

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.

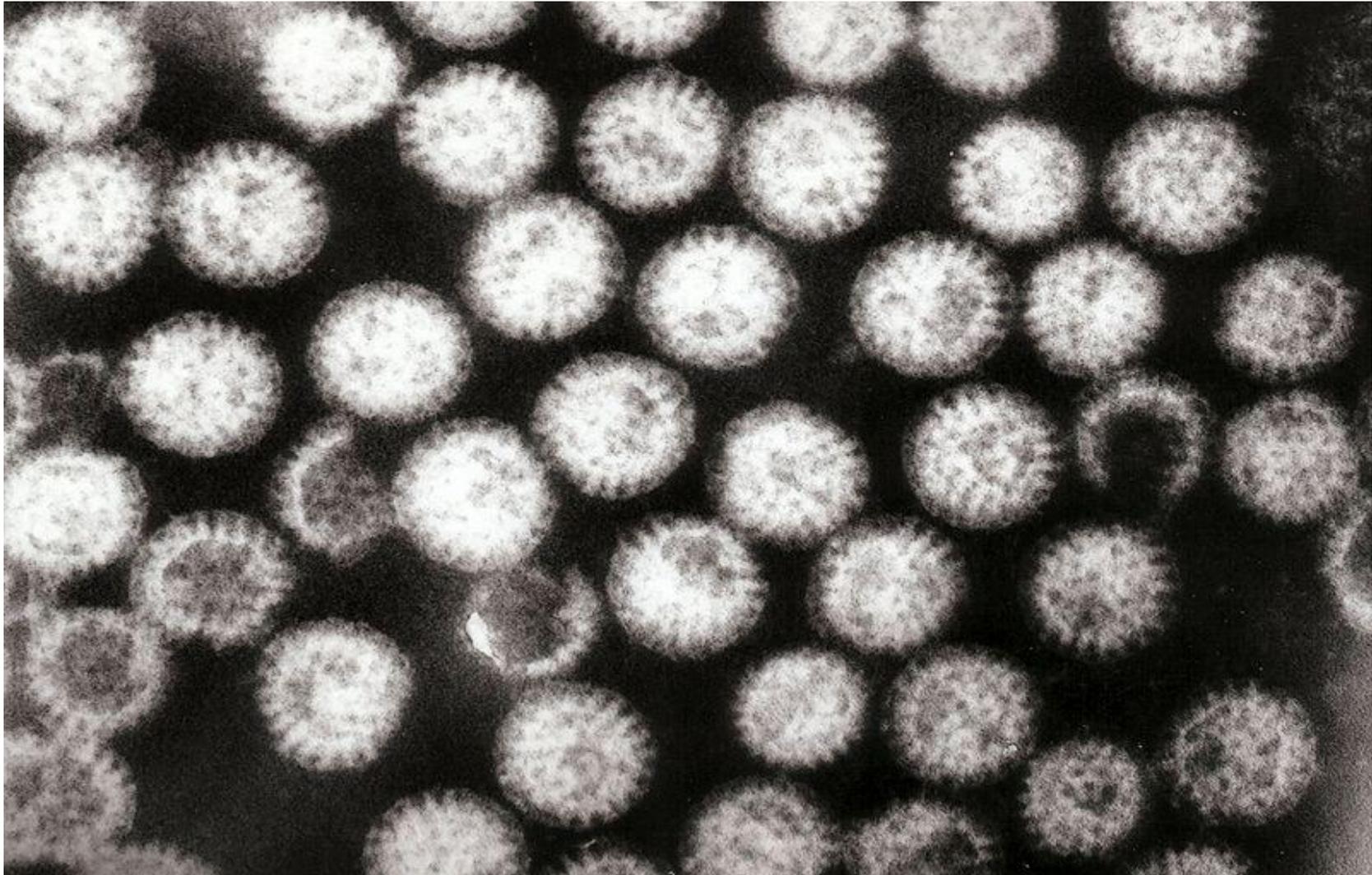
Вирусы



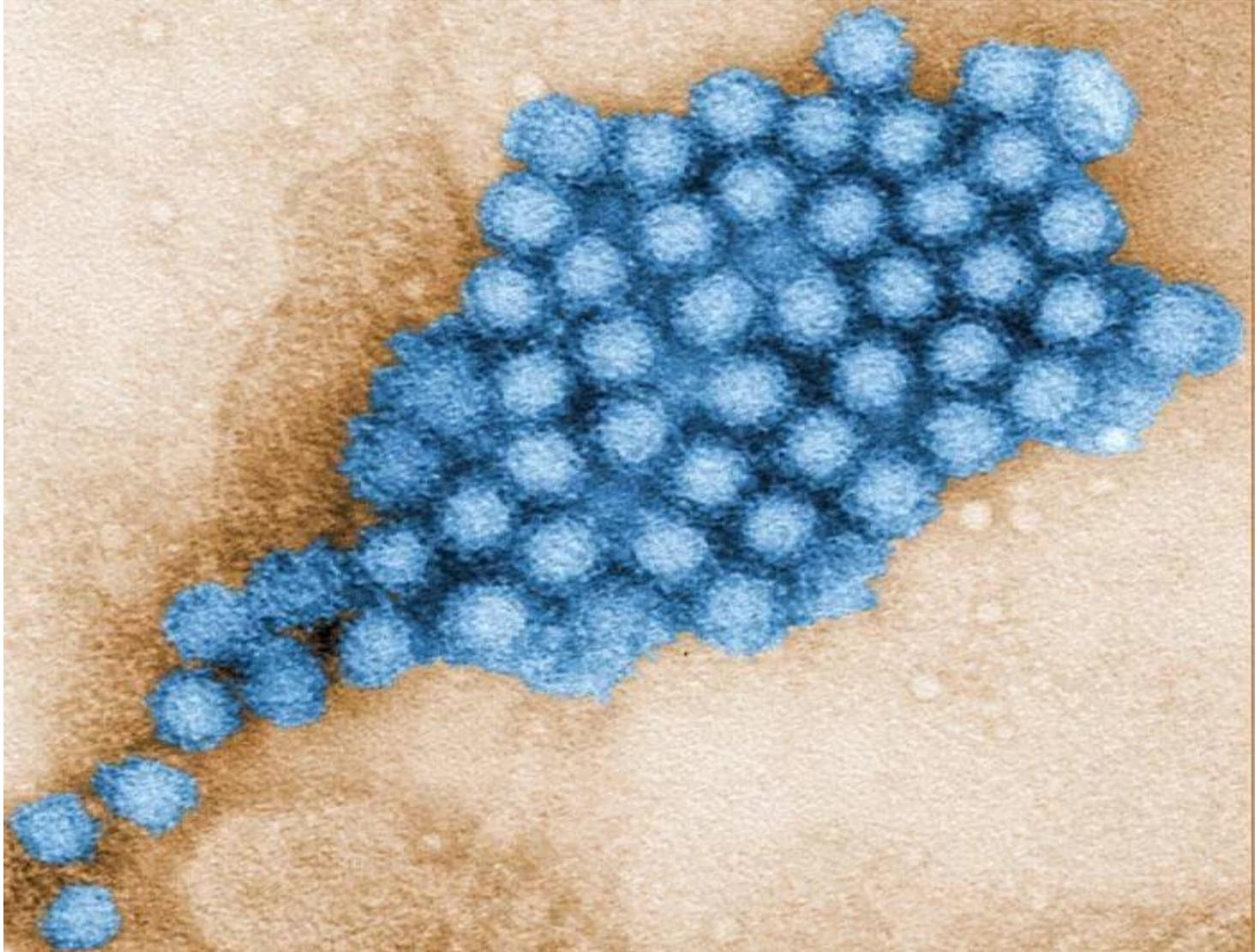
Вирусы , геном которых представлен РНК.

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

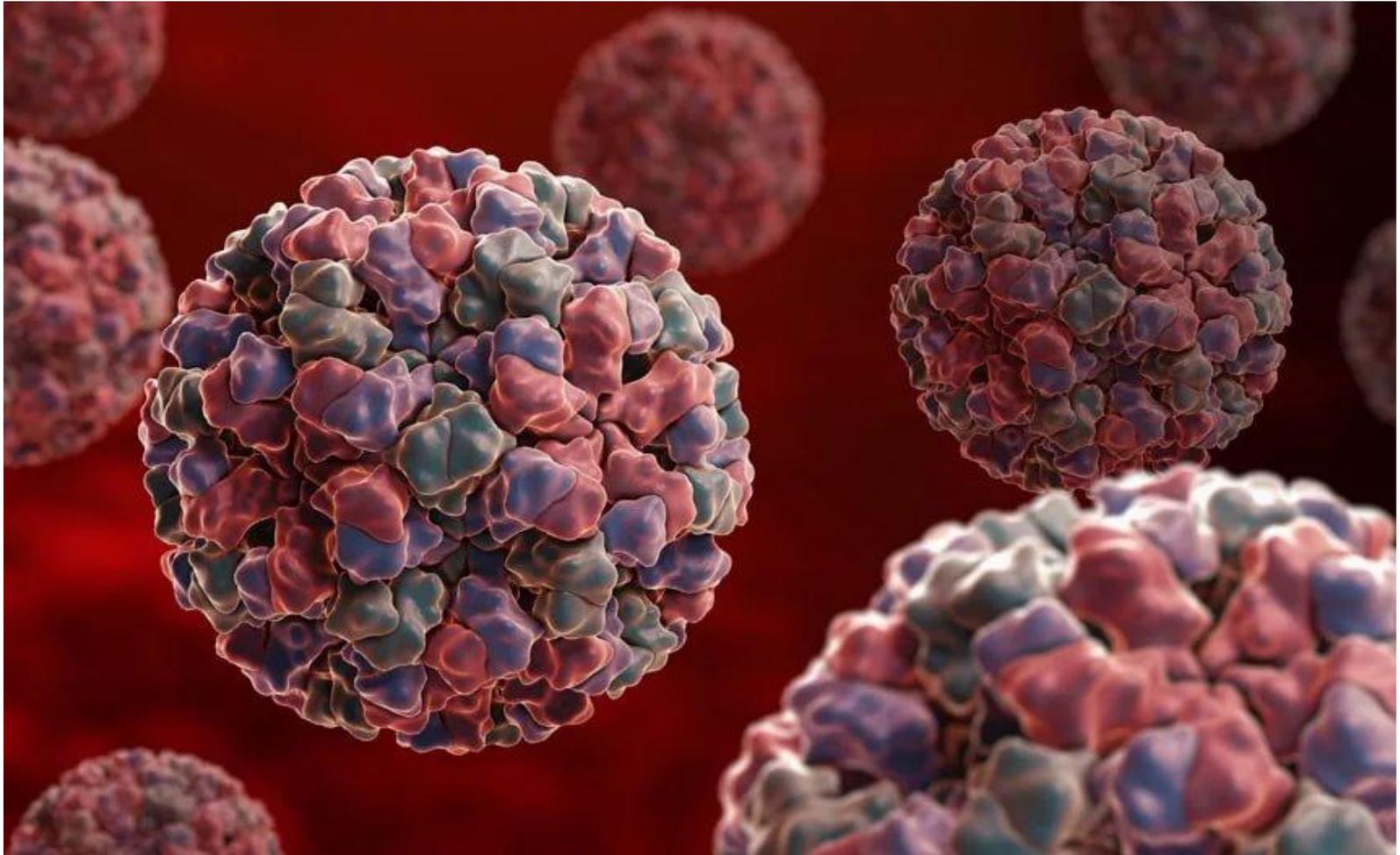
Ротавирусы группы А



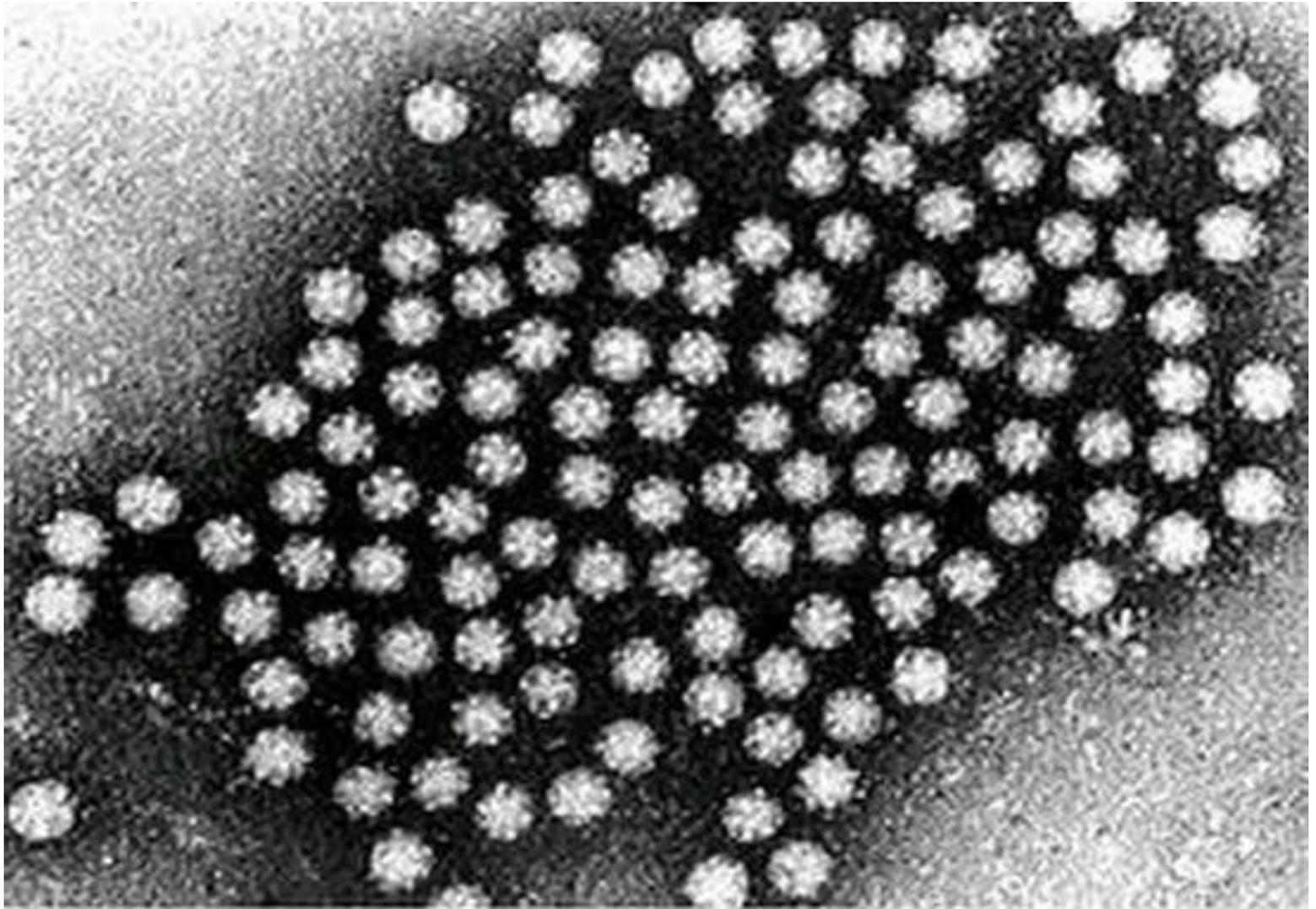
Калицивирусы (Норовирусы)



