы реагентов, рекомендованные для использования в клинической лабораторной диагностике для выделения ДНК из фекалий.

В СЦБЛ ГП №75 применяется набор «РИБО-преп» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора.

# Набор «Прото-скрин»

Выявляемые возбудители протозойных инвазий:

- *Giardia lamblia*
- *Blastocystis hominis*
- *Dientamoeba fragilis*
- *Isospora belli*
- *Entamoeba histolytica*
- *Cryptosporidium parvum*



# Набор «Прото-скрин»

- Рассчитан на 50 тестов , включая контроли.
- Варианты: раскапанный в пробирки 0,2 мл и нераскапанный
- РЗН 2015/2769
- Срок годности 6 месяцев

# Возбудители ОКИ бактериальной этиологии

- **Патогенные энтеробактерии :**
  - рода **Salmonella**
  - рода **Shigella**
  - рода **Yersinia**
  - рода **Escherichia**
- **Бактерии рода Campylobacter**
- **Патогенные вибрионы: Vibrio cholerae**

# Возбудители ОКИ бактериальной этиологии

- **Листерии (*Listeria monocytogenes*)**
- **Условно-патогенные энтеробактерии , вызывающие пищевые токсикоинфекции , обусловленные чрезмерным размножением возбудителей в пищевых продуктах преимущественно рода *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp.* , *Enterobacter spp.* , *Kronobacter* , *Proteus spp.***



Токсины бактерий ,вызывающие дисфункции ЖКТ

- **Энтеротоксины ,продуцируемые энтеротоксигенными штаммами золотистого стафилококка.**
- **Токсины А и В Clostridioides difficile (Clostridium difficile) , вызывающие псевдомембранозный колит.**

# Основные методы диагностики ОКИ

- Бактериологический метод
- ПЦР
- Инфекционная иммунодиагностика:
  - Экспресс-диагностика (Выявление АГ вирусов и простейших методом ИФА/ИХА)
  - Серодиагностика (Выявление АТ методом РНГА (РПГА), ИФА.

**Лабораторная диагностика ОКИ должна быть комплексной!**

# Исследуемый материал

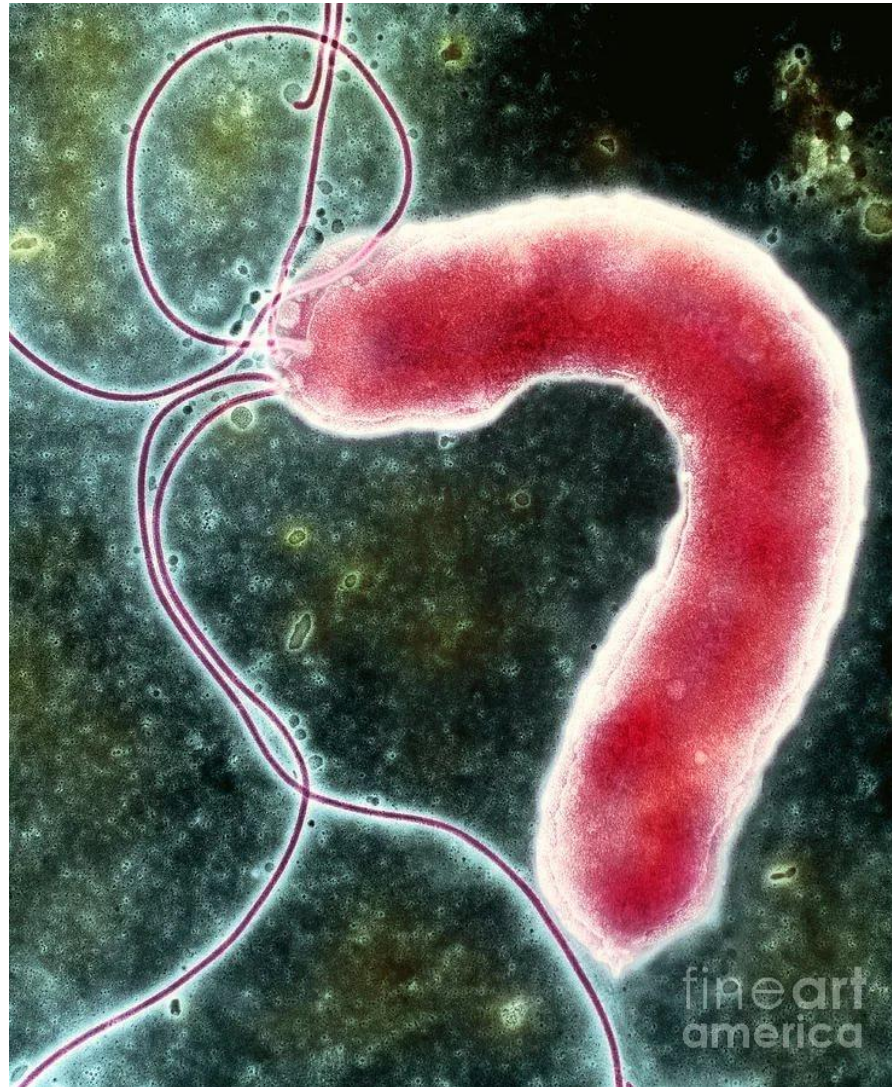
- Фекалии
- Ректальные мазки
- Моча (для диагностики иерсиниозов , брюшного тифа , паратифов)
- Кровь (для диагностики брюшного тифа , паратифов)
- Кровь с целью серодиагностики методом РНГА (РПГА )

# Пробирки для забора крови для серодиагностики





# Хеликобактерии. Лабораторная диагностика хеликобактериоза.



# Классификация хеликобактерий.

- Семейство Spirillaceae
- Род Helicobacter включает в себя 24 вида.
- Широко распространены в природе , как комменсалы ЖКТ присутствуют в кишечнике и желудке у собак и кошек.
- Медицинское значение имеет Helicobacter pylori

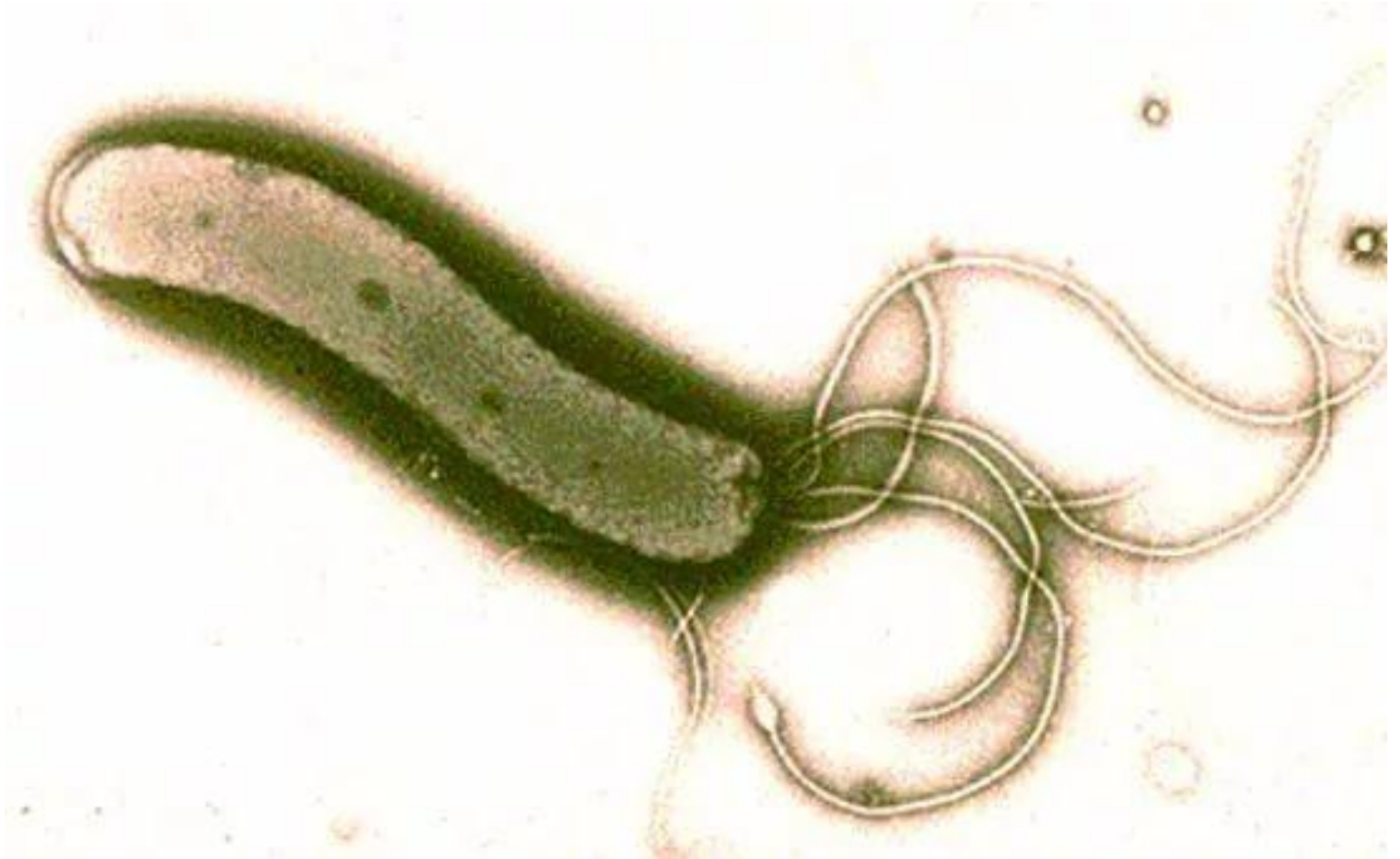
# Характеристика бактерий рода *Helicobacter*

- Хеликобактерии- мелкие грамотрицательные, неспорообразующие подвижные спиралевидные бактерии S-образной формы, имеют 1-6 мономерных жгутиков.
- Стареющие бактериальные клетки переходят в кокковую форму.
- Не утилизируют углеводы, в качестве источника энергии используют аминокислоты.





# Helicobacter pylori





# Характеристика *Helicobacter pylori*

- Оптимальная температура 37°C и рН среды= 4-6,0 , способны выживать и при рН= 2,5
- Не утилизируют углеводы , в качестве источника энергии используют только аминокислоты.
- Имеют широкий спектр факторов патогенности
- Обитает в антральном отделе желудка и привратнике.

# Характеристика *Helicobacter pylori*

Имеют широкий спектр факторов патогенности:

- **Эластичная морфология («гель-динамическая» )**
- **Жгутики и подвижность**
- **Адгезины**
- **Липополисахарид клеточной стенки**
- **Способность превращаться в кокковую форму при неблагоприятных условиях.**

# Характеристика *Helicobacter pylori*

Имеют широкий спектр факторов патогенности:

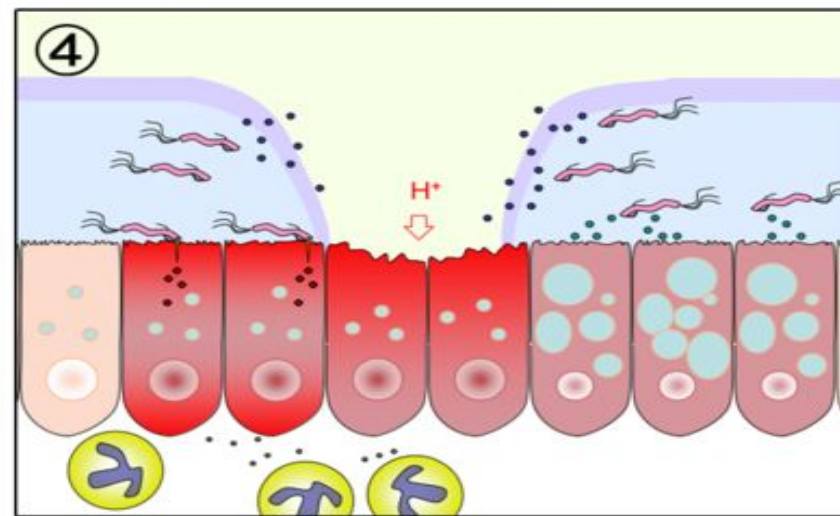
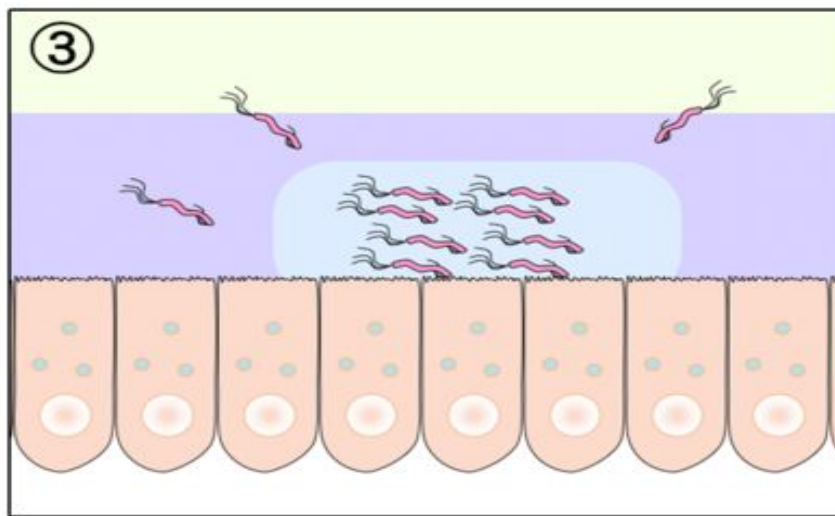
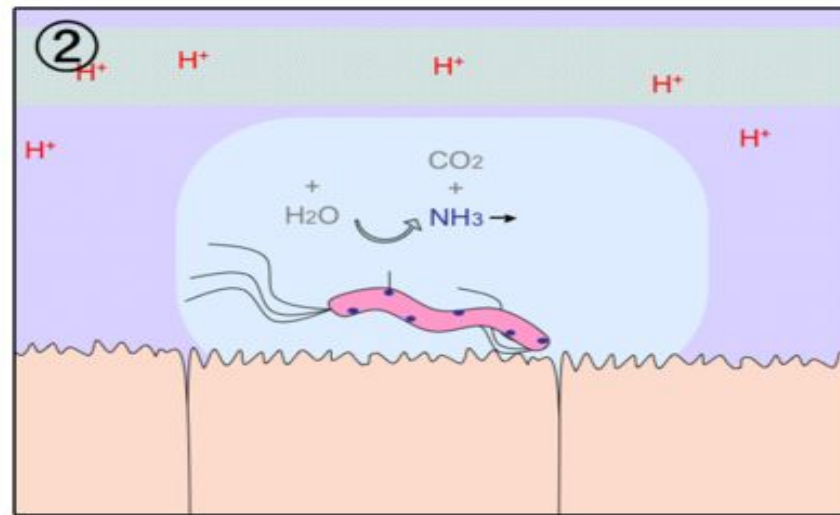
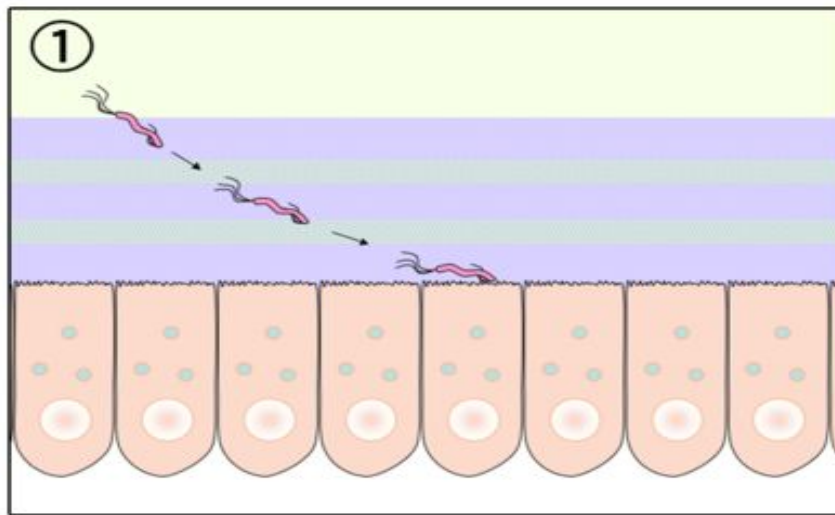
- **Уреаза**
- **Муциназа**
- **Щелочная фосфатаза**
- **Цитотоксические белки (Cag-антиген)**
- **Белок-ингибитор секреции соляной кислоты.**
- **Протеазы.**

# Факторы вирулентности

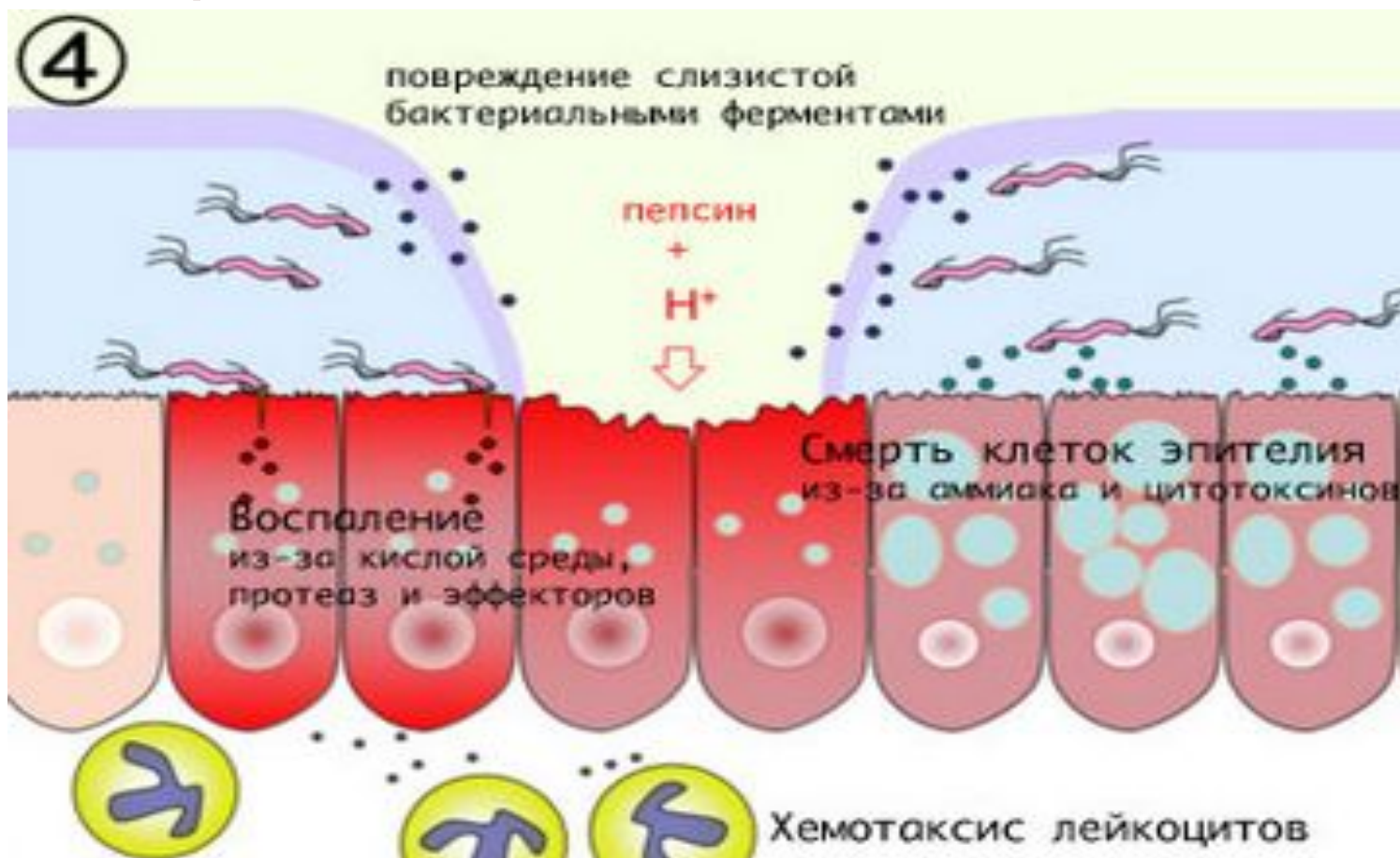




# Патогенез *Helicobacter pylori*-инфекции



# Патогенез *Helicobacter pylori*-инфекции

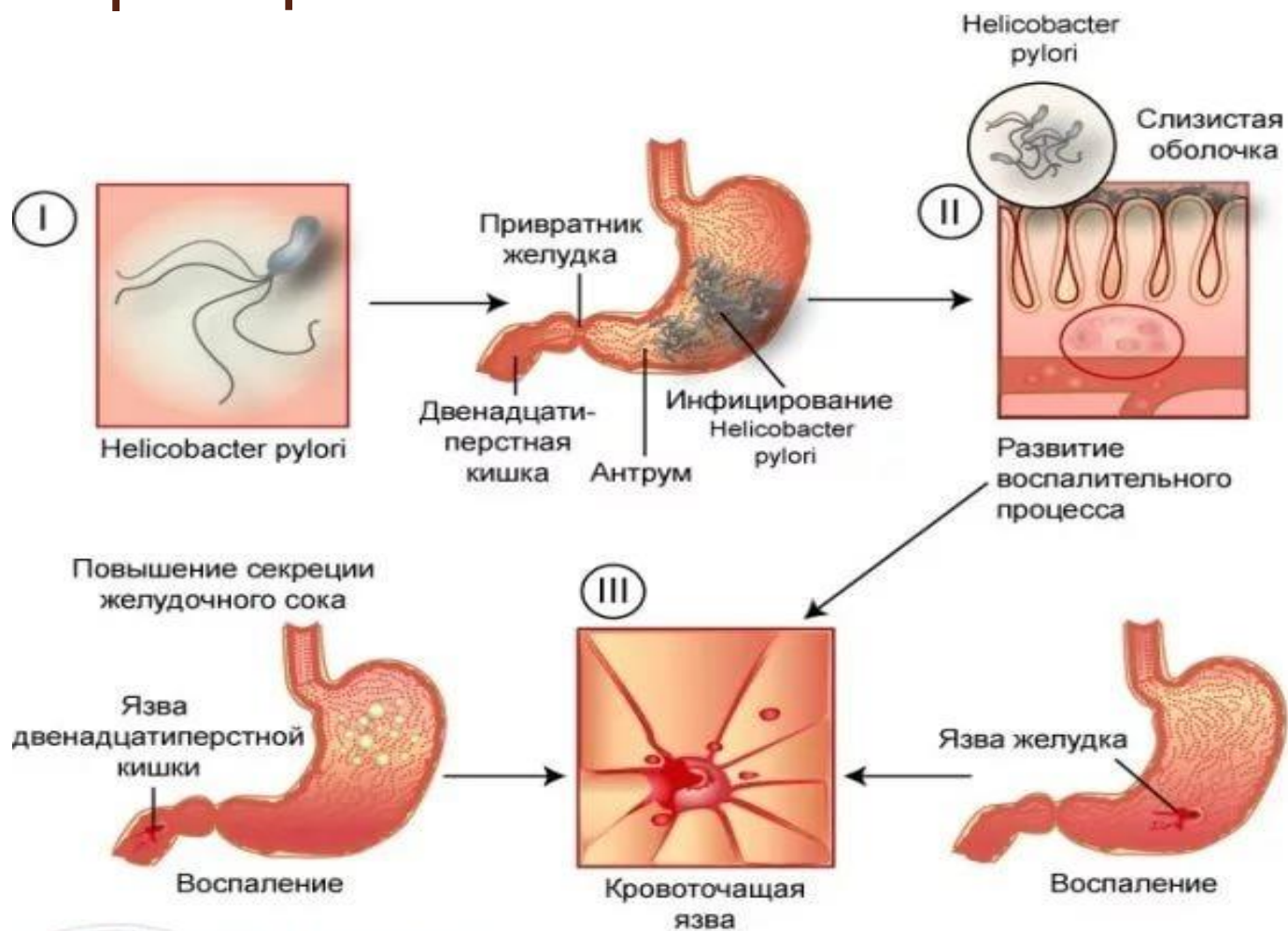


# Клиника *Helicobacter pylori*-инфекции

- Гастрит тип В
- Язвенная болезнь желудка двенадцатиперстной кишки.