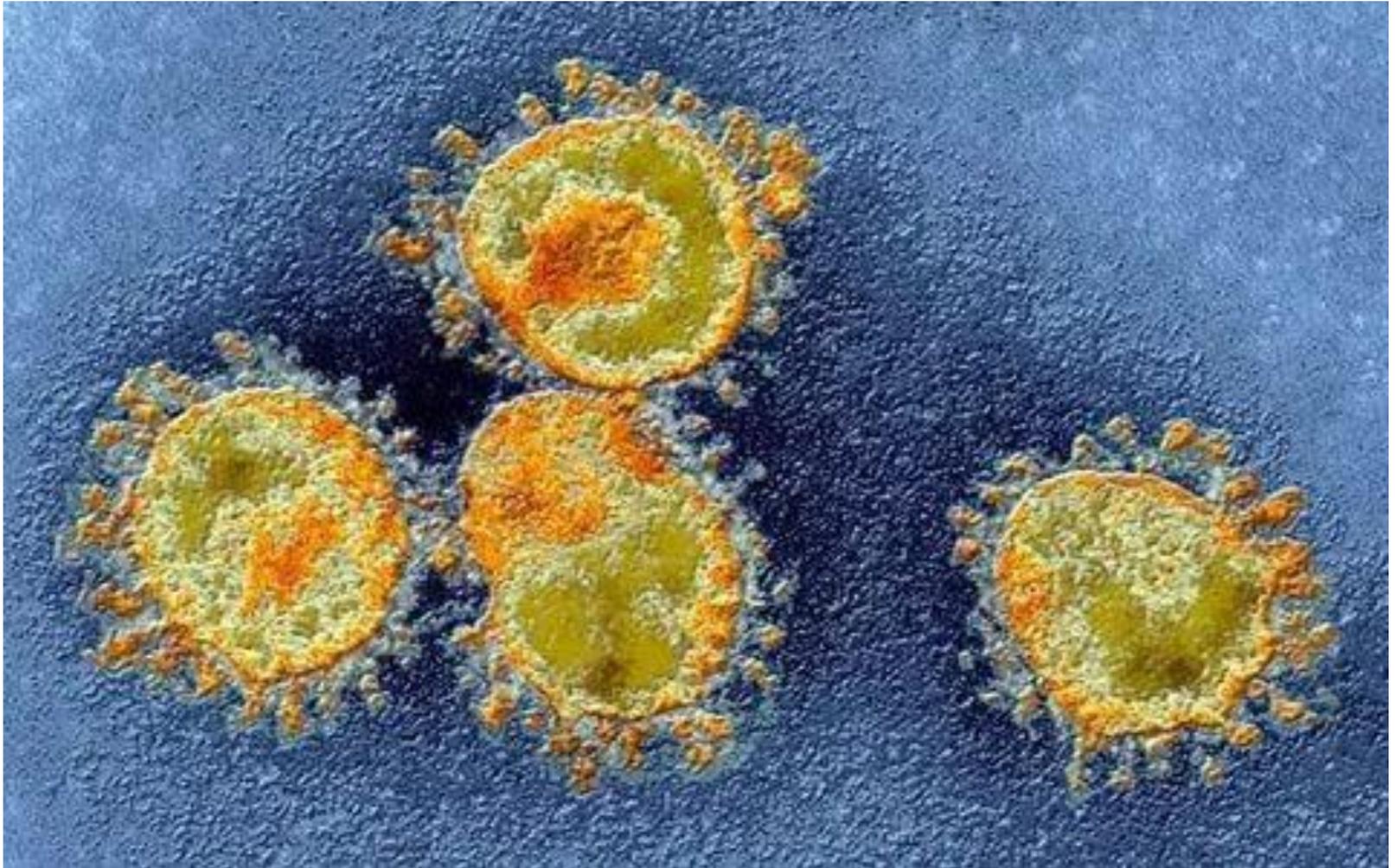
Калицивирусы (Норовирусы)



Астровирусы



Коронавирусы



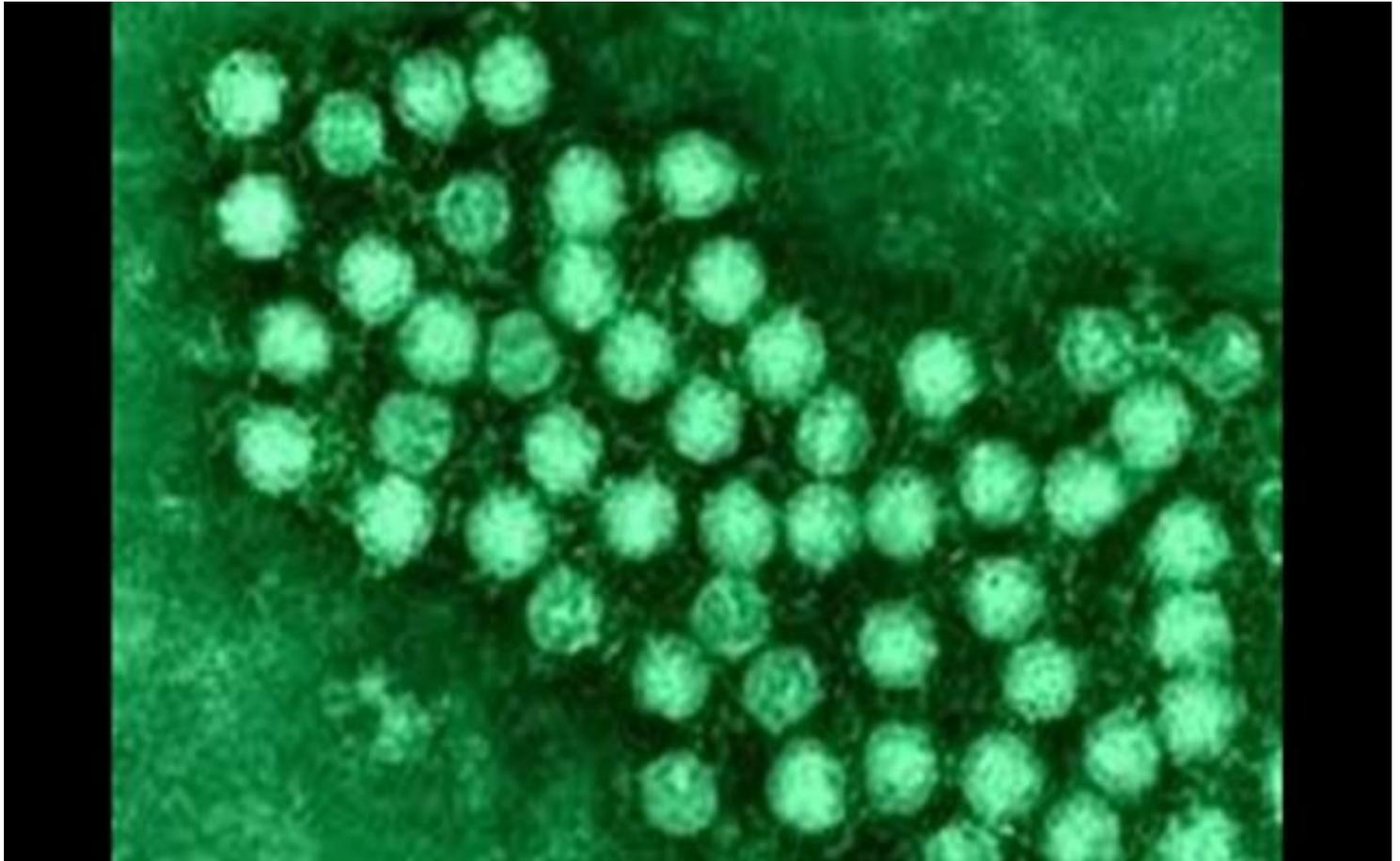
Вирусы , геном которых представлен РНК

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:

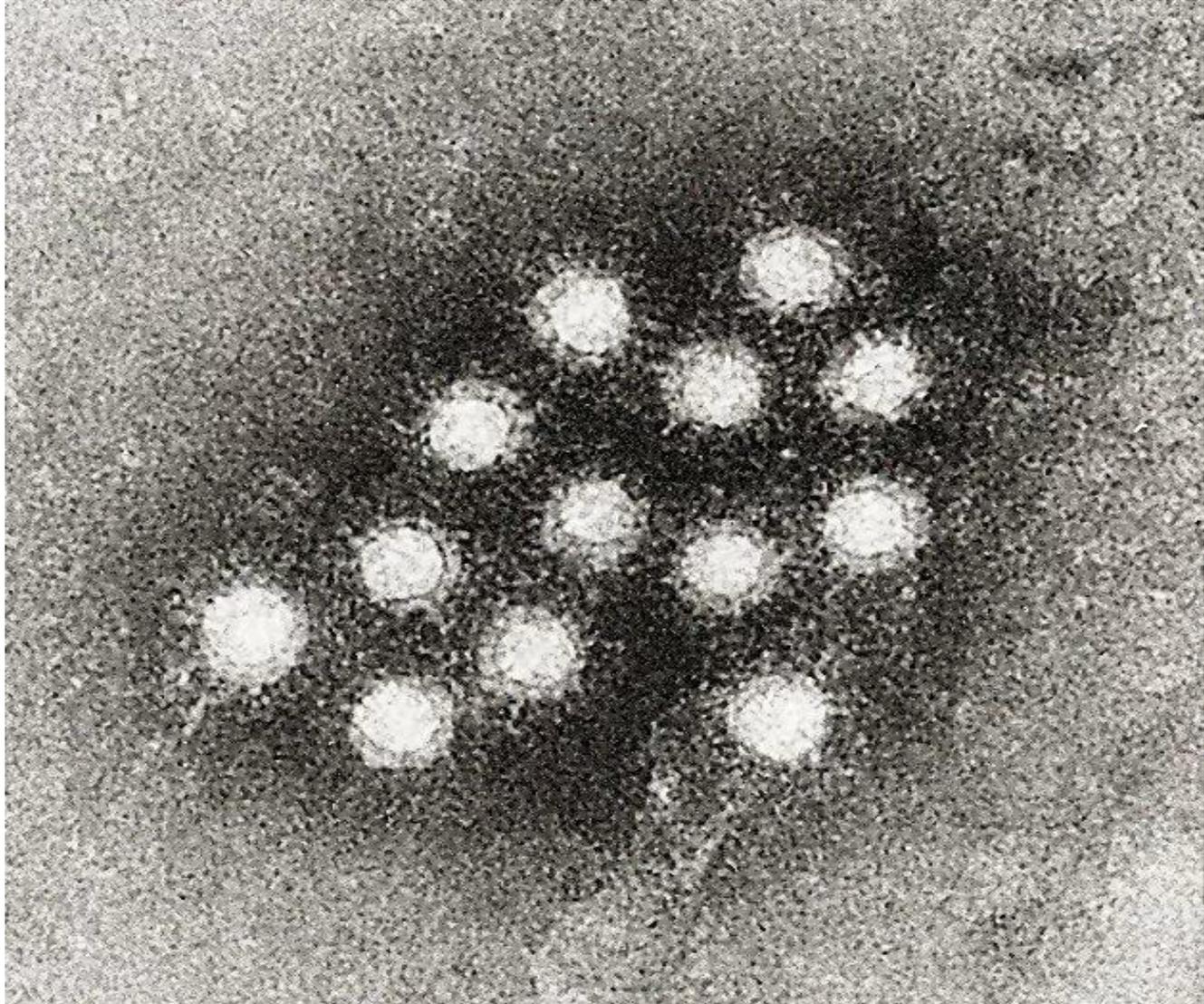
- Вирус гепатита А

3. Парэховирусы

- Парэховирус человека.

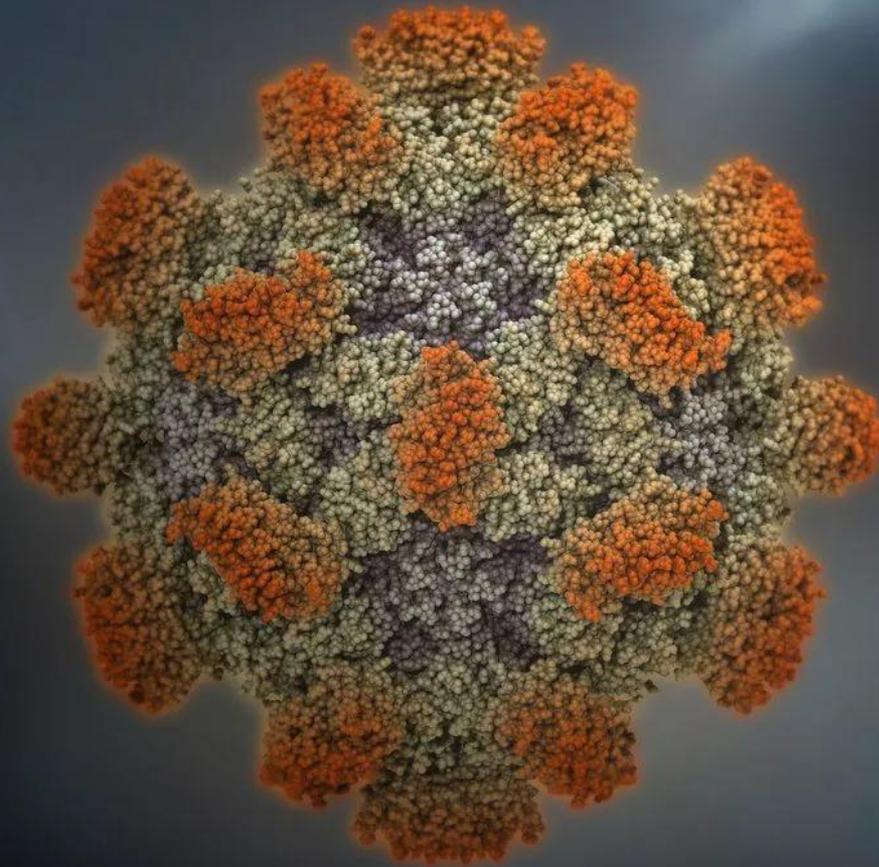
4. Вирус гепатита Е (Hepatitis E virus) - эпидемический острый гепатит среди беременных