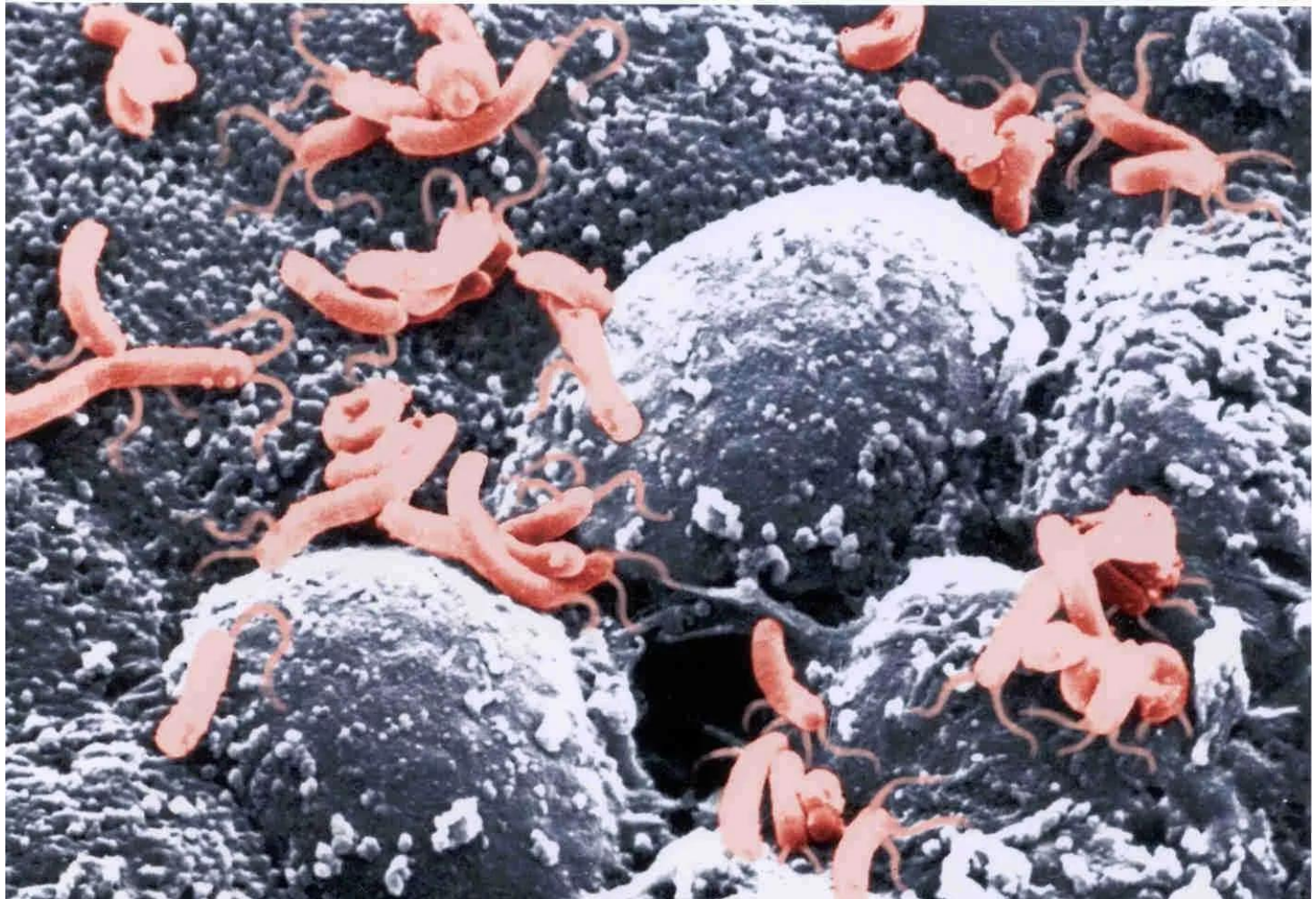


# Клиника Helicobacter pylori-инфекции





# Клиника *Helicobacter pylori*-инфекции



# Лабораторная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

## ● Инвазивные методы

Инвазивные методы предусматривают взятие биопсии в ходе эндоскопии

## ● Неинвазивные методы

# Лабораторная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

Инвазивные методы:

- Бактериологический
- Гистологический
- Быстрый уреазный тест
- Молекулярно-биологический
- Фазово-контрастная микроскопия.

# Лабораторная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

Неинвазивные методы:

- Серологический
- Молекулярно-биологический
- Дыхательный уреазный тест



# Первичная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

- Бактериологический (Посев биоптата на специальные питательные среды)
- Гистологический (окраска биоптата по Романовскому-Гимза)
- Быстрый уреазный тест (определение уреазы в биоптате)
- Дыхательный тест

## Бактериологический метод диагностики *Helicobacter pylori*-инфекции

- Биоптаты забираются на специальные транспортные среды. (Pylori-среда, Биомерье ; , среда Стюарта)
- Посев на селективные и неселективные питательные среды с 5-10% крови лошади ,барана или кролика.
- Питательная основа-эритрит-агар , колумбийский агар , бруцелла-агар.
- Среды должны быть **свежеприготовленными!**

## Бактериологический метод диагностики *Helicobacter pylori*-инфекции

- Биоптаты перед посевом гомогенизируют в физ.растворе.
- Инкубация в **микроаэрофильных** условиях при 37<sup>0</sup>С при влажности 95%:
- O<sub>2</sub> – 5-6%
- CO<sub>2</sub> – 8-10%
- N –до 80-85%
- **Время инкубации: - *первичное исследование – 7 дней - контроль лечения - 14 дней***

## Бактериологический метод диагностики *Helicobacter pylori*-инфекции

- Чашки просматривают ежедневно в течение 7 дней. Если исследование проводится после лечения, чашки инкубируют 14 дней.
- На неселективной питательной среде *H. pylori* на 3-5 сутки при первичном посеве и на 2 сутки при пересевах чистой культуры формирует мелкие, круглые, гладкие, прозрачные, росинчатые колонии диаметром 1-3 мм.



## Бактериологический метод диагностики *Helicobacter pylori*-инфекции

- На селективной питательной среде колонии *H. pylori* приобретают характерное золотисто-желтое окрашивание, за счет присутствующего в этой среде трифенилтетразолий хлорида (ТТХ).

## Бактериологический метод диагностики *Helicobacter pylori*-инфекции

- При получении колоний по морфологии сходных с *H. pylori*, проводится их идентификация, которая включает в себя окраску мазка по Граму и три биохимические теста – уреазный, каталазный и оксидазный.
- При окраске мазка по Граму *H. pylori* выглядят в виде грамотрицательных изогнутых S-образных или V-образных палочек.

# Первичная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции



# Первичная диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

- Скрининг-методы :выявление суммарных антител к цитотоксическому антигену *Helicobacter pylori* в крови.



# Диагностика эрадикации *Helicobacter pylori*-инфекции

- Не ранее чем через 4-6 недель после окончания терапии.
- Как минимум сочетание двух методов (бактериологический и гистологический)- 2 биоптата из тела желудка и 1 из антрума.
- Бактериологическое исследование занимает от 7 до 14 дней.

# ПЦР-диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

- Биопсийный материал, полученный при эндоскопическом исследовании слизистой оболочки желудка.
- Фекалии (возможен ложноотрицательный результат)

# ПЦР-диагностика *Helicobacter pylori*-инфекции

- «РеалБест ДНК *Helicobacter pylori*»( х48)
- Набор реагентов для определения чувствительности *Helicobacter pylori* к терапии кларитромицином методом ПЦР в режиме реального времени предназначен для выявления мутаций А2142G, А2143G и Т2717С в геноме *H. pylori*, обеспечивающих его резистентность к терапии кларитромицином.

«АльфаЛаб» , СПб

# ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи

Врач-бактериолог , врач-вирусолог Комиссаров А.Г.

СПб ГБУЗ «Городская поликлиника №75»

Специализированная централизованная

бактериологическая лаборатория



# Clostridioides difficile.

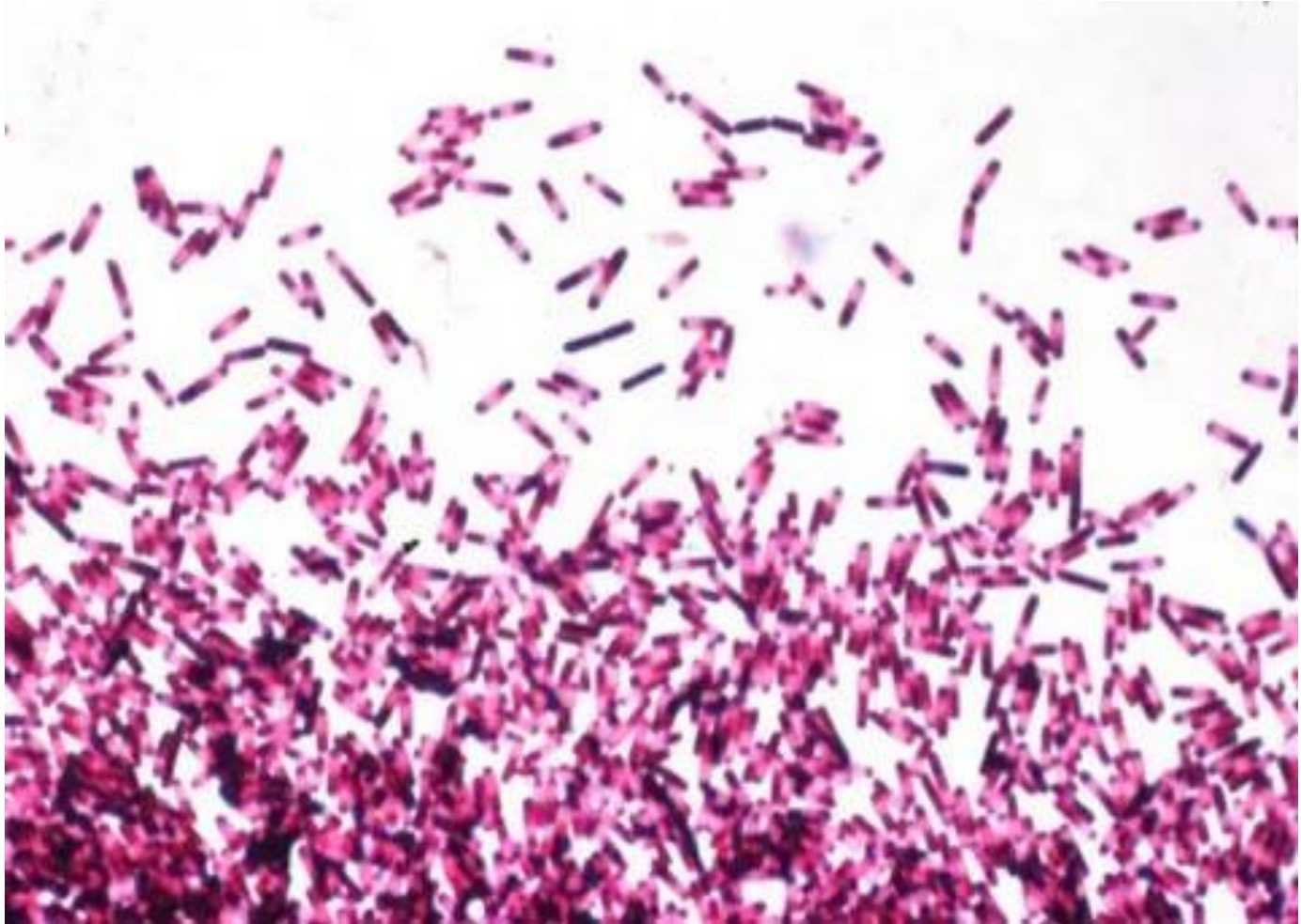
## Лабораторная диагностика.

- Род Clostridioides (Clostridium)
- Clostridioides (Clostridium) difficile
- Крупные Грам(+) спорообразующие палочки, облигатные анаэробы. Диаметр эндоспоры превышает диаметр клетки.

# Clostridium difficile.

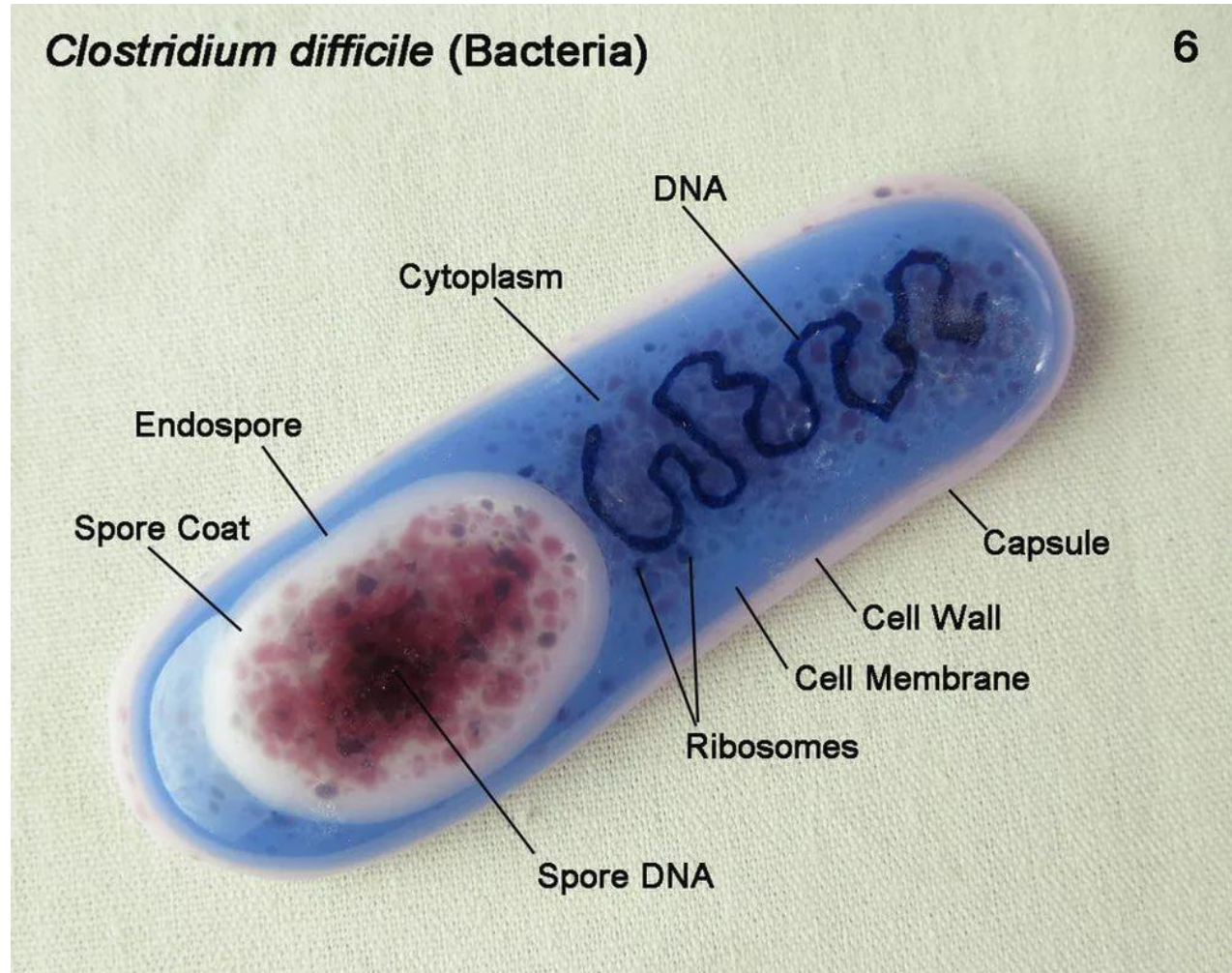


# Clostridium difficile.





# Clostridium difficile.





# **Clostridium difficile. Биологические свойства.**

Факторы патогенности:

- **Токсин А (энтеротоксин)**
- **Токсин В (цитотоксин)**

Энтеротоксины действуют на энтероциты кишечника, нарушают цитоскелет, что приводит к воспалению и некрозу слизистой оболочки, потере плотных контактов между клетками и увеличению эпителиальной проницаемости.

# *Clostridium difficile*. Биологические свойства.

Факторы патогенности:

- **Бинарный токсин *C.difficile*** риботипа **NAР1/В1/027**-образует на мембране энтероцита комплекс , который проникает в цитоплазму , нарушает функциони-рование клетки и приводит к ее гибели , а также усиливает адгезию и колонизацию *C.difficile*.

# Clostridium difficile.

- В течение 1 года жизни Clostridium difficile могут быть обнаружены у 50% новорожденных, с возрастом их распространенность снижается, и у детей старше двух лет они обнаруживаются менее, чем в 4% случаев, так как в отсутствие селекционного давления антибиотиков вытесняются нормальной микрофлорой кишечника.

# Clostridium difficile.

- Возможно носительство Clostridium difficile среди взрослых , в том числе медицинских работников.
- Среди здорового населения широко распространено носительство токсигенных штаммов C.difficile- до 15% здоровых взрослых.



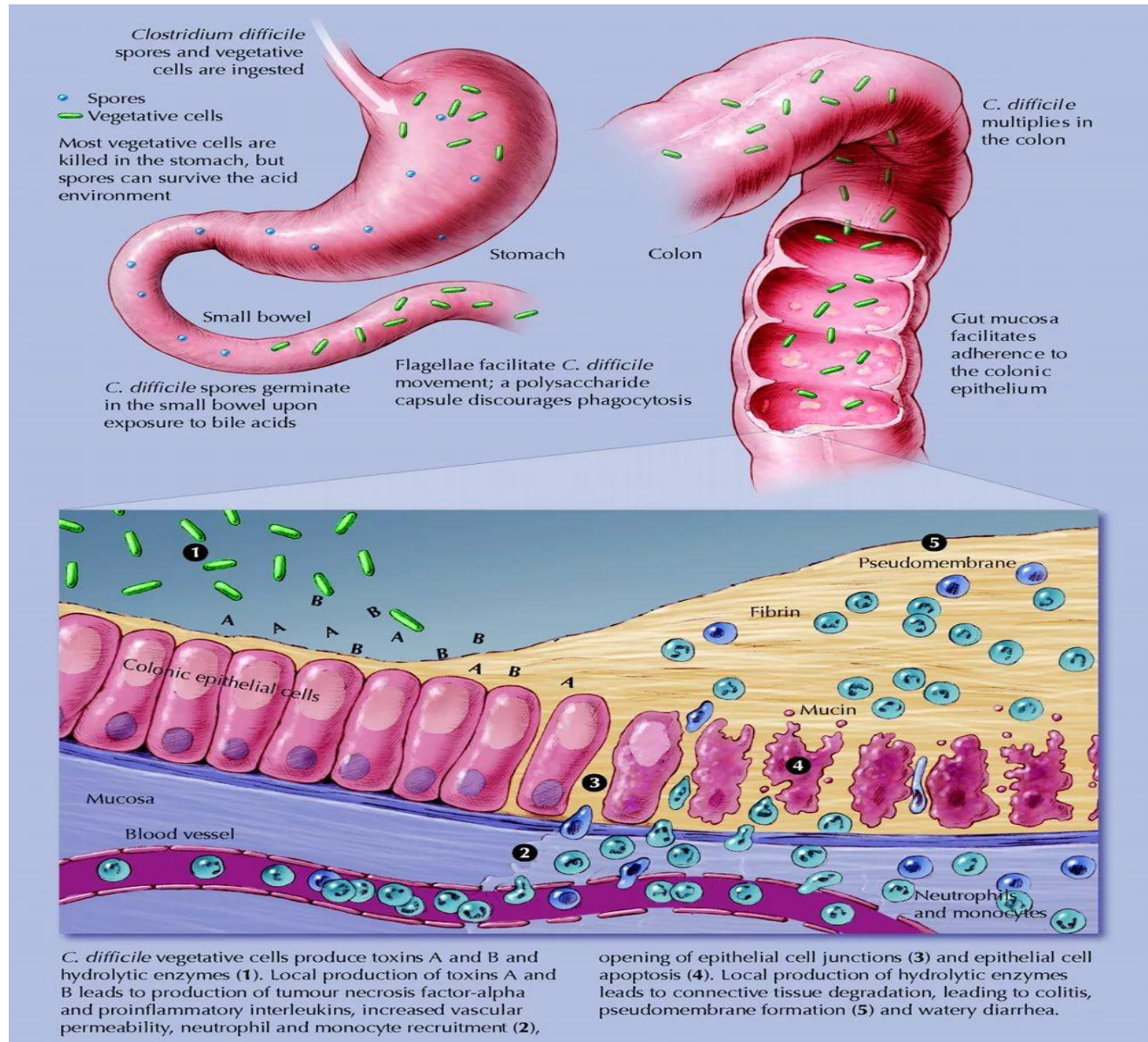
# Clostridium difficile. Патогенез.

- На фоне антибиотикотерапии количество Clostridium difficile возрастает, особенно у пациентов, находящихся в стационаре.
- Предрасполагающим фактором могут быть противоопухолевые и антимикробные препараты ( **клиндамицин**, ампициллин, амоксициллин и цефалоспорины, блокаторы протонной помпы (H<sub>2</sub>-гистаминоблокаторы).

# Clostridium difficile. Патогенез.

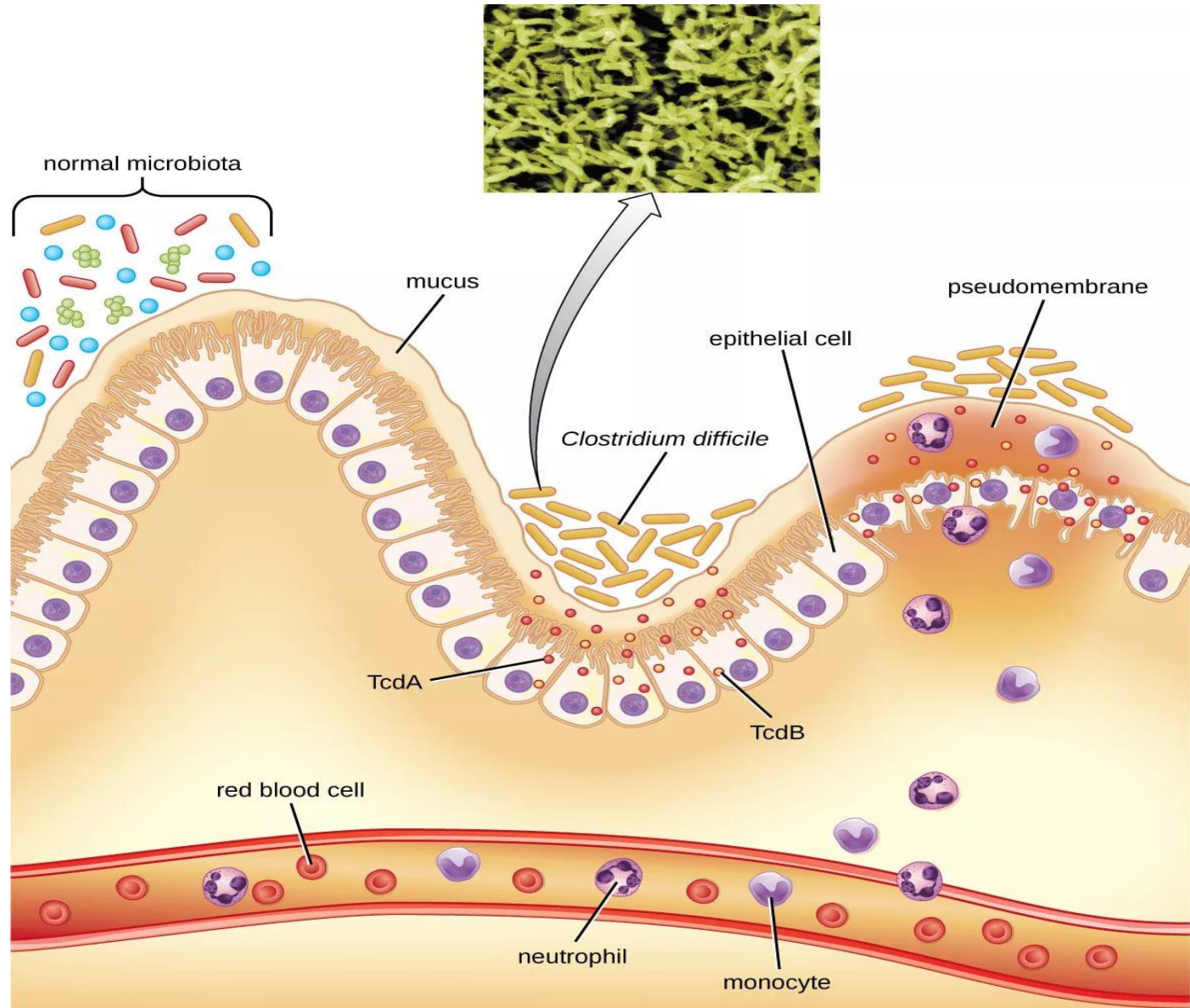
- Патогенез обусловлен действием двух токсинов возбудителя А и В.
- Большинство токсигенных штаммов продуцируют оба токсина , описаны штаммы , вырабатывающие только один из ТОКСИНОВ.

# Clostridium difficile. Патогенез.





# Clostridium difficile. Патогенез.





# Clostridium difficile. Патогенез.

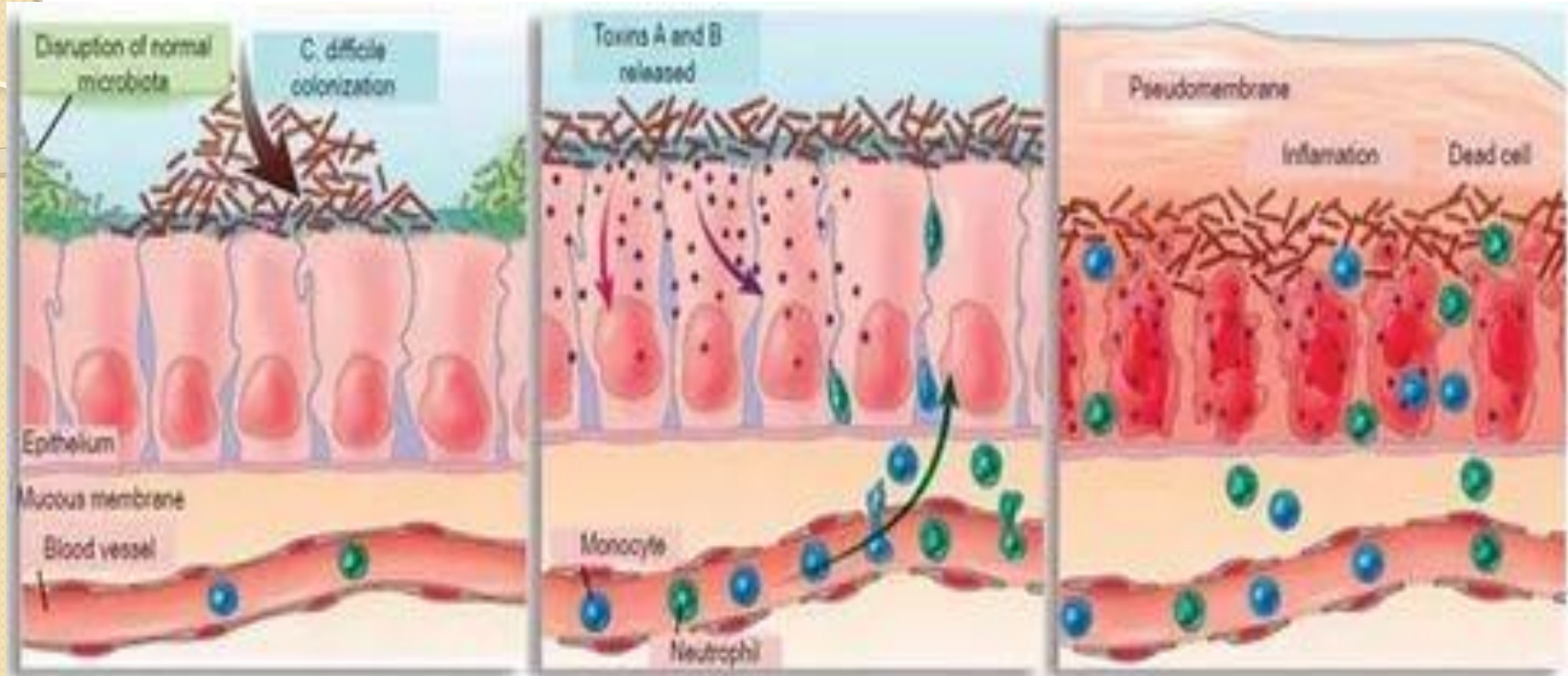


Figure 1. Pathogenesis of *C. difficile* infections. Taken and modified from Reference 2.

# Clostridium difficile-ассоциированная инфекция.(CDI)

- заболевание ,развивающееся при нарушении кишечного микробиома с избыточной колонизацией Clostridium (Clostridioides) difficile , токсины которой вызывают воспаление и повреждение слизистой оболочки толстой кишки.
- C.difficile – одна из причин нозокомиальной диареи.

# Clostridium difficile-ассоциированная инфекция.(CDI)

## Псевдомембранозный колит

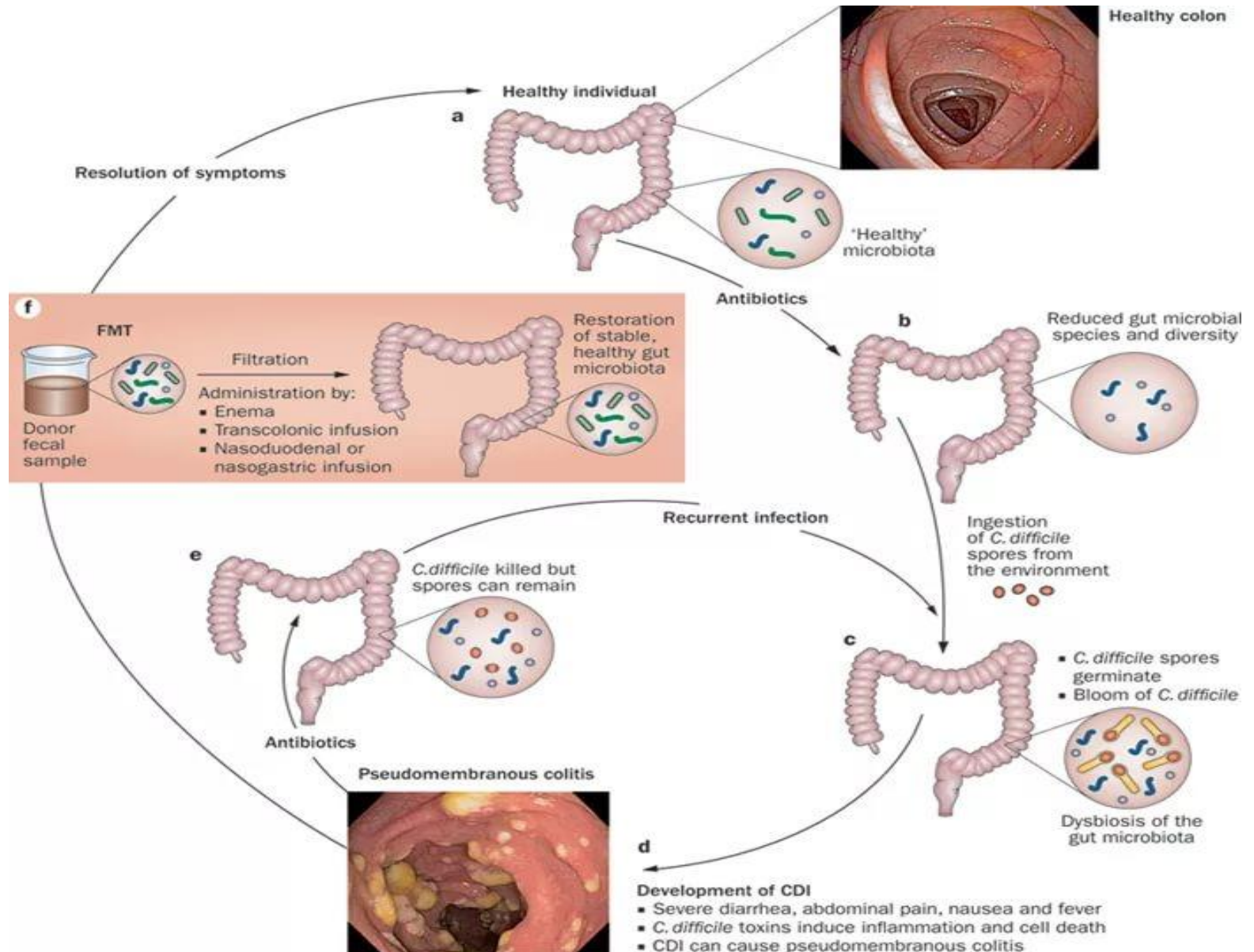
- колит , как правило ,вызванный токси-
- генной C.difficile , характерным признаком служат фибринозные наложения на слизистой оболочке толстой кишки.

# Clostridium difficile. Клиника.

- Антибиотико-ассоциированная диарея. ( У 5-25 % пациентов , принимающих антибиотики )
- Псевдомембранозный колит (ПМК). Даже однократный приём антибиотика широкого спектра действия , вне зависимости от дозы и способа введения может привести к развитию диареи и ПМК.



# Clostridium difficile. Клиника.



# *Clostridium difficile*. Клиника.

- Псевдомембранозный колит (ПМК). характеризуется обильным частым водянистым стулом с примесью слизи, крови и гноя.
- Лихорадка до 38-40<sup>0</sup>С.
- Схваткообразные боли в животе.
- Летальность при отсутствии лечения 25-30 %.

# Clostridium difficile. Клиника.

- Для Clostridium difficile-инфекции характерны рецидивы инфекции. ( в 20-25 % случаев) , что связано как с нахождением спор в толстом кишечнике , так и повторным заражением.
- Рецидивы развиваются , как правило , на 3-7-й день после улучшения состояния.

# Лабораторная диагностика.

Согласно документу

Клинические рекомендации по  
диагностике , лечению и профилактике

*Clostridium difficile*-ассоциированной  
диареи .Клинические рекомендации.

Москва , 2017 год.



# Лабораторная диагностика.

3 направления:

- Выявление возбудителя в материале от больного.
- **Обнаружение токсинов А и В.**
- При этом токсин В обнаруживается в 90% положительных проб, сочетание А и В в 10% образцов.
- Выявление ГДГ-глутаматдегидрогеназы в образцах

## Лабораторная диагностика.

- Токсин А отдельно от В выявляется крайне редко. По литературным данным отмечен неуклонный рост выявления не вырабатывающих токсин А от больных с тяжелым течением заболевания *C. difficile* – инфекции

# Лабораторная диагностика.

Методы выявления возбудителя:

- Бактериологический метод.
- Иммунологические методы.
- Молекулярно-генетический метод (ПЦР в «реальном времени» )

# Лабораторная диагностика.

## Трехэтапный алгоритм лабораторной диагностики:

- Определение глутаматдегидрогеназы (ГДГ) в просветных фекалиях иммунологическими методами: иммунохроматографией или ИФА ; методом ПЦР.
- Определение токсинов А и В в просветных фекалиях иммунологическими методами иммунохромато-графией или ИФА. ; молекулярно-генетическим методом –ПЦР.



# Лабораторная диагностика.

Трехэтапный алгоритм лабораторной диагностики:

- Культуральный метод - выделение токсигенной культуры *C.difficile* и определение её чувствительности к антибактериальным препаратам.

# Иммунологический метод

## диагностики:

- **Выявление ГДГ (глутаматдегидрогеназы)**

ГДГ – фермент, превращающий глутамат в  $\alpha$ -кетоглутарат, присутствует во всех штаммах *C.difficile* вне зависимости от выработки токсинов, а также у других бактерий рода *Clostridium*, что снижает специфичность теста из-за перекрестного реагирования.

- **Первый этап скрининга. Отрицательный результат свидетельствует об отсутствии *C.difficile*.**

- **При положительном результате необходимо дальнейшее тестирование с целью идентификации токсинов.**

# Иммунологический метод диагностики:

- Выявление токсинов А и В на основе реакции АГ+АТ.
- Иммуноферментный анализ.

- **Иммунохроматографический тест**

**Позволяет получить быстрый ответ.**

**При клиническом улучшении**

**серологические реакции остаются**

**положительными на протяжении 30 дней.**

# Лабораторная диагностика.

Иммунологический метод диагностики:

- Иммуноферментный анализ.

ИФА обладает высокой специфичностью (до 95%) при чувствительности 70-80%.

- **Иммунохроматографический тест**

При более низкой специфичности показывает более высокую чувствительность.



# Лабораторная диагностика.

## Иммунохроматографический тест:

- Принцип действия основан на взаимодействии токсина с соответствующими моноклональными антителами, находящимися в тест-полоске / тест-кассете, что проявляется изменением цвета на месте реакции.
- Не требуется дополнительного оборудования.

# Лабораторная диагностика.



# Лабораторная диагностика.

Наборы:

- Набор для определения токсинов А/В Clostridium difficile/Хрест C. difficile Toxin A/B Test REMEL – 20 тестов
- Иммунохроматографические экспресс-тесты для выявления токсинов А и В Clostridium difficile в фекалиях производства компании Novamed (Израиль)

# Лабораторная диагностика.

Complete.

Precise.

Fast.

## RIDA® GENE Clostridium difficile & Toxin A/B

- real-time RT-PCR kit
- all components included
- high sensitivity and specificity





# Лабораторная диагностика.



# Лабораторная диагностика.

## Культуральный метод диагностики:

- Основан на выделении токсигенной культуры и определении ее цитотоксичности в реакции нейтрализации на культуре клеток.
- Чувствительность и специфичность метода превышает 97%.
- Метод позволяет идентифицировать возбудитель, определить его токсигенность и определить чувствительность к антибактериальным препаратам.