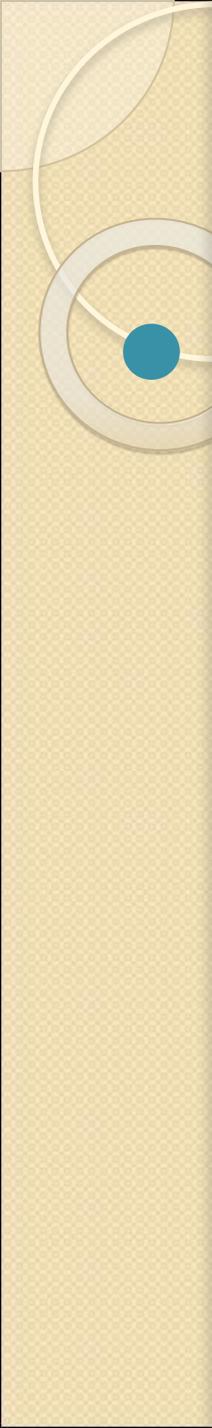
Вирус гепатита А



Вирус гепатита E

Hepatitis E
PDB: 2ztn

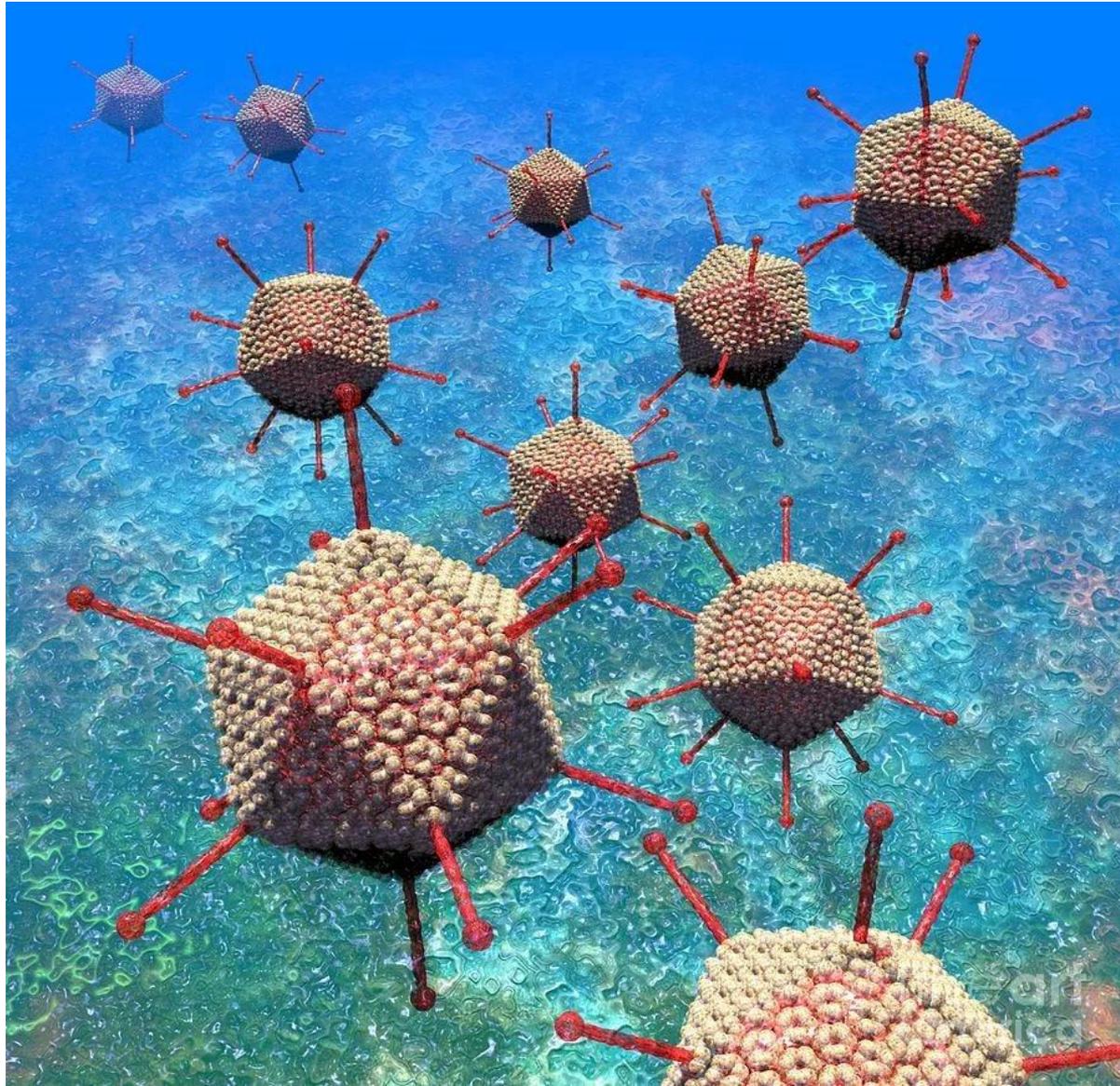




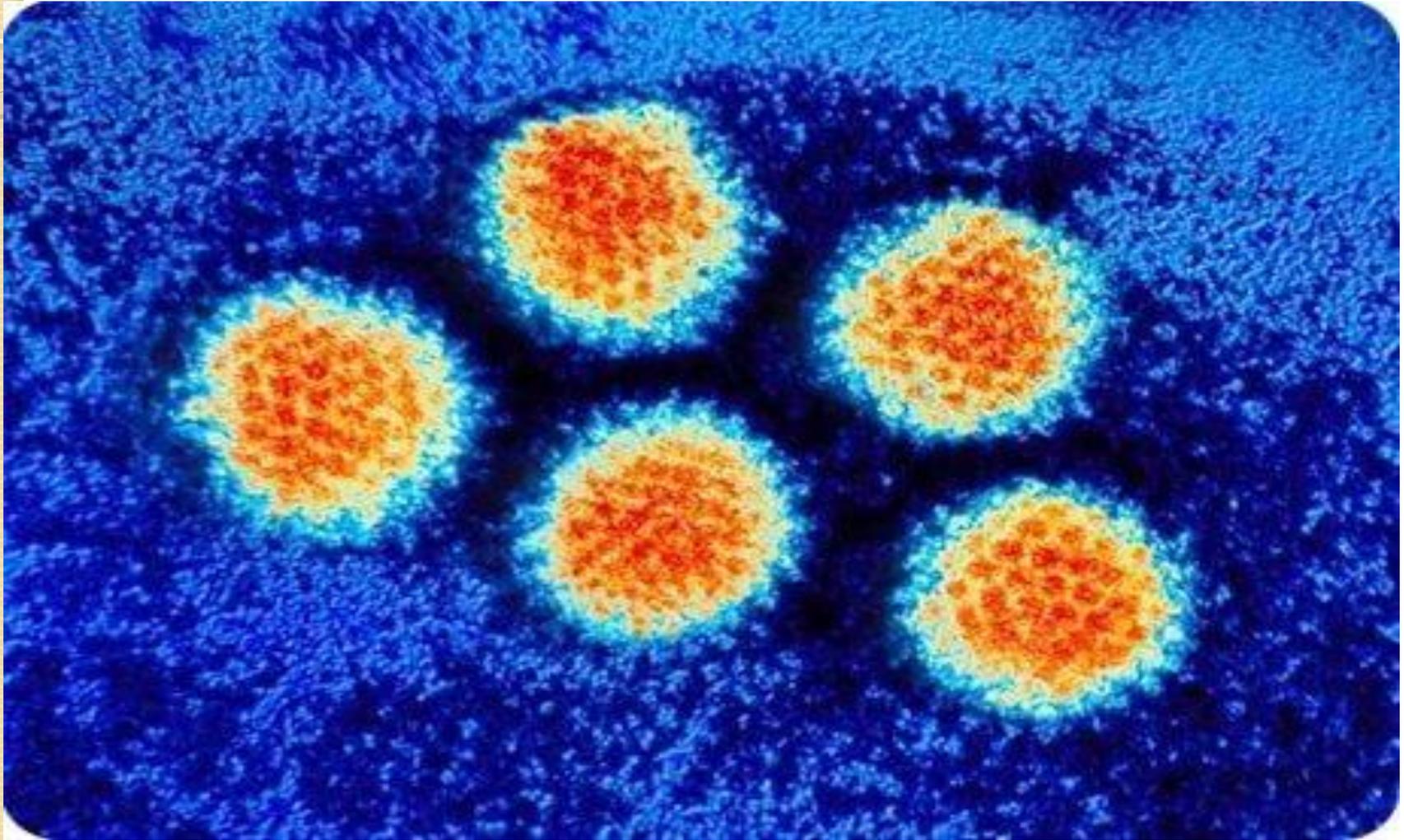
**Вирусы , геном которых
представлен РНК**

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

Аденовирус группы F



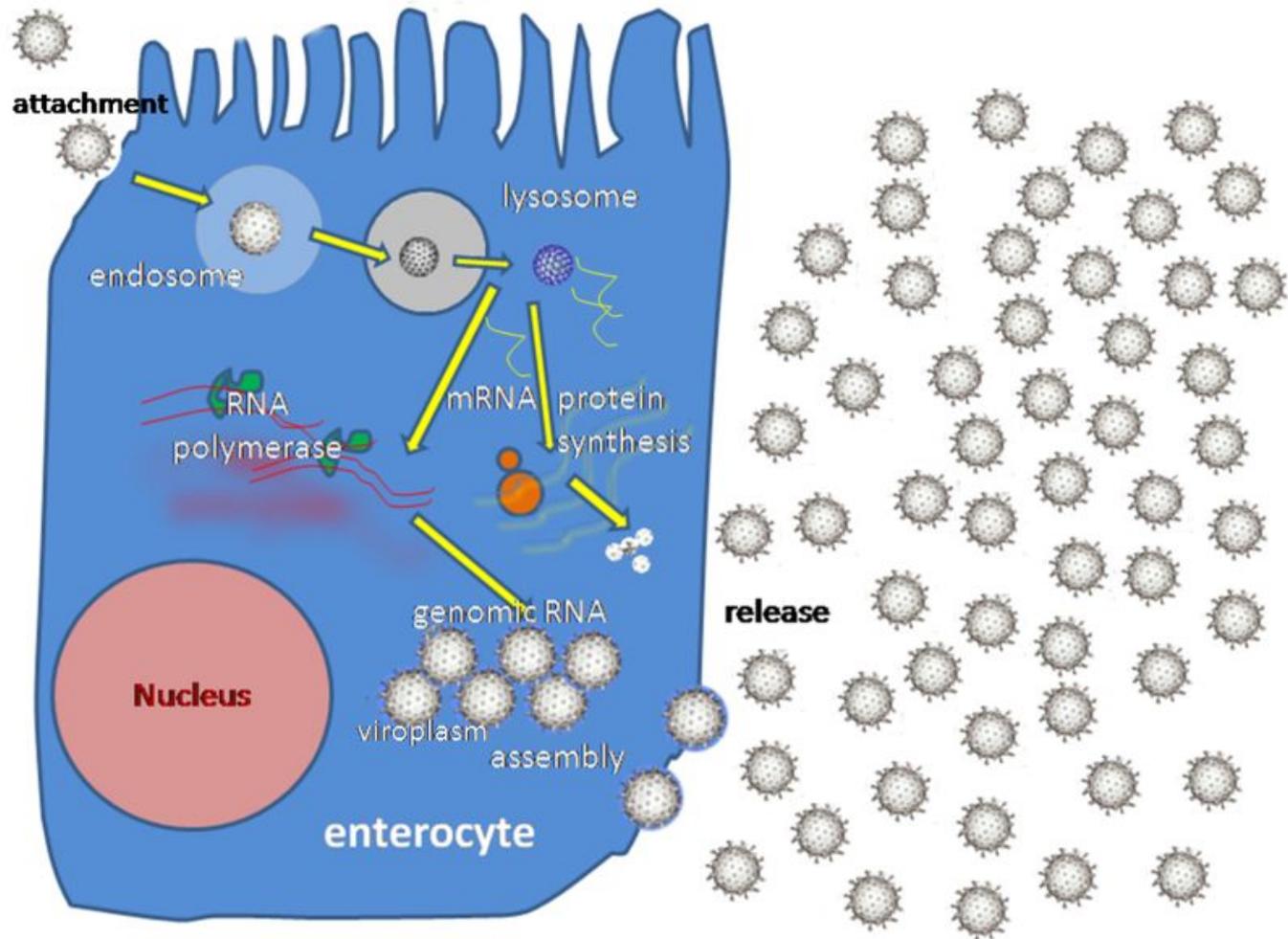
Аденовирус группы F



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 2-8⁰С – в течение 3 суток.
- При температуре -20⁰С – 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 8900
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 (Polytomasigota)
- 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

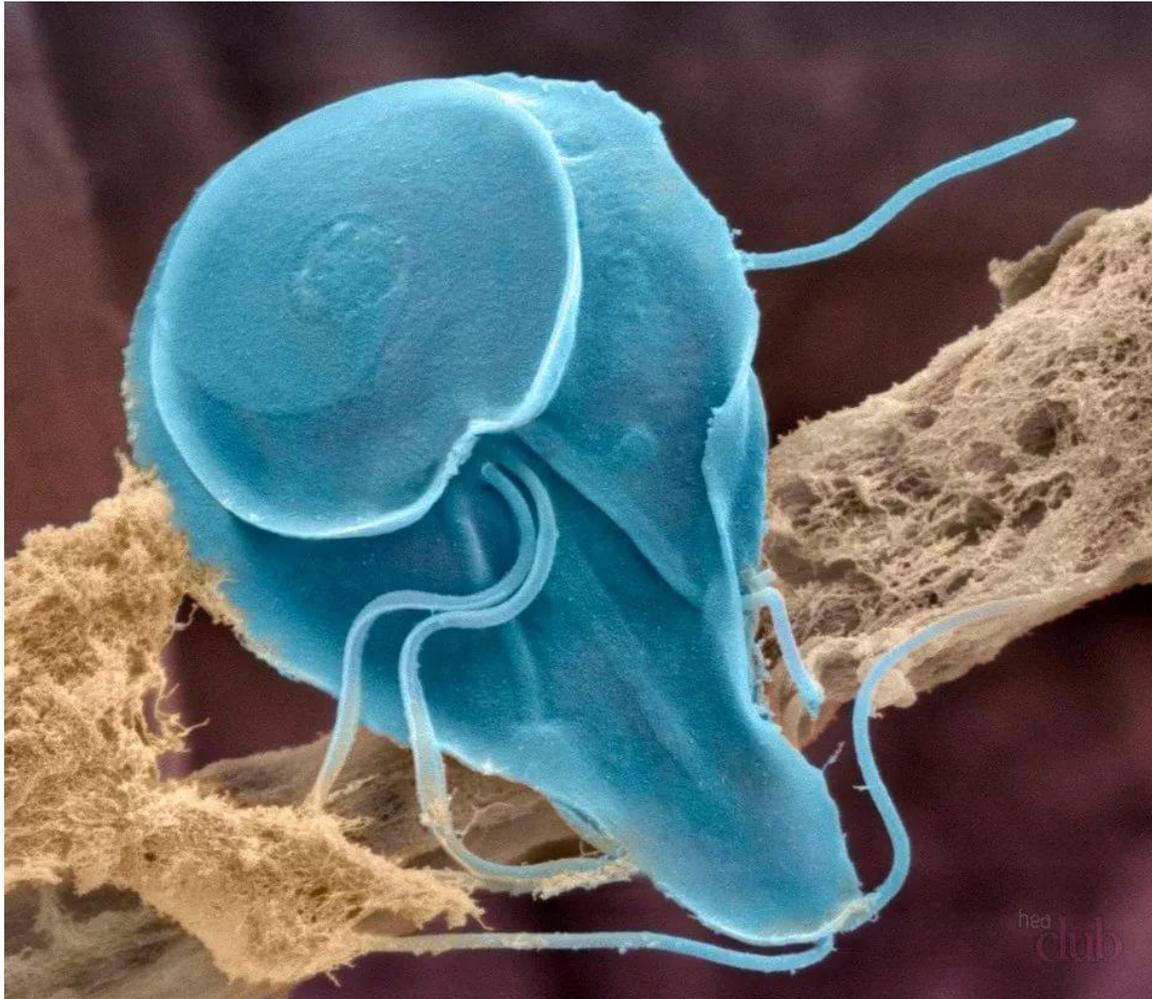
Для каждого вида кишечных простейших характерна своя экологическая ниша:

- 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.