# Культуральный метод диагностики:

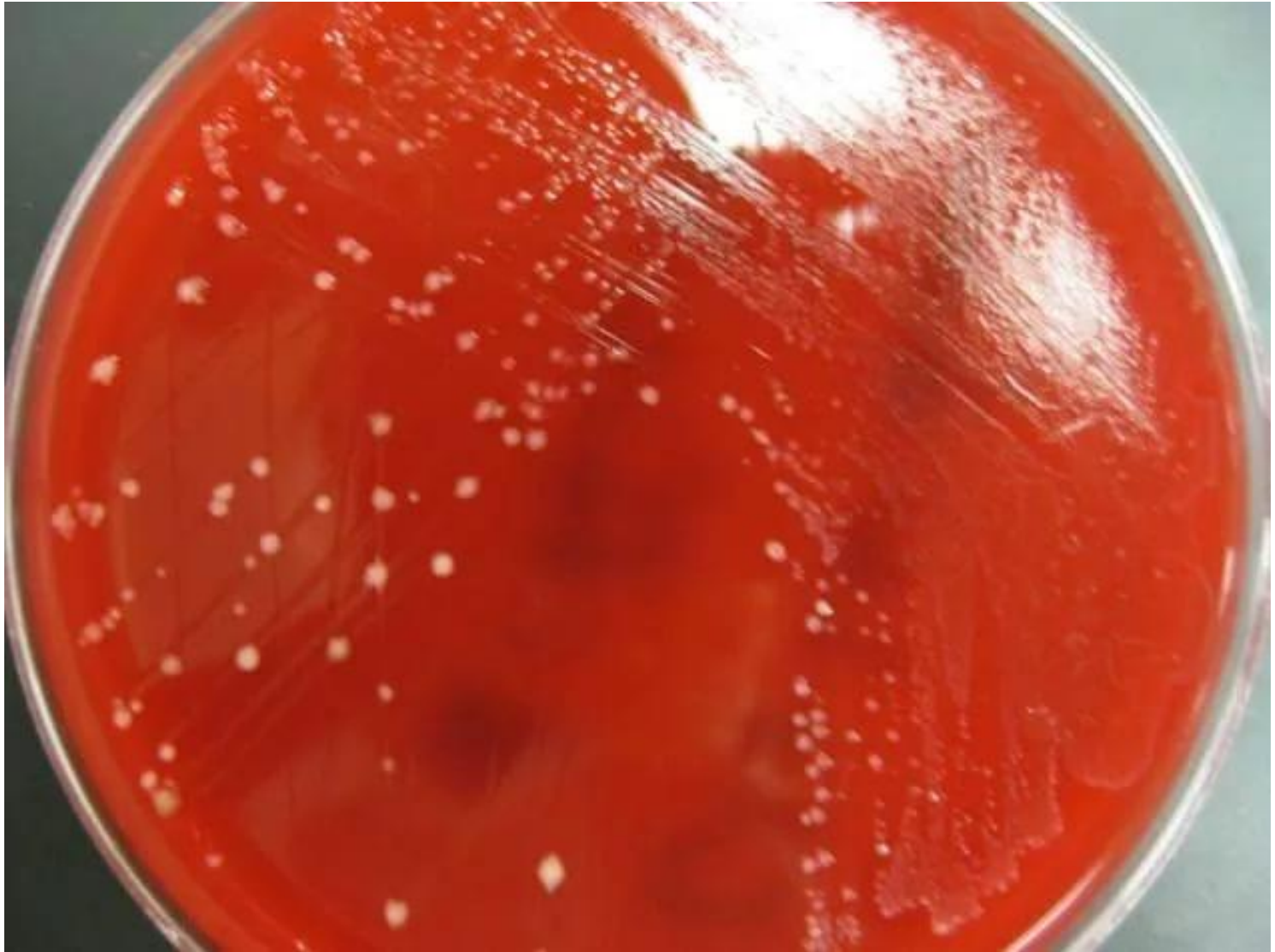
- Посев фекальных образцов на питательные среды для выделения клостридий:
- Бруцелла агар с цефокситином , циклоспорином и фруктозой.
- ССФА-циклосерин-цефокситин-фруктозный агар- электро-дифференциальная среда для *C.difficile*.
- Циклосеринманнитовый агар – селективная среда для *C.difficile*

# Культуральный метод диагностики:

- Агар Шедлера с 7 % дефибринированной бараньей кровью
- Колумбийский агар с 7 % дефибринированной бараньей кровью
- Бруцелла-агар с с 7 % дефибринированной бараньей кровью
- Тиогликолевая среда
- Посевы на плотных средах инкубируют в анаэробных условиях при температуре 35-37°C в течение 24-48 часов.



# Культуральный метод диагностики.



# Лабораторная диагностика.

Бактериологический метод диагностики:

- Полужидкие среды разливают высоким столбиком агара, сверху на среды наносят вазелиновое масло слоем 4-5 мм.
- Перед посевом среды, разлитые высоким столбиком регенерируют прогреванием на водяной бане в течение 10-15 мин. для удаления кислорода, затем остужают до 40-45°C.

# Лабораторная диагностика.

Бактериологический метод диагностики:

- Для обеспечения роста и проявления токсигенных свойств большинства патогенных клостридий в основном применяется культивирование при  $37^{\circ}\text{C}$  и значениях рН среды 7,0-7,4.

# Культуральный метод диагностики.

- *S. difficile* на среде ССФА образует бело-жёлтые колонии диаметром 2-4 мм, плоские, округлой или неправильной формы с неровным ризоидным краем, матовые.
- Рост сопровождается появлением характерного запаха, подобного запаху лошадиного помета.
- Использование для возбудителя других питательных сред не имеет преимуществ перед ССФА.



# Культуральный метод диагностики.

- Идентификация проводится на основании культуральных, морфологических и тинкториальных, ферментативных и антигенных свойств.
- Изоляты *C.difficile* должны тестироваться на токсигенность *in vitro*.
- Для этого отбирают 4-6 КОЕ, которые культивируют на сердечно-мозговом бульоне в анаэробных условиях при температуре 35-37°C 24 часа.

# Культуральный метод диагностики.

- Фильтраты суточной бульонной культуры тестируют на наличие токсина по ЦПД в культуре клеток , либо определяют ген токсина А и В , либо бинарного токсина методом ПЦР.
- Несмотря на длительность исследования ( 2-3 суток) бактериологический метод является надежным методом лабораторной диагностики.

# Культуральный метод диагностики.

- Большинство изолятов *C.difficile* резистентны к цефалоспорином.
- 19% штаммов к метронидазолу.
- 6% к ванкомицину.
- Штаммы *C.difficile* резистентные к ванкомицину и метронидазолу все еще сохраняют чувствительность к тигециклину.

# Лабораторная диагностика.





# Лабораторная диагностика.

- Молекулярно-генетический метод (ПЦР в «реальном времени» )
- основан на амплификации специфических участков генома возбудителя , кодирующих токсин А и/или В или бинарный токсин.
- В ПЦР определяется токсигенность *S. difficile* и наличие других факторов патогенности.
- Детекция генов антибиотикорезистентности.

# Лабораторная диагностика.

- Молекулярно-генетический метод (ПЦР в «реальном времени» )
- В настоящее время зарегистрированные наборы для ПЦР для обнаружения специфических участков ДНК *Clostridium difficile* на территории РФ отсутствуют.
- Набор производства «Литех» только для научных целей.
- На регистрации находятся наборы серии «РеалБест» и «АмплиСенс».

## Другие клостридиозы с фекально-оральным механизмом передачи

- *Clostridium perfringens* тип С – некротический колит (β-токсин)
- *Clostridium perfringens* тип А – пищевые токсикоинфекции.
- *Clostridium botulinum* – ботулизм.

**ХОЛЕРА И ВИБРИОЗЫ.  
ЛАБОРАТОРНАЯ  
ДИАГНОСТИКА.**



# Вибрионы. Классификация.

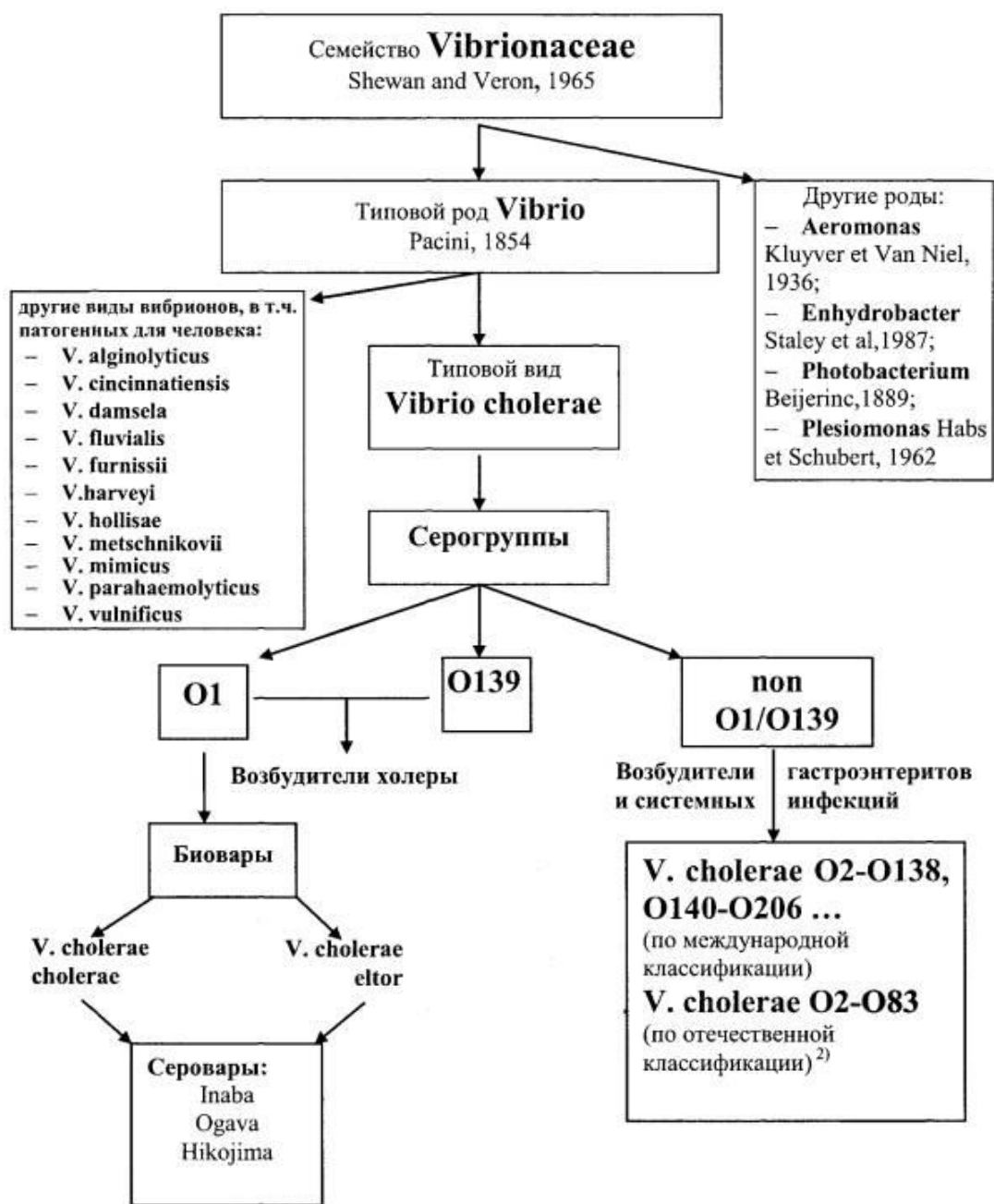
- Семейство *Vibrionaceae*
- Род *Vibrio*

Негалофильные вибрионы:

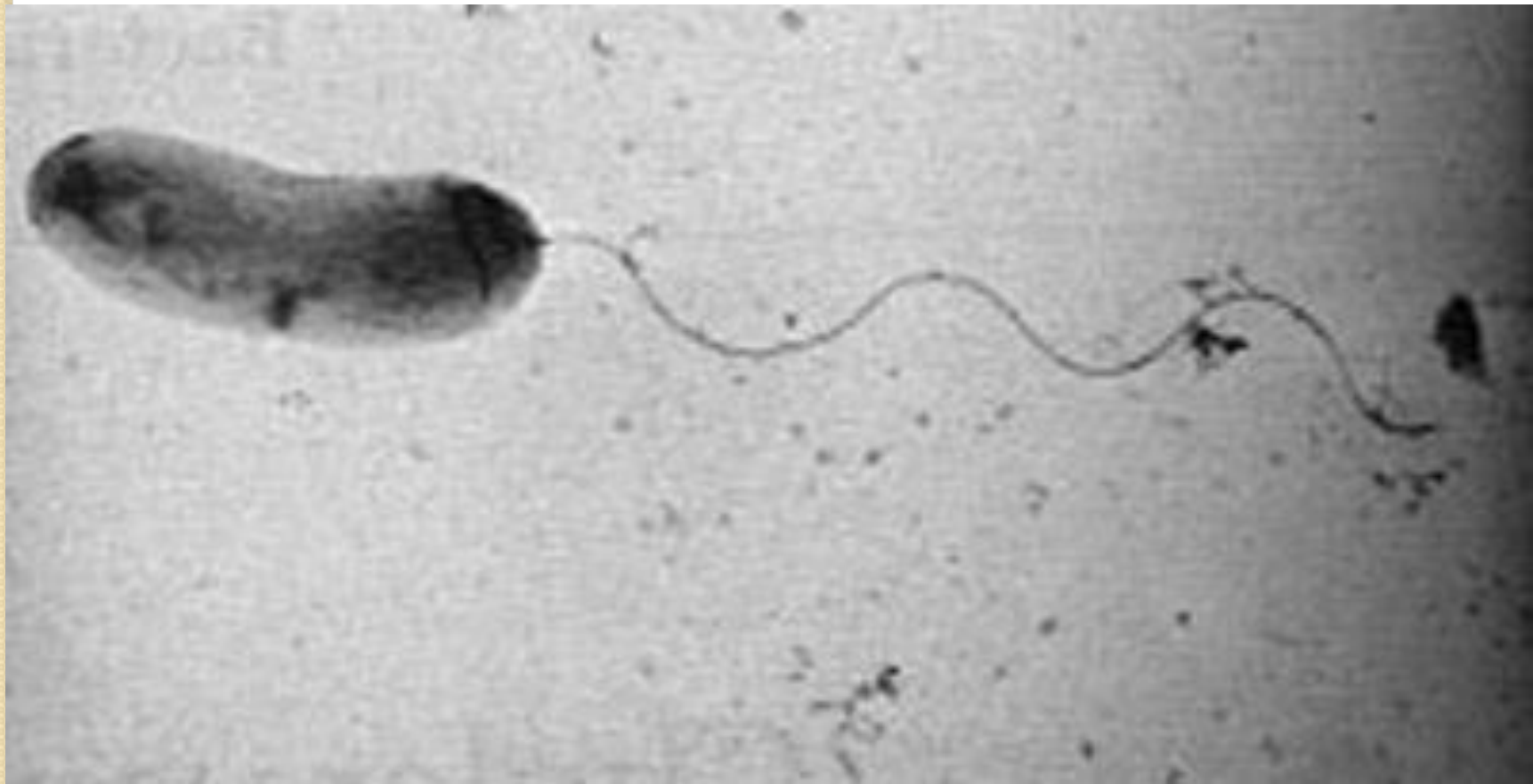
- *Vibrio cholerae* (Холерный вибрион)

Галофильные вибрионы:

- *Vibrio parahaemolyticus*
- *Vibrio vulnificus*.



# Вибрионы. Классификация.



# Галофильные вибрионы

- Естественные обитатели соленых водоёмов.
- Заболевания возникают в летнее время , в прибрежных районах.
- Путь заражения-водный (купание в море) и пищевой (морепродукты).
- Не передаются от человека к челове-ку.



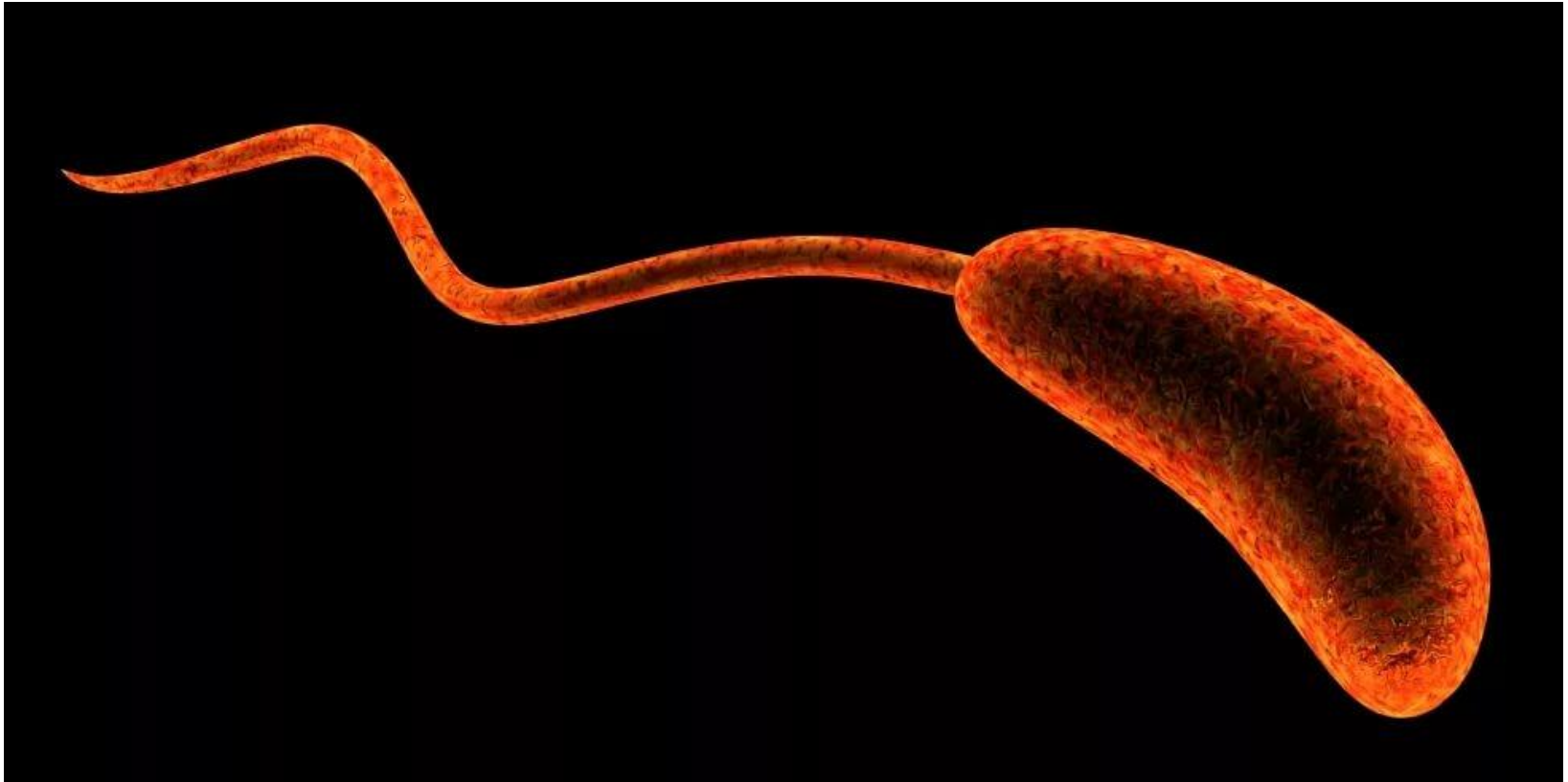
# Галофильные вибрионы

- Вызывают поражение ЖКТ с диарейным синдромом.
- *Vibrio vulnificus* вызывает раневые инфекции ( после укола морскими животными).
- Заболевания чаще возникают у людей с ослабленным иммунитетом.

# Vibrio cholerae

- Грам(-) изогнутые или прямые палочки.
- Монотрихи
- Строгие аэробы
- По O-антигену делятся на серогруппы.
- Возбудители холеры относятся к **серогруппе O1 и O139** – носители умеренного бактериофага.
- H-антиген общий для всех холерных вибрионов.

# Vibrio cholerae

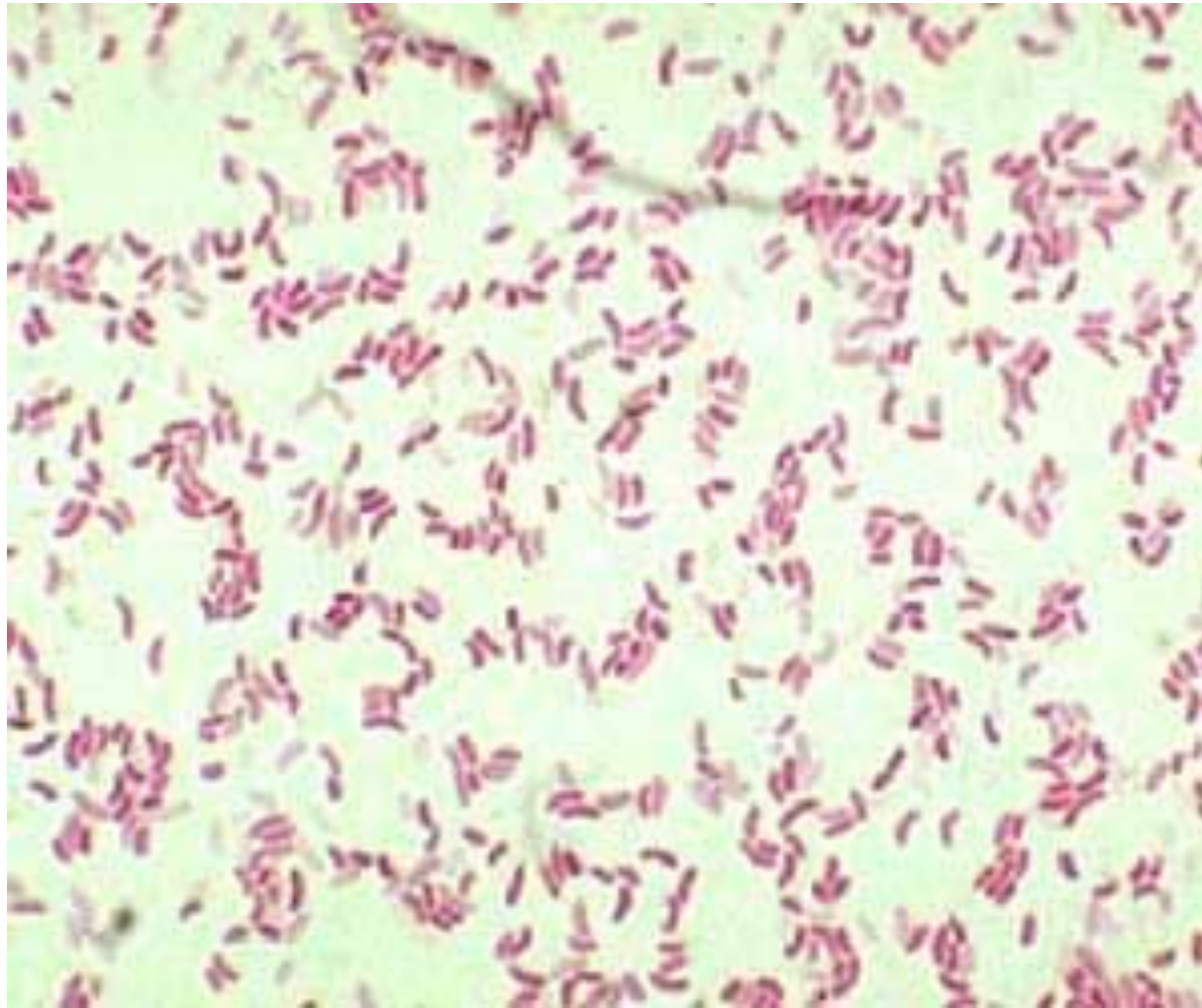


# Vibrio cholerae





# Vibrio cholerae



# Vibrio cholerae

- Vibrio cholerae серогруппы O1 включает 3 серовара:
- **Огава**
- Инаба
- Гикошима
- Холерные вибрионы серогруппы O1 делятся на 2 биовара: «Классический» и «Эльтор» по чувствительности к бактериофагу и чувствительности к 50 ЕД/мл полимиксина.

# Vibrio cholerae

- Vibrio cholerae других серогрупп ( не O1 и O139) вызывают групповые и спорадические заболевания , не склонные к эпиде-мическому распространению.
- Факторы патогенности холерных вибрионов не серогруппы O1/O139 : гемолизины и термолабильный токсин ,но не идентичный холерному энтеротоксину.

# Vibrio cholerae

- **Vibrio cholerae серогрупп O1 и O139 вызывают холеру.**
- Факторы патогенности холерных вибрионов серогруппы O1 и O139 :
- **Холерный энтеротоксин-основной фактор вирулентности.**
- Холерный цитотоксин.
- Пили адгезии.
- Ферменты вирулентности: протеаза ,нейраминидаза , гемолизины.



# Vibrio cholerae

- Холера- инфекционное заболевание с диарейным синдромом , фекально-оральным механизмом передачи , водным , пищевым и контактными путями распространения.
- Относится к особоопасным и карантинным инфекциям , на которые распространяются международные санитарные соглашения.

# Vibrio cholerae

- Доминирует *Vibrio cholerae* Eltor
- Длительное выделение и носительство
- Высокая устойчивость к антибиотикам.
- Вспышки O139 в Юго-Восточной Азии.
- Наличие эндемичных очагов в Юго-Восточной Азии , Индии , Африке.
- Европа и США – завозные случаи.

# Лабораторная диагностика холеры

- **Бактериологический метод**
- Молекулярно-генетический метод
- Иммунологический метод

# Бактериологический метод диагностики холеры.

НТД:

- МУК 4.2.2870-11 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального , регионального и федерального уровней»
- МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры»



# Бактериологический метод

- Лаборатории должны иметь лицензию на работу с III-IV группами патогенности.
- В лабораториях ЛПУ выполняют диагностические исследования : посев на среды накопления и дифференциально-диагностические , выделение культуры , подозрительной на холерный вибрион.

Диагностическую работу проводят в условиях круглосуточного режима работы лаборатории с включением экспресс- методов диагностики.

# Бактериологический метод

- Идентификацию культуры , подозрительной на холерный вибрион по ферментации на полиуглеводной среде , микроскопии мазков , окрашенных по Граму , слайд-агглютинации с холерными диагностическими сыворотками.
- Экспресс и ускоренная диагностика методом МФА и РИВ при исследовании материала с подозрением на холеру.

# Бактериологический метод

- В органах ГСЭН – проводят профилактические исследования объектов внешней среды.
- Выделенные культуры направляются в лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в данном субъекте РФ.

# Правила отбора материала

- Испражнения и рвотные массы до начала антибактериальной терапии.
- 10-20 мл при диарее , 1-2 г испражнений в случае лёгких форм в стерильную посуду.
- Доставка в течение 2 часов.
- В случае удлинения сроков доставки – используют 1 % пептонную воду (рН=8,5).
- Пробы маркируют , обрабатывают снаружи дезраствором , упаковывают в пакет с застежкой молнией и помещают в контейнер для транспортировки биоматериала.