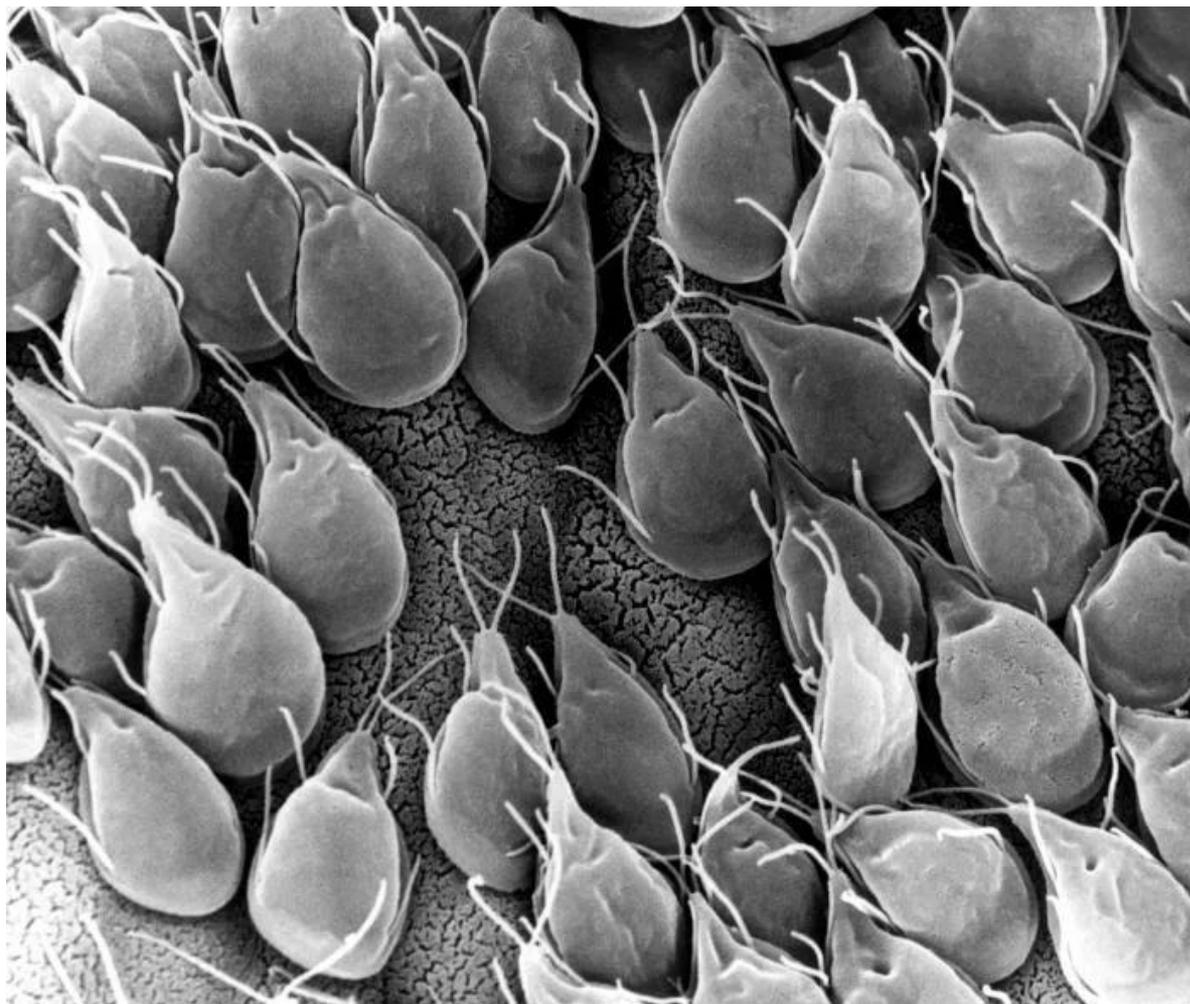
Лямблии



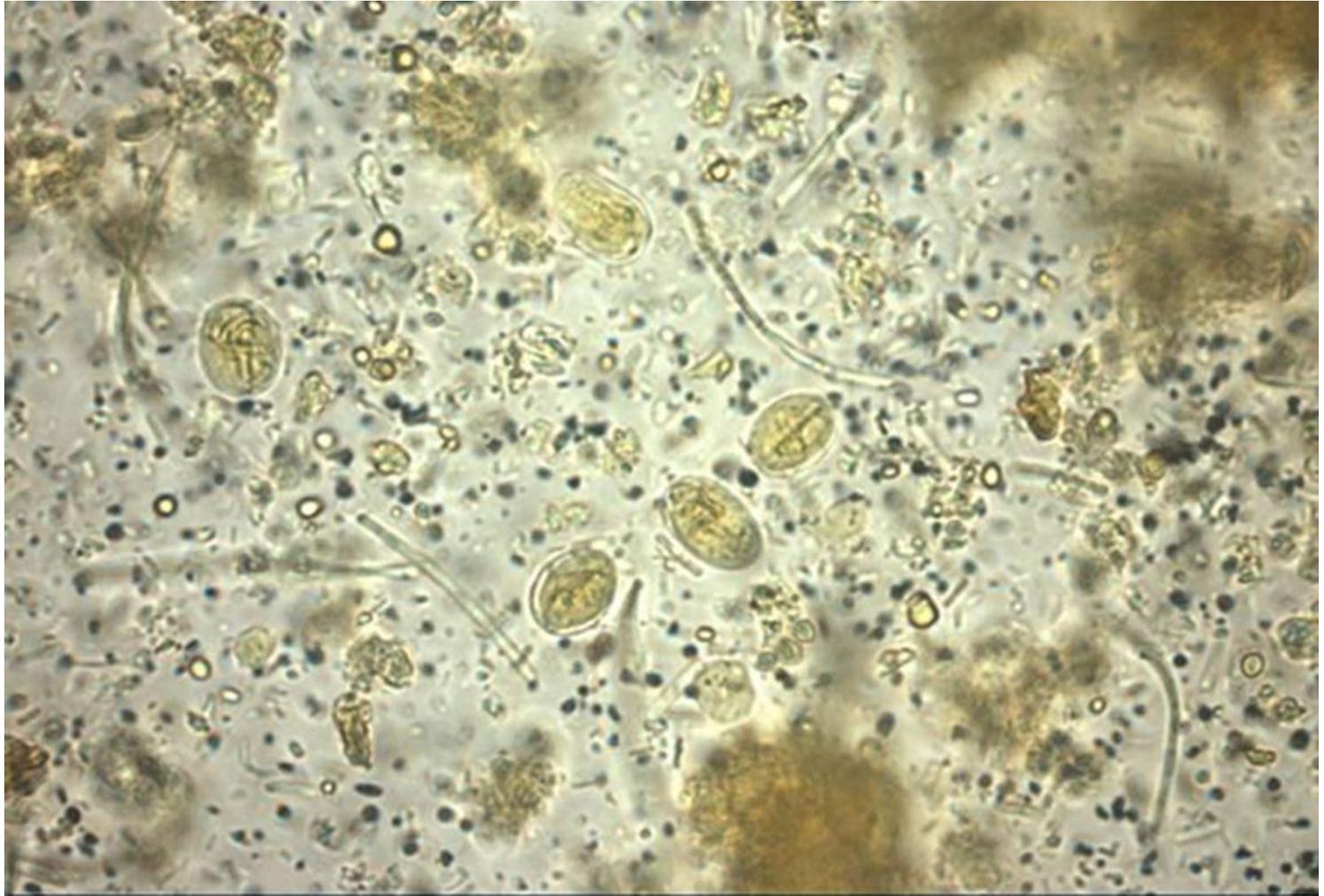
Лямблии



Лямблии



Лямблии

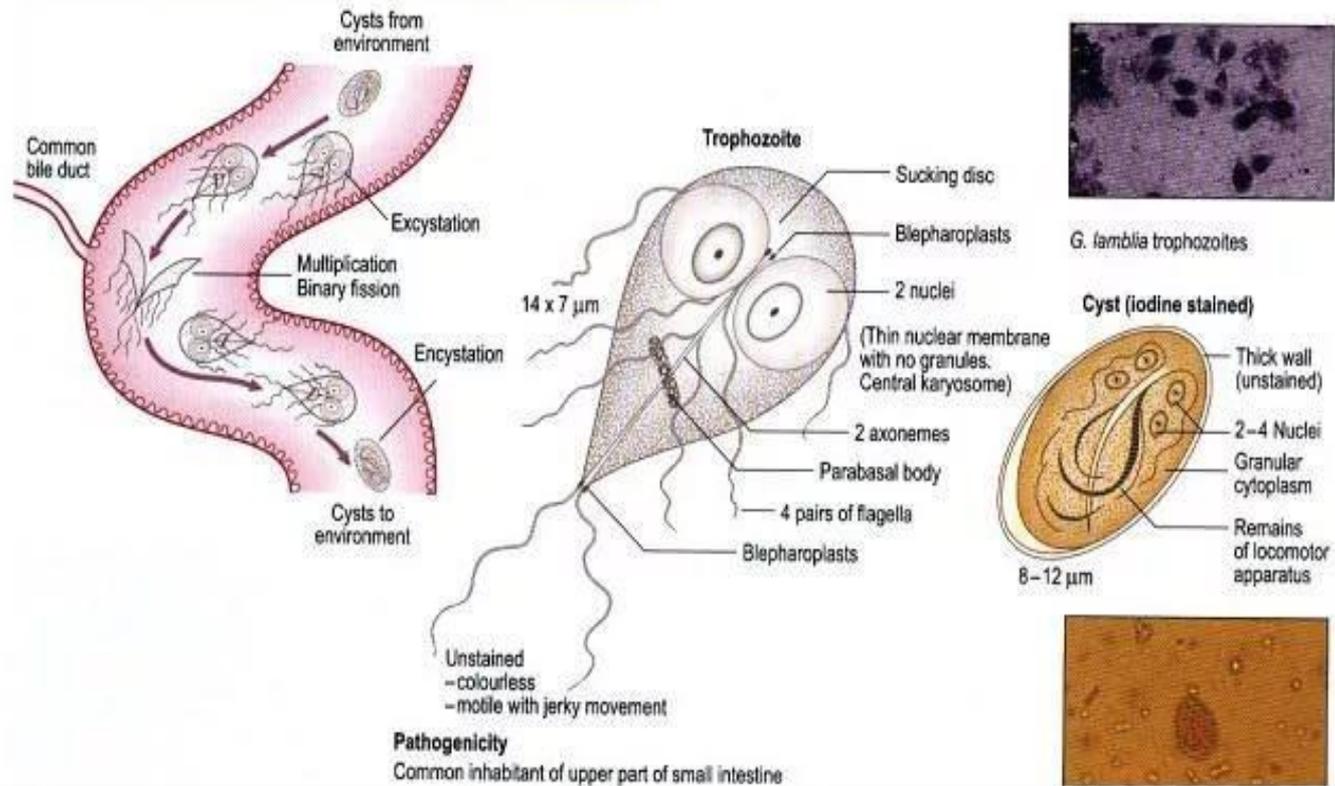


Цисты *Lamblia intestinalis*. Окраска раствором Люголя. ©

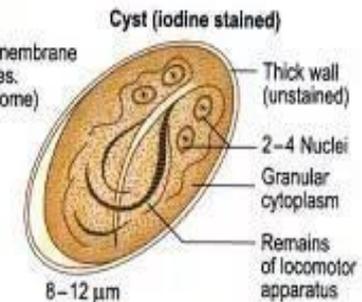
Лямблии

Giardia intestinalis (*G. lamblia*)

Life cycle



G. lamblia trophozoites



8-12 μ m

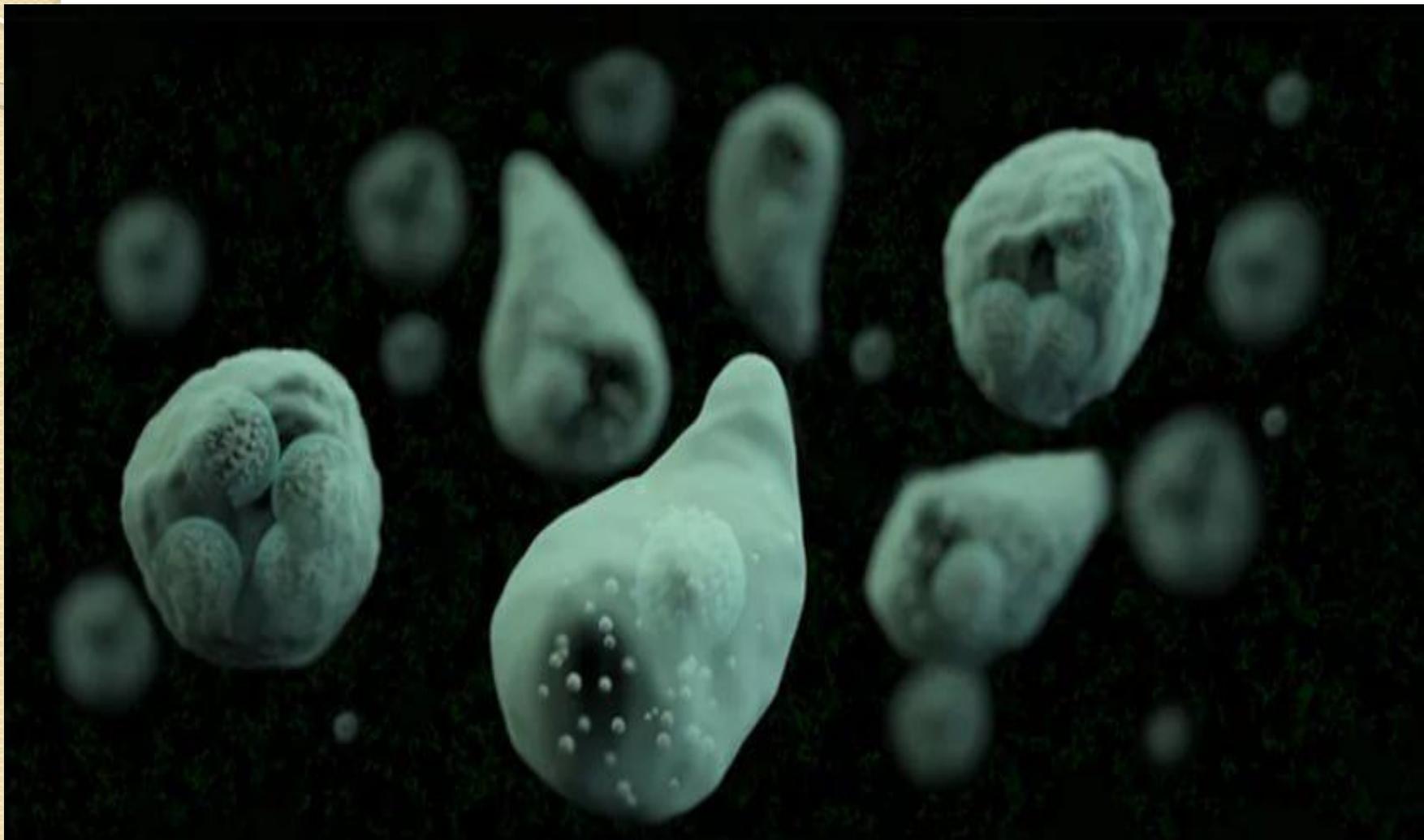


Протозойные инфекции кишечника

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.

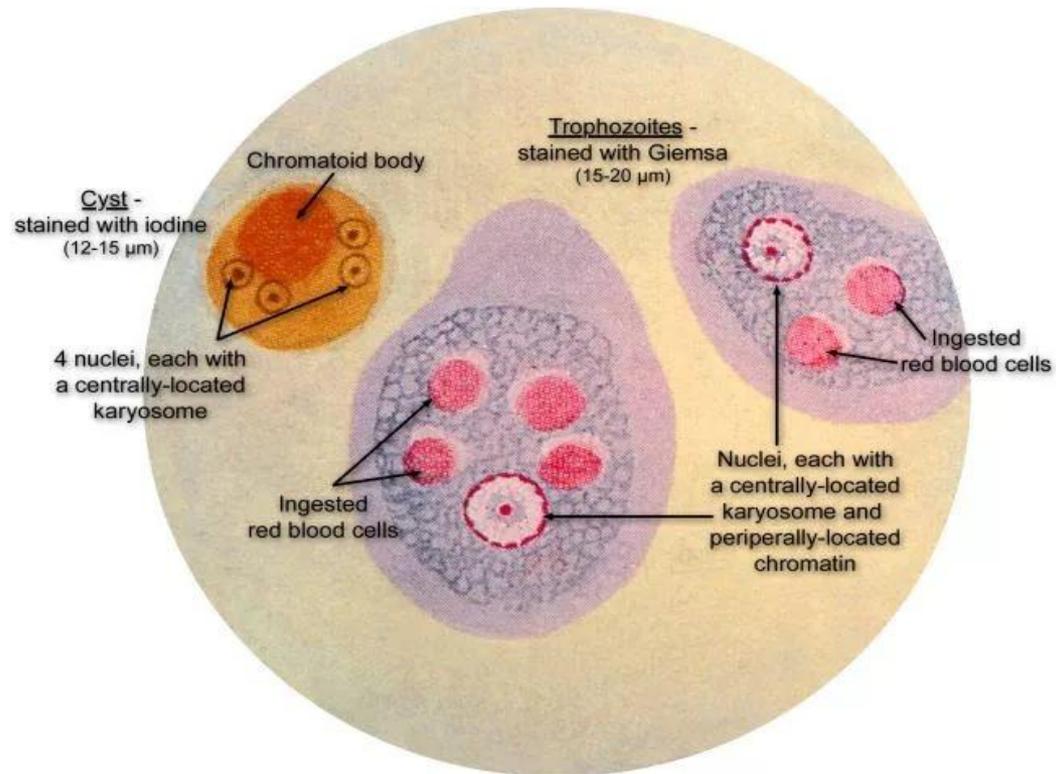
Дизентерийная амёба



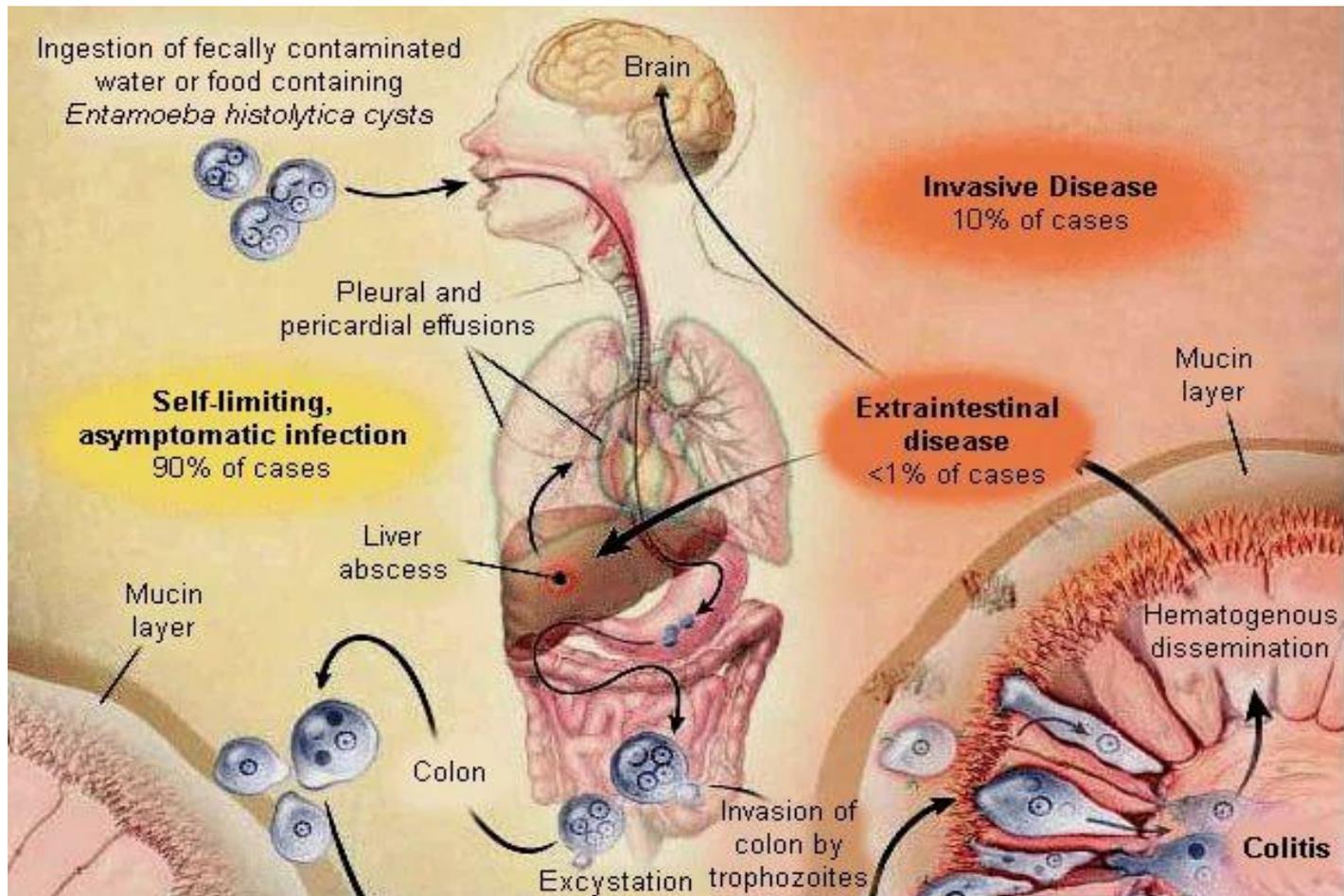
Амебиаз

- 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

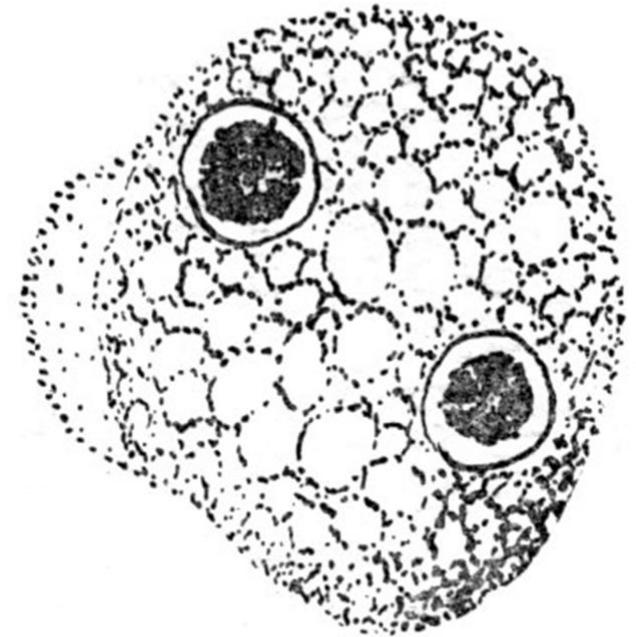


Дизентерийная амёба



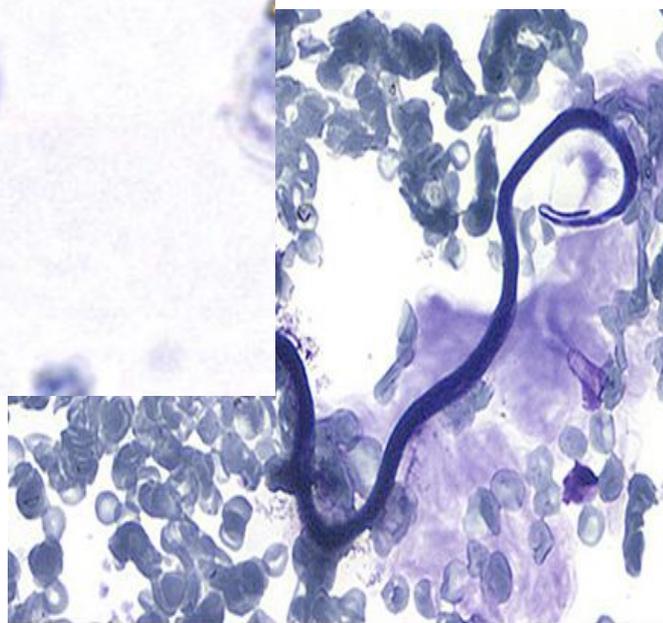
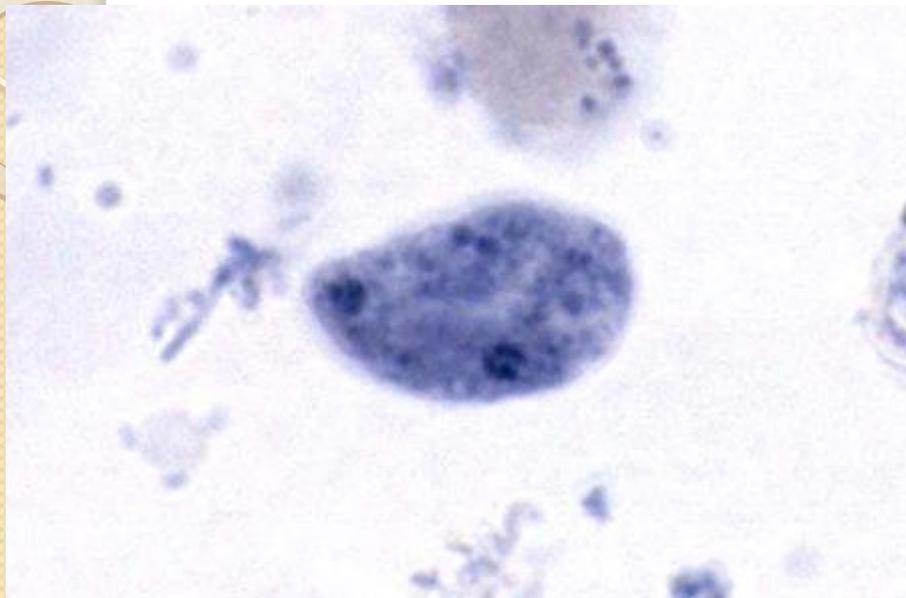
Диентамеба (*Dientamoeba fragilis*)

- 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

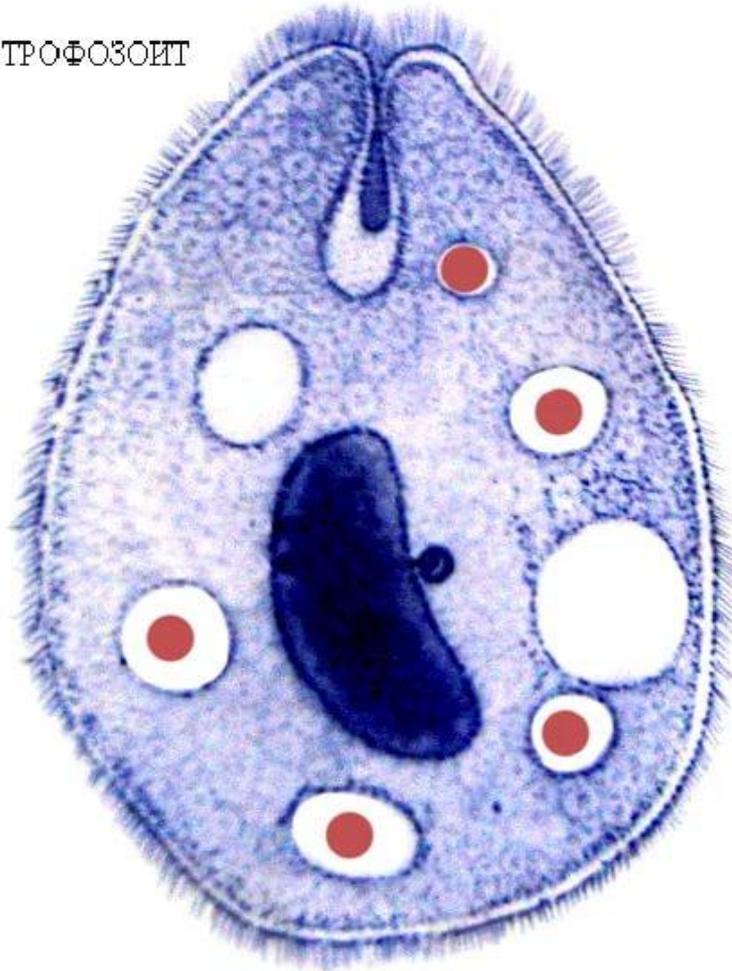


Инфузории, вызывающие кишечные протозозы

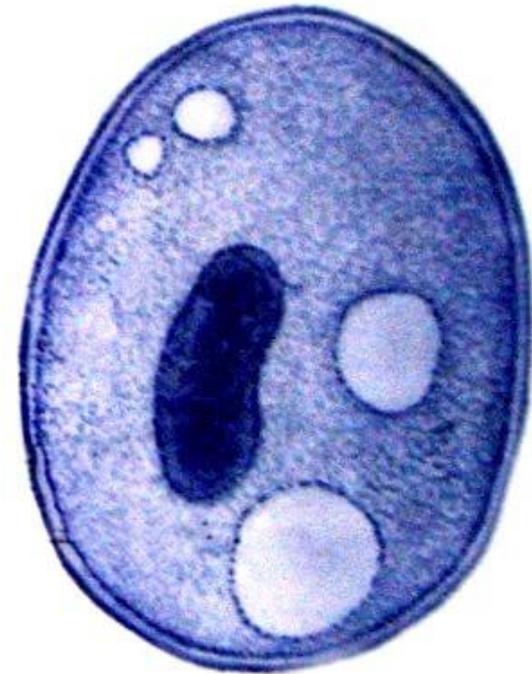
- **Балантидий- *Balantidium coli***
- Наиболее крупное из обитающих в кишечнике человека простейших.
- Балантидиаз- протозойное зоонозное заболевание ,характеризующееся общей интоксикацией ,язвенным поражением толстой кишки , изнурительным поносом и истощением.
- Чаще протекает бессимптомно.