# Основные питательные среды

- Транспортная среда- 1% пептонная вода (1% ПВ) - 5-10 мл среды ,рН=8,4.
- Среда обогащения- 1% пептонная вода (1% ПВ) – 50 мл среды (1-я среда накопления)
- Среда обогащения - 1% пептонная вода (1% ПВ) с теллуридом калия ( в конечном разведении 1:100000/ 1:200000),объем 50 мл среды.
- **1% ПВ хранится при температуре не выше 10°C .**

# Основные питательные среды

Плотные питательные среды для выделения холерных вибрионов:

- Щелочной МПА (pH=8,0)
- Среда для выделения холерных вибрионов электро-дифференциальная сухая (СЭДХ)
- TCBS-агар ( тиосульфат цитратный агар)

# Культуральные свойства

- На 1% ПВ через 6-8 часов на поверхности среды холерные вибрионы образуют плёнку, через 24 ч плёнка грубеет, среда слабо мутнеет.
- На щелочном агаре образуют гладкие колонии с ровным краем, которые легко эмульгируются в физ. растворе, в проходящем свете отсвечивают голубова-тым цветом.

# Рост холерного вибриона на щелочном агаре с теллуридом калия





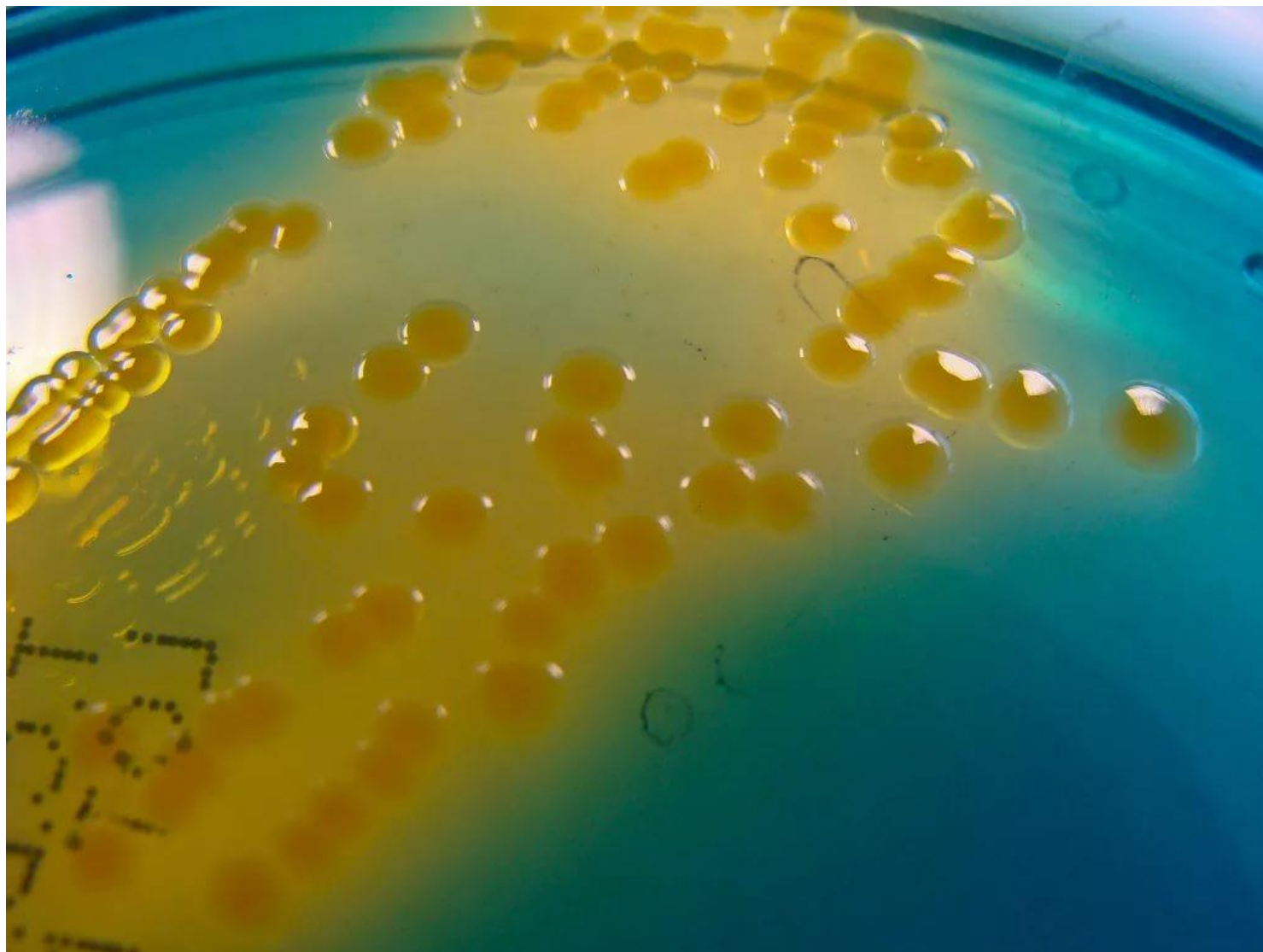
# Культуральные свойства

- На TCBS-агаре (тиосульфатсахарозный агар с солями желчных кислот) : на зелёном фоне среды колонии вибрионов круглые , гладкие с ровным краем , плоские жёлтого цвета.
- На среде СЭДХ : холерные вибрионы через 12-18 ч формируют колонии жёлтого цвета за счет ферментации сахарозы диаметром 1,0-2,0 мм.

# Рост холерного вибриона на TCBS-агаре.



# Рост холерного вибриона на TCBS- агаре.





# Рост *V.cholerae* и *V.parahaemolyticus* на TCBS- агаре.





# Основные питательные среды

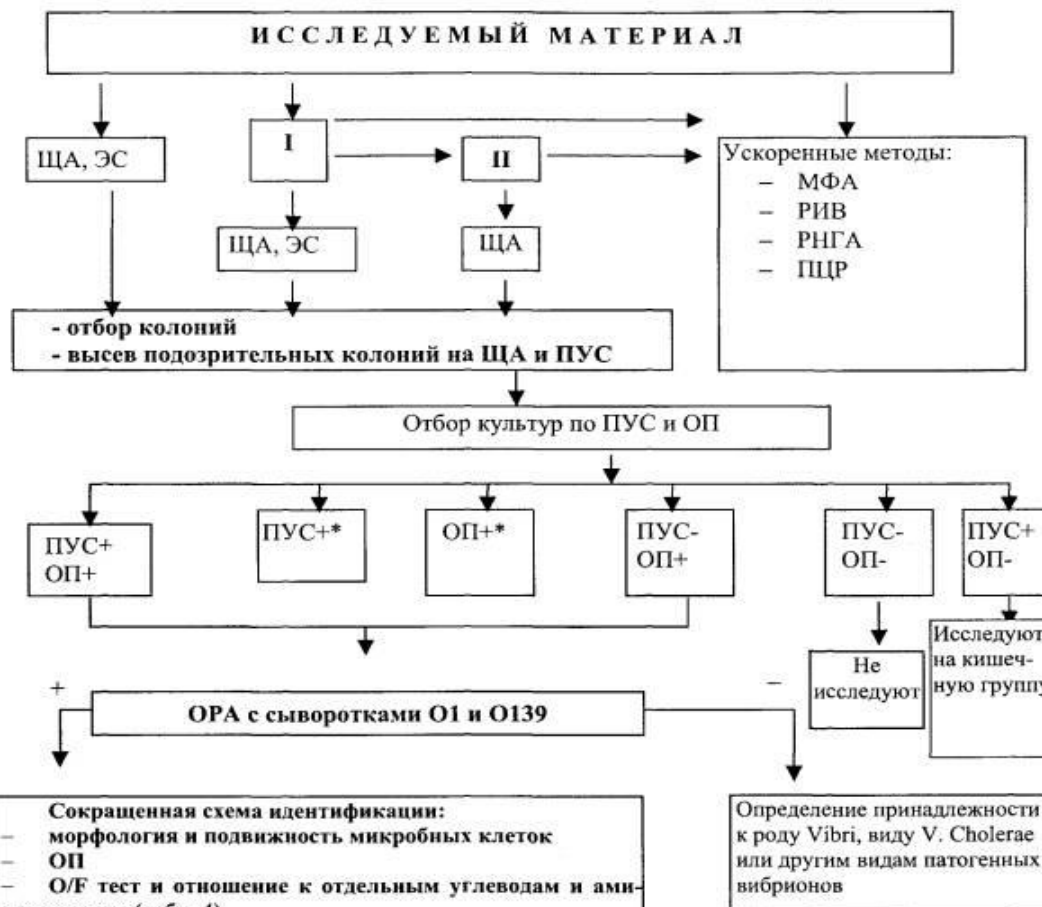
Питательные среды для идентификации  
вибрионов:

- Полиуглеводные среды (среда Клиглера, Ресселя)
- Среда Гисса (арабиноза, рамноза, сахароза)
- Среда Хью-Лейфсона.

# Схема исследования на холеру

5 вариантов в зависимости от времени забора материала и времени работы лаборатории:

- ❖ При круглосуточном режиме работы лаборатории
- ❖ При односменном режиме работы:
  - Материал поступил до 10 ч утра
  - После 10 ч утра
  - В конце рабочего дня
  - В выходные дни



**Сокращенная схема идентификации:**

- морфология и подвижность микробных клеток
- ОП
- O/F тест и отношение к отдельным углеводам и аминокислотам (табл. 4)
- МФА
- РИВ
- РА с сыворотками O1, Инаба, Огава, РО или O139
- чувствительность к фагам холерным классическому и эльтор
- *Ориентировочная оценка эпидемической значимости: гемолитическая активность по Грейгу*
- *чувствительность к фагам холерным эльтор  $ctx^+$  и  $ctx^-$*

---

**Дополнительные признаки биовара *V. cholerae*:**

- гемагглютинация;
- чувствительность к полимиксину В 50 ЕД/мл
- реакция Фогес-Проскауэра

---

**Определение антибиотикограммы**

**Окончательная оценка эпидемической значимости:**

- ПЦР на наличие *ctx* АБ (А) и *tcpA* генов
- токсигенность на кроликах-сосунках

---

**Уточнение родовой и видовой принадлежности атипичных культур по расширенному набору признаков (табл. 2, 3)**

**Условные обозначения:**

I и II – среда накопления; ЩА – щелочной агар; ЭС – элективная среда для выделения холерных вибрионов; ПУС – полуглюцеводная среда; ОП – оксидазная проба; ОРА – ориентировочная реакция агглютинации; РА – развернутая реакция агглютинации; МФА – метод флуоресцирующих антител; РИВ – реакция иммобилизации вибрионов; РНГА – реакция непрямо́й гемагглютинации; ПЦР – полимеразная цепная реакция; \* – в случае отбора колоний только на ПУС или ЩА.

# Схема исследования на холеру

- Оценка антибиотикочувствительности холерного вибриона диско-диффузионным методом и методом серийных разведений в агаре или бульоне Мюллер-Хинтон.
- Ампициллин ,тетрациклин , доксициклин ,ко-тримоксазол , хлорамфеникол ,фторхинолоны.



# Ускоренные методы диагностики

- Иммунологические методы:
- МФА (метод флуоресцирующих антител)-при содержании в материале не менее  $10^5$  КОЕ/мл. Используют флуоресцирующие иммуноглобулины O1 и O139.
- Реакция иммобилизации вибрионов.
- РНГА с использованием диагностического эритроцитарного холерного иммуноглобулинового.

# Ускоренные методы диагностики

- Молекулярно-генетические методы:
- Определение гена холерного токсина (ctxAB) и токсинрегулируемых пилей (tcpA) методом ПЦР.
- Исследуемый материал: испражнения, рвотные массы, подозрительные культуры.
- Материал предварительно обеззараживают кипячением 30 мин.

# Молекулярно-генетический метод

- Набор реагентов для выявления ДНК *Vibrio cholerae* и идентификации патогенных штаммов *Vibrio cholerae* в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL"

# Молекулярно-генетический

## метод

- Набор реагентов для амплификации ДНК и идентификации патогенных штаммов *Vibrio cholerae* (по наличию основных факторов вирулентности – StxA, tcrA), принадлежности к серогруппам O1 (по наличию амплификации мишени wbeT) и O139 (по наличию амплификации мишени wbf) в биологическом материале и объектах окружающей среды  
Для приборов RG



# Серологические методы диагностики

- Выявление антител в сыворотке крови больных и вибрионосителей.
- Агглютинины появляются на 5-7-й день от начала заболевания.
- Необходимо исследование парных сывороток, взятых с интервалом 7-10 дней.
- РНГА с диагностикумом холерным антигенным.
- Условно-диагностический титр 1:40.

**СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!**