Balantidium coli

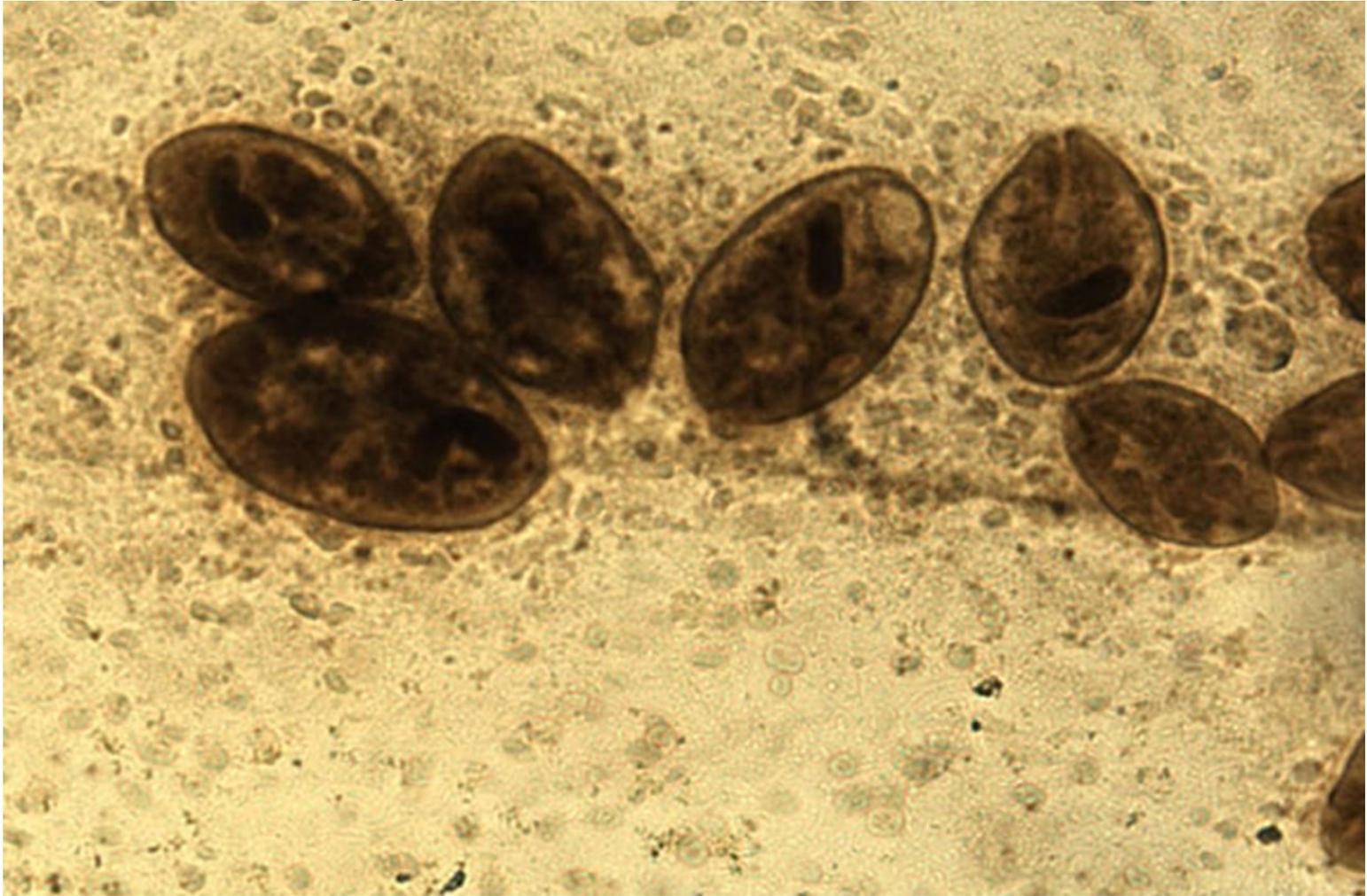
ТРОФОЗОИТ



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)

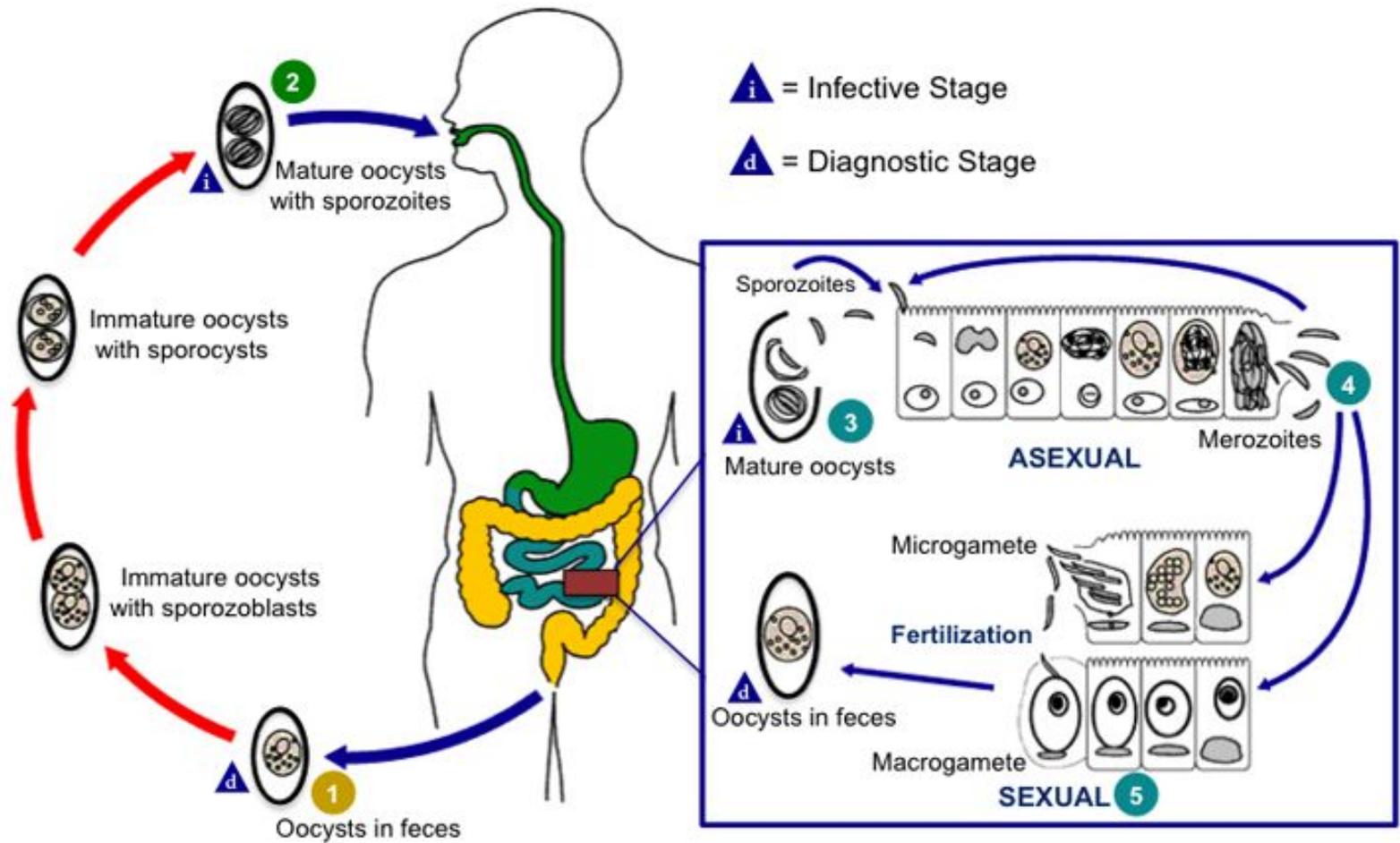
Izospora bellii



Izospora bellii



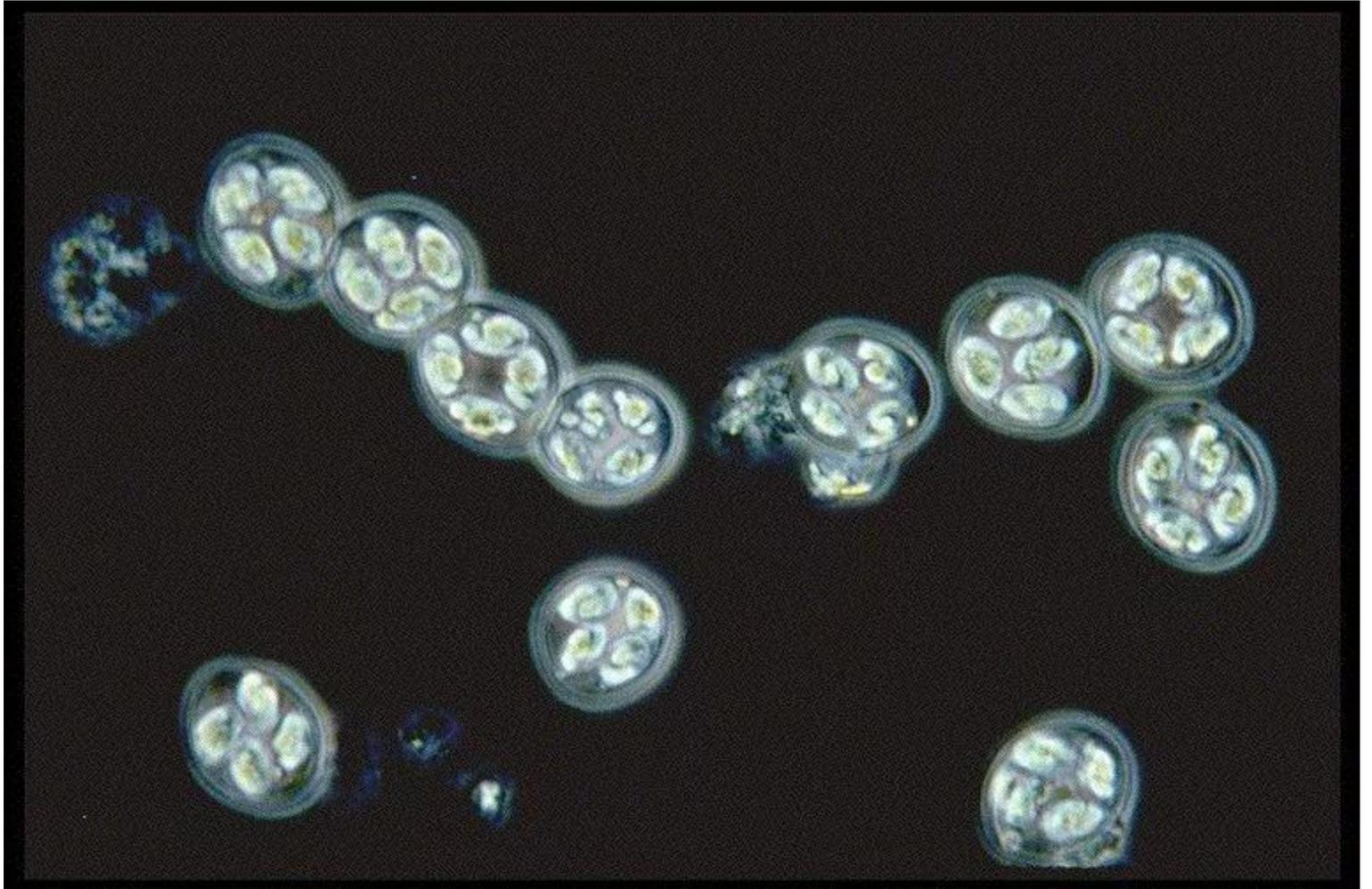
Izospora belli



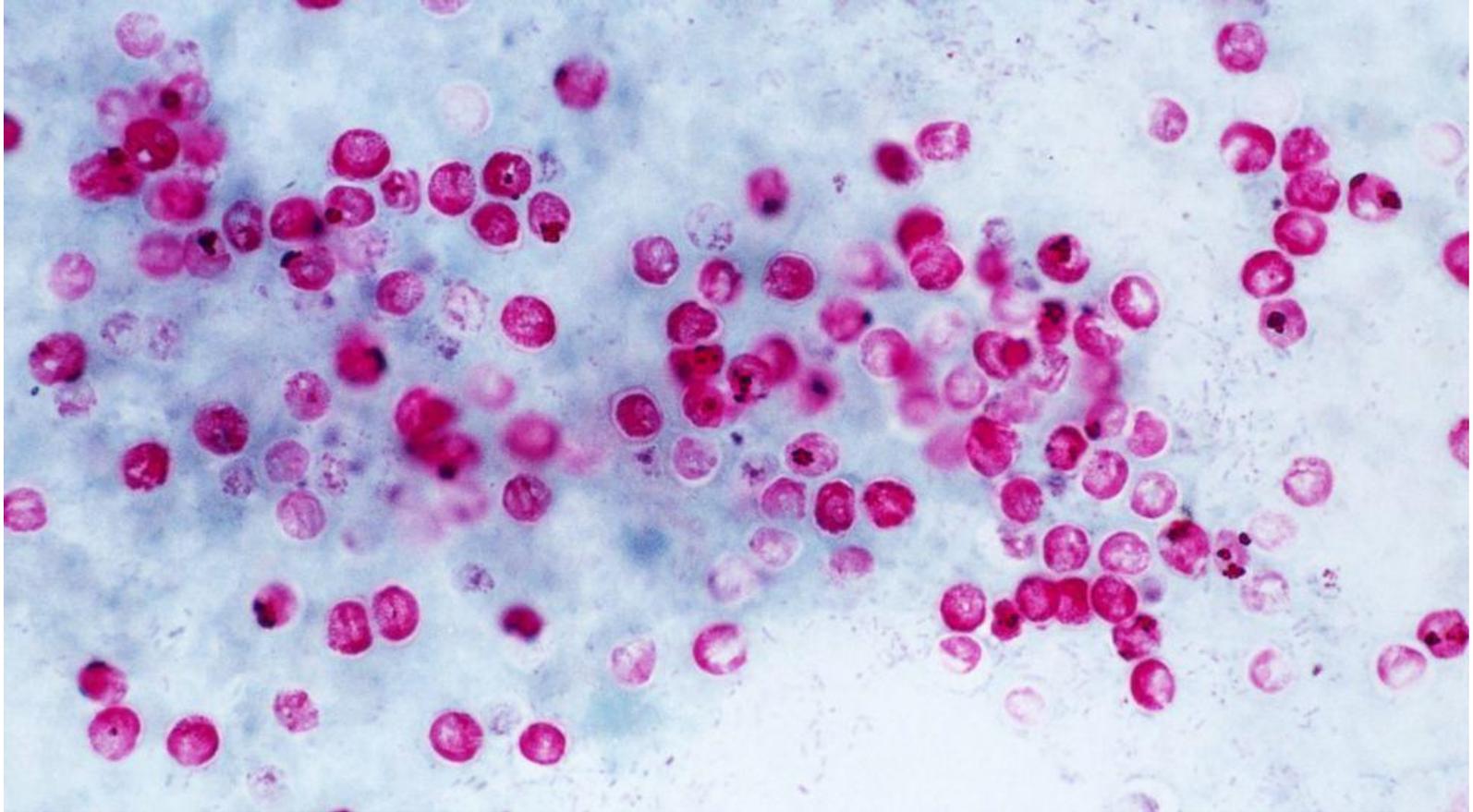
Криптоспоридии

- 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)

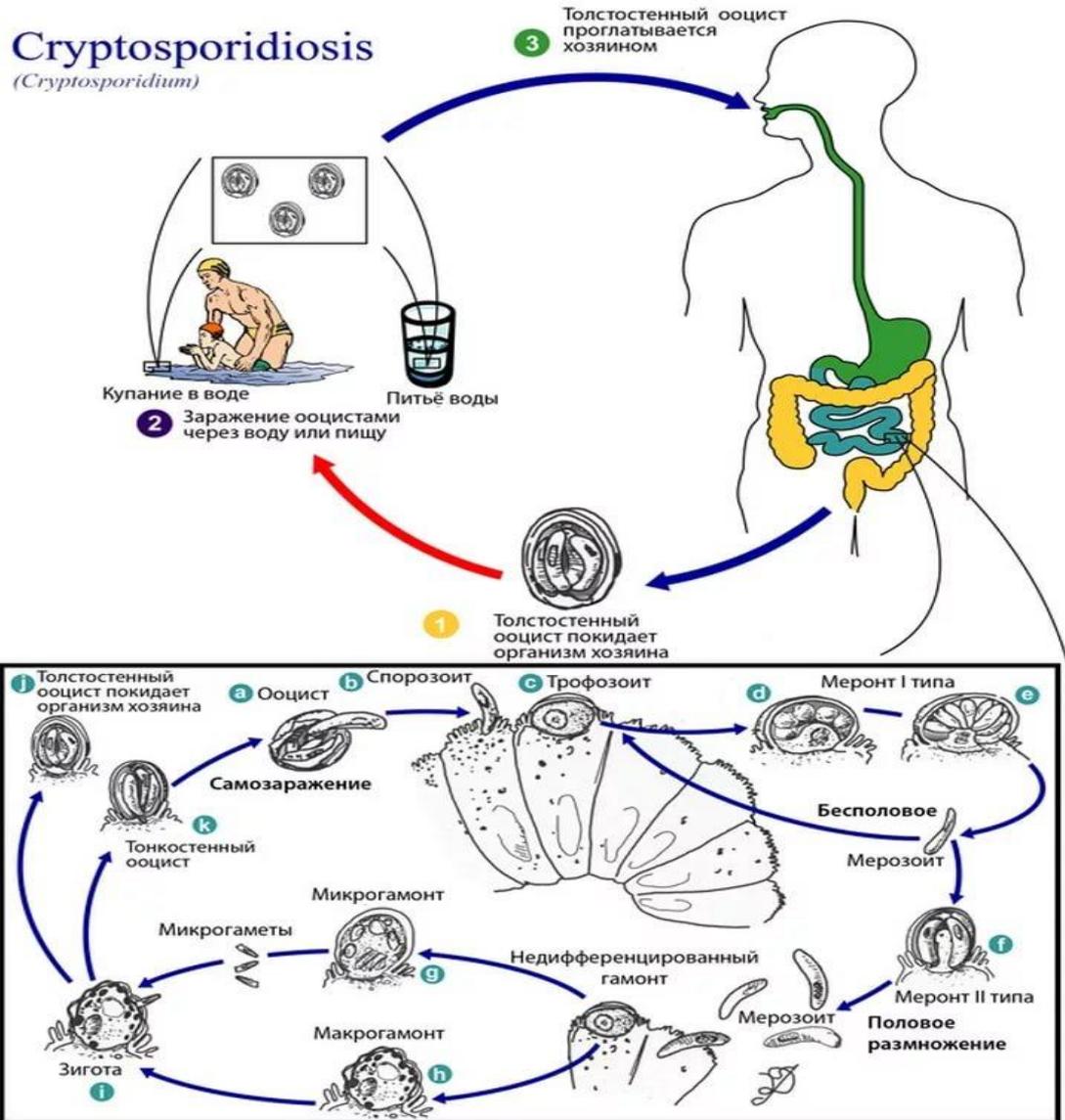
Cryptosporidium parvum



Cryptosporidium parvum



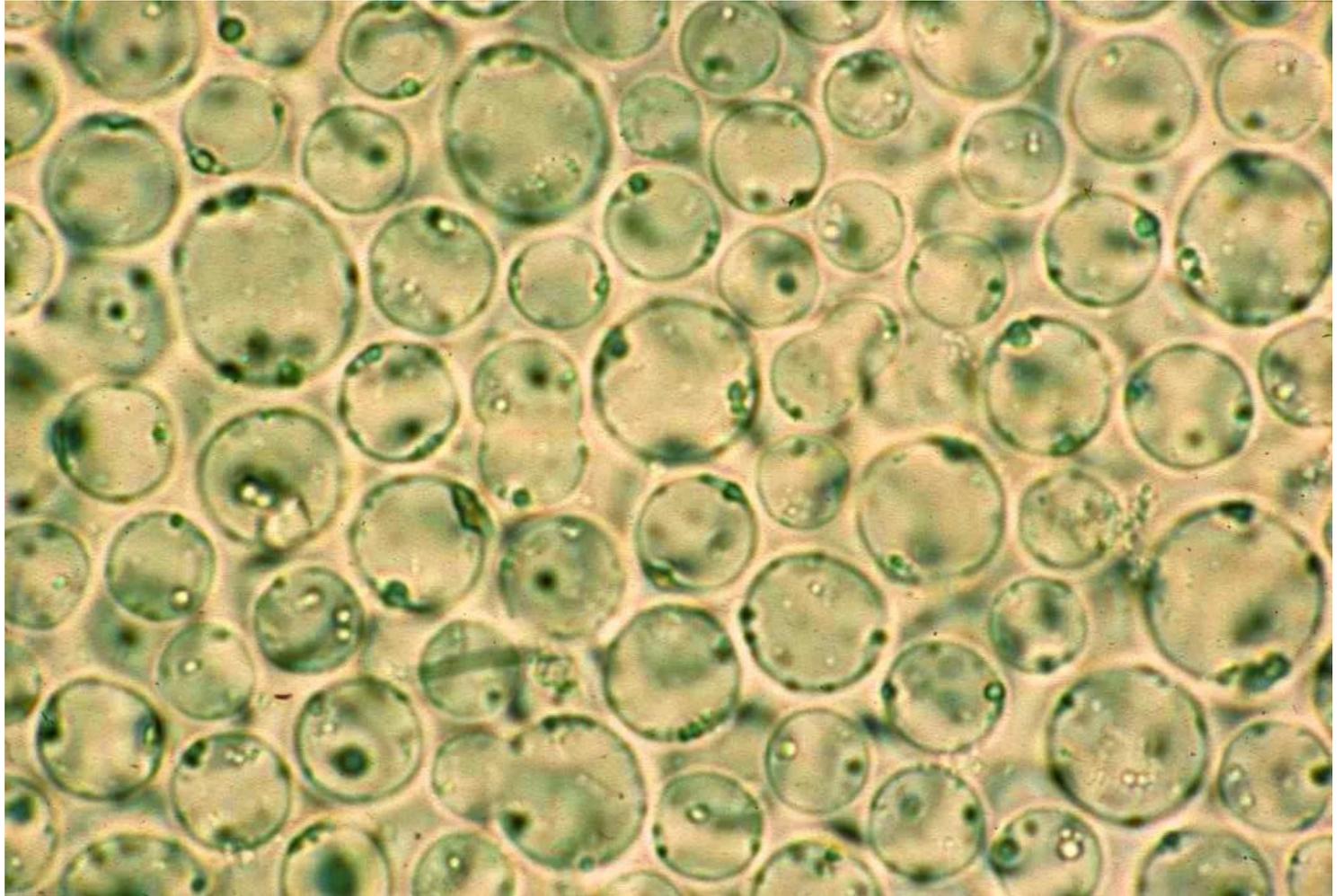
Cryptosporidium parvum



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).

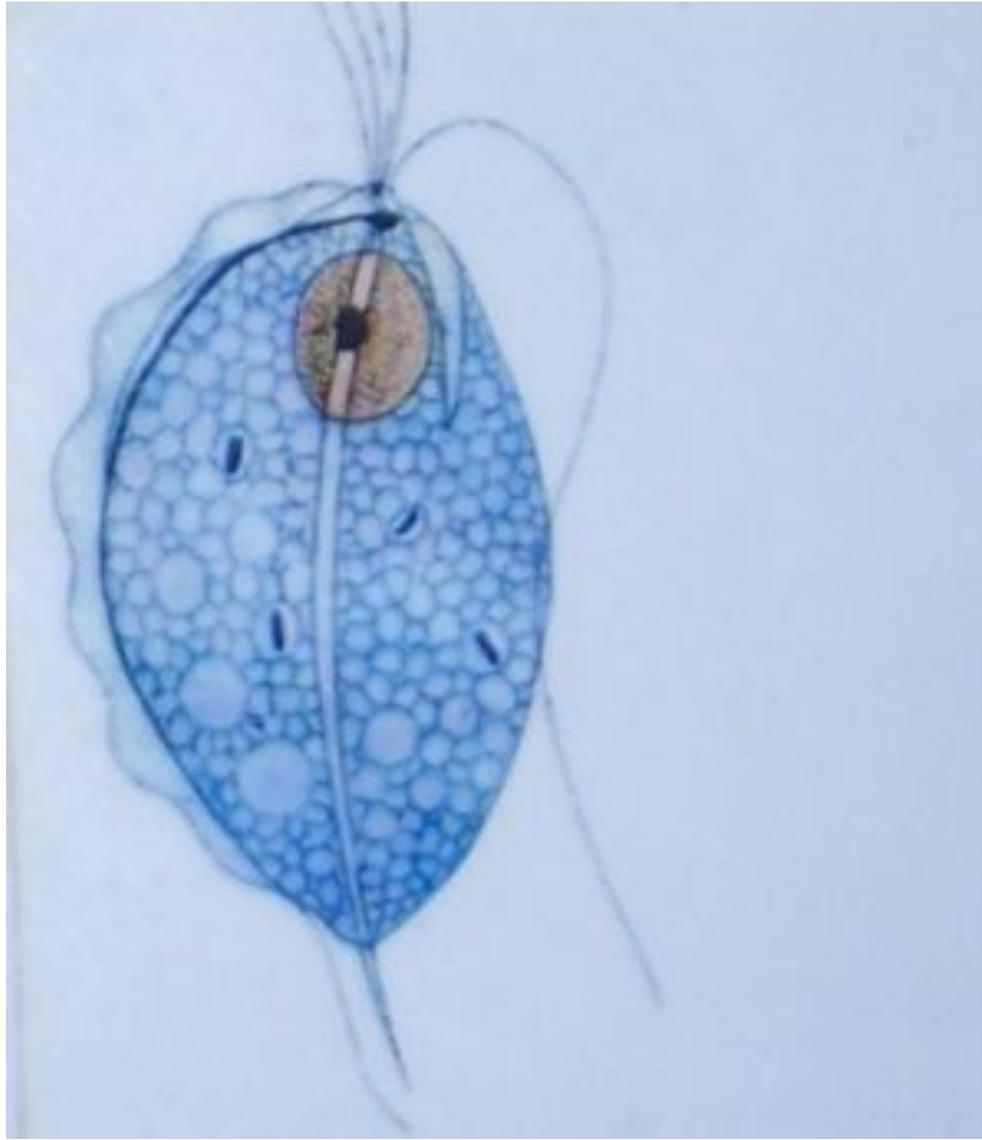
Blastocysta hominis



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



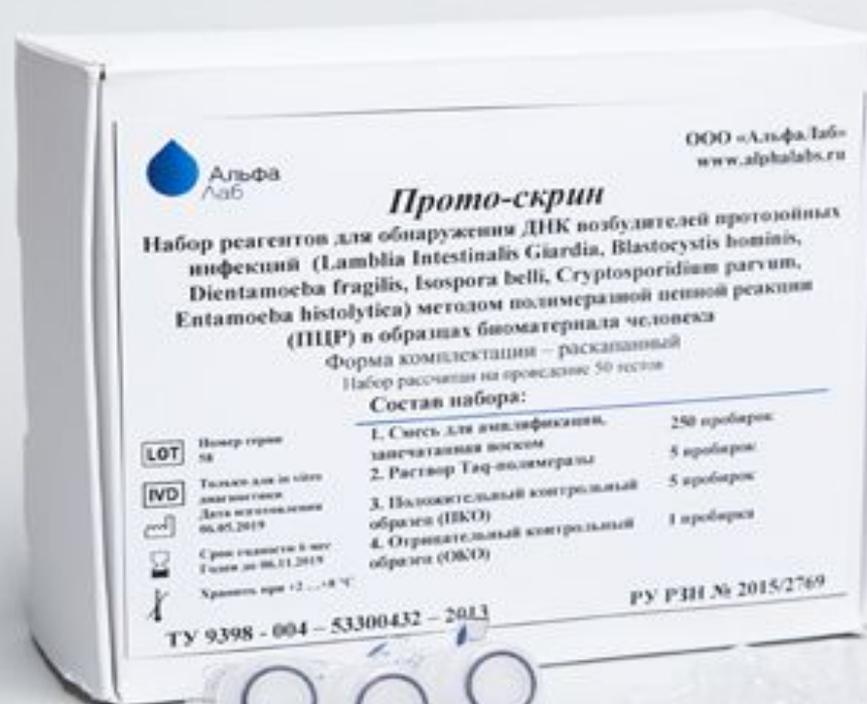
Диагностика кишечных протозойных инвазий

- ◆ **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!

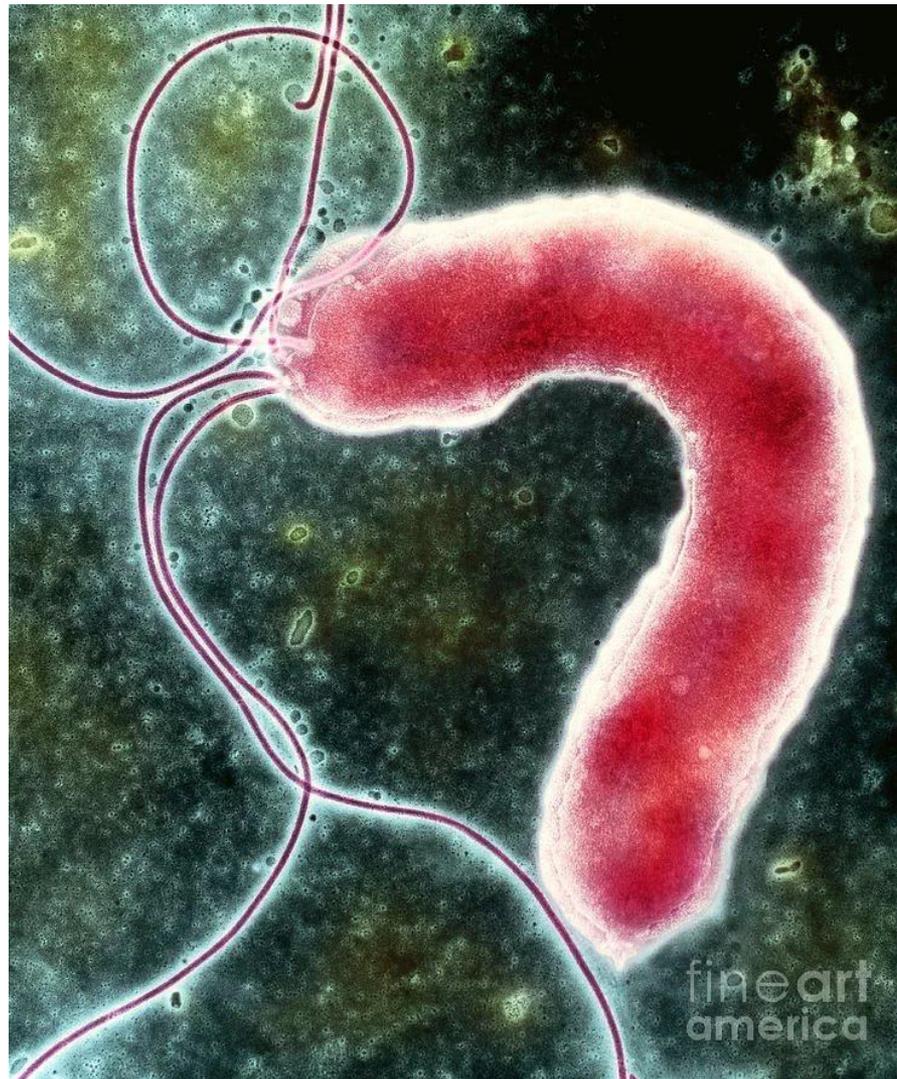
Исследуемый материал

- 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.

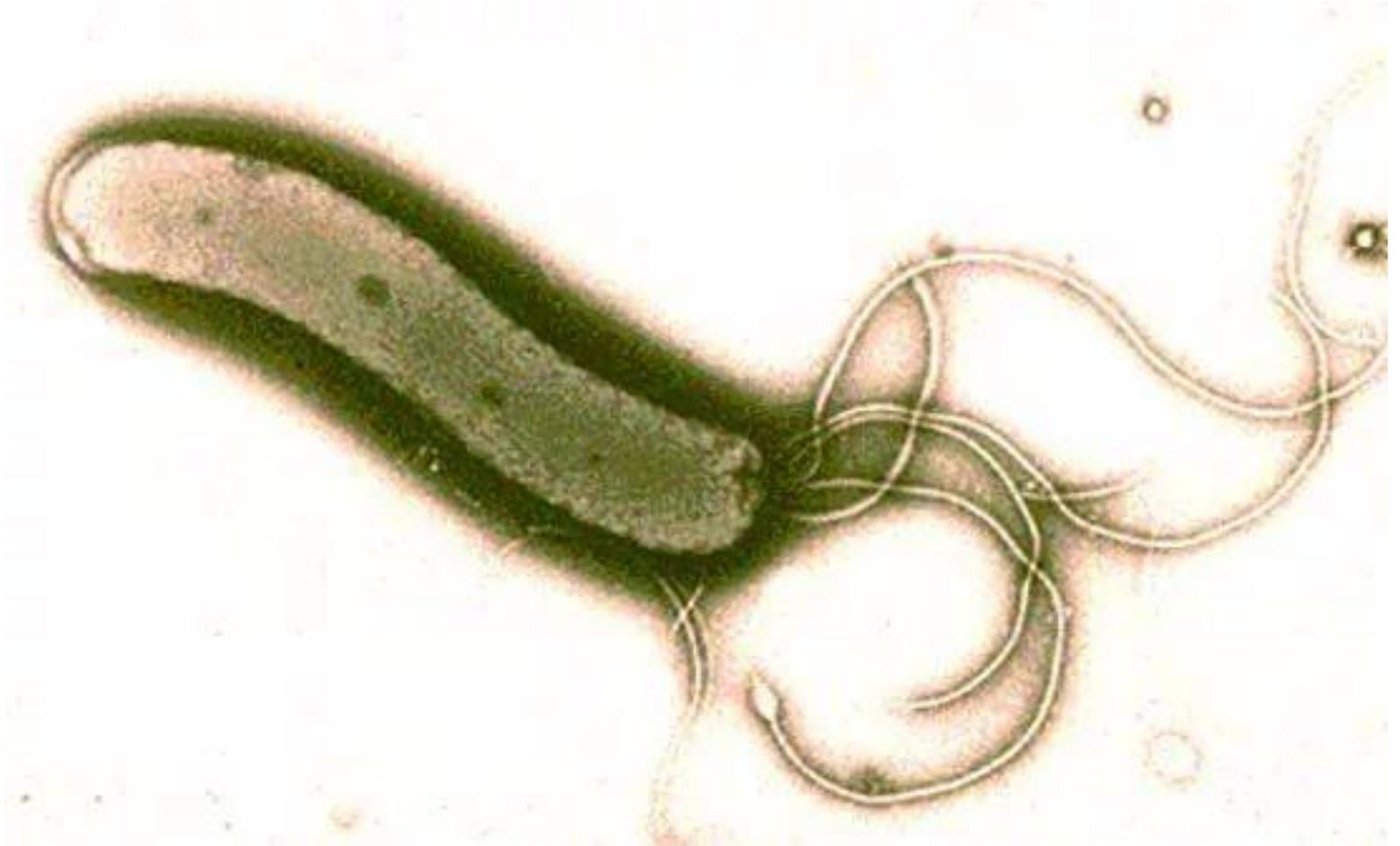
- Семейство Spirillaceae
- Род Helicobacter включает в себя 24 вида.
- Широко распространены в природе , как комменсалы ЖКТ присутствуют в кишечнике и желудке у собак и кошек.
- Медицинское значение имеет Helicobacter pylori

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*

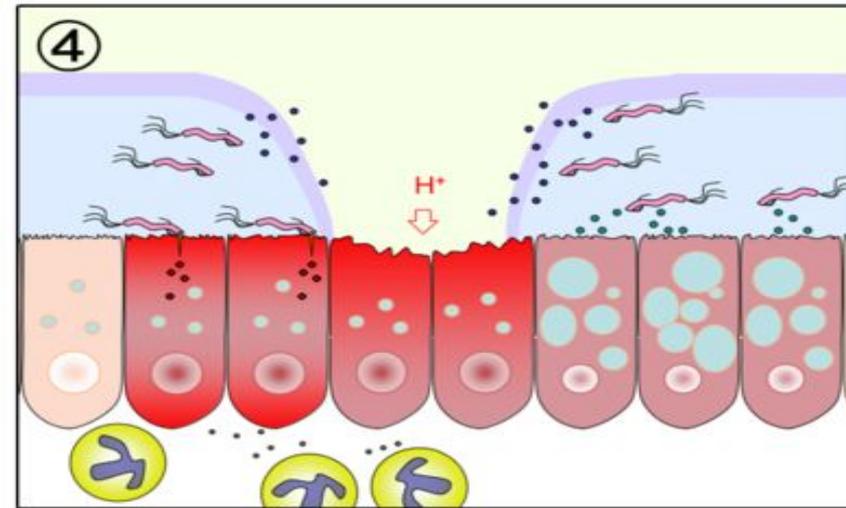
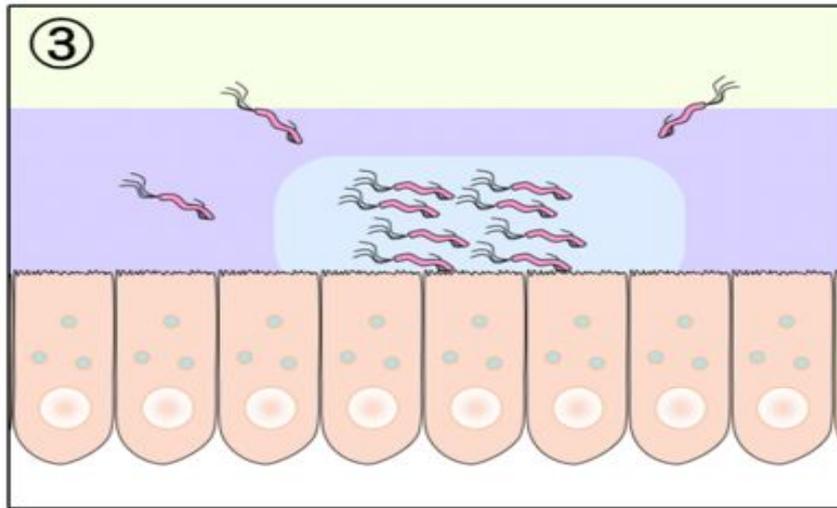
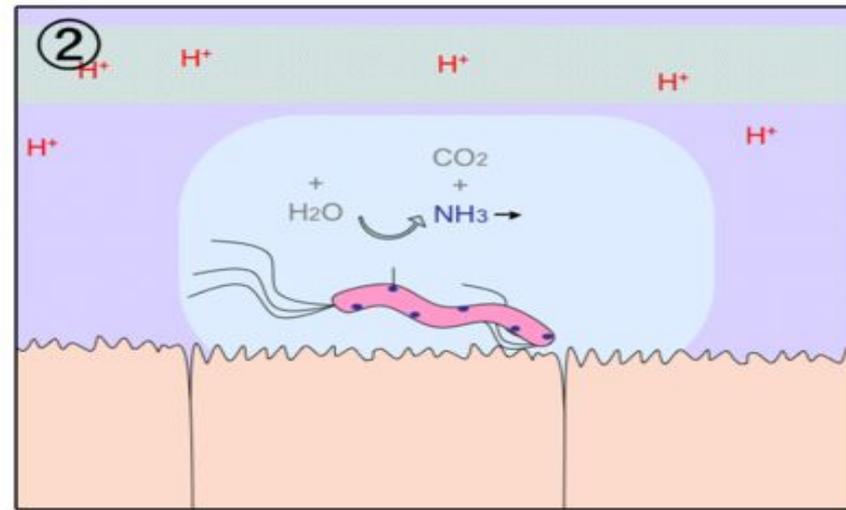
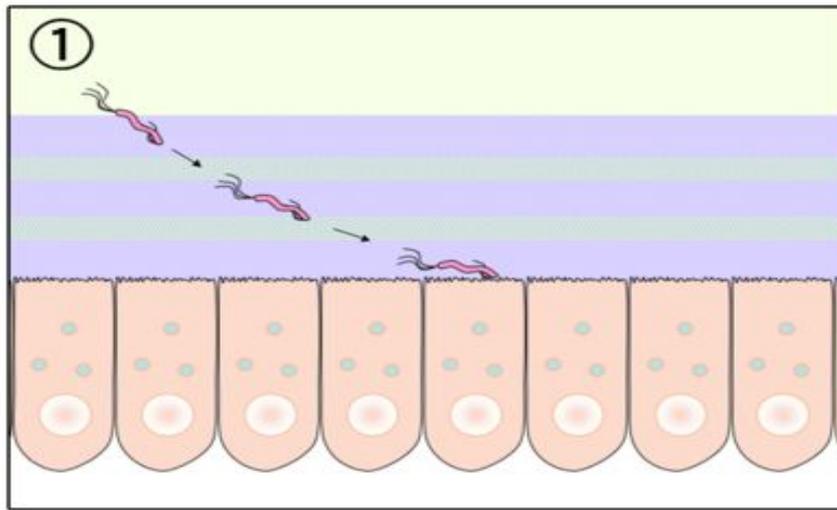
Имеют широкий спектр факторов патогенности:

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

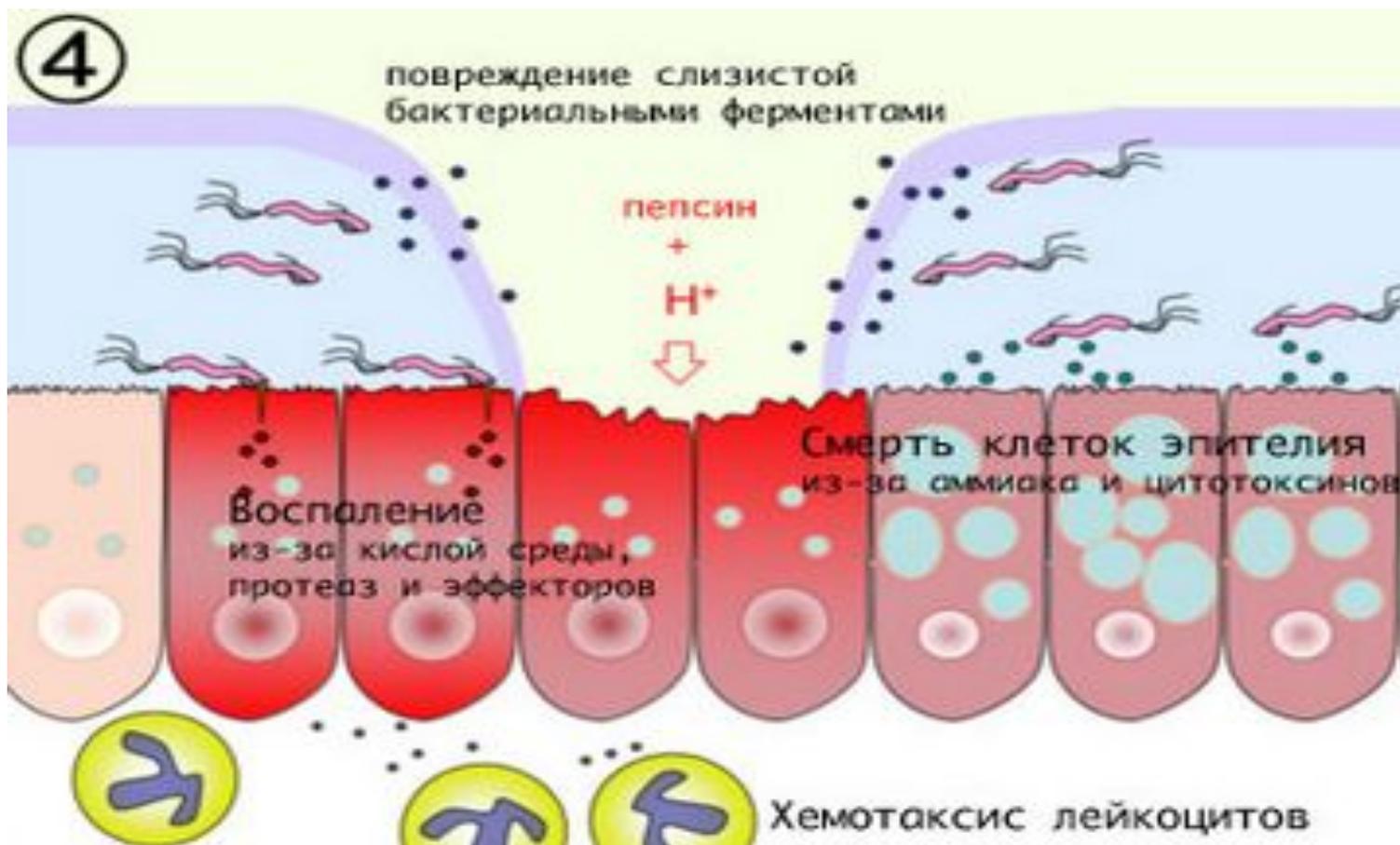
Факторы вирулентности



Патогенез *Helicobacter pylori*-инфекции



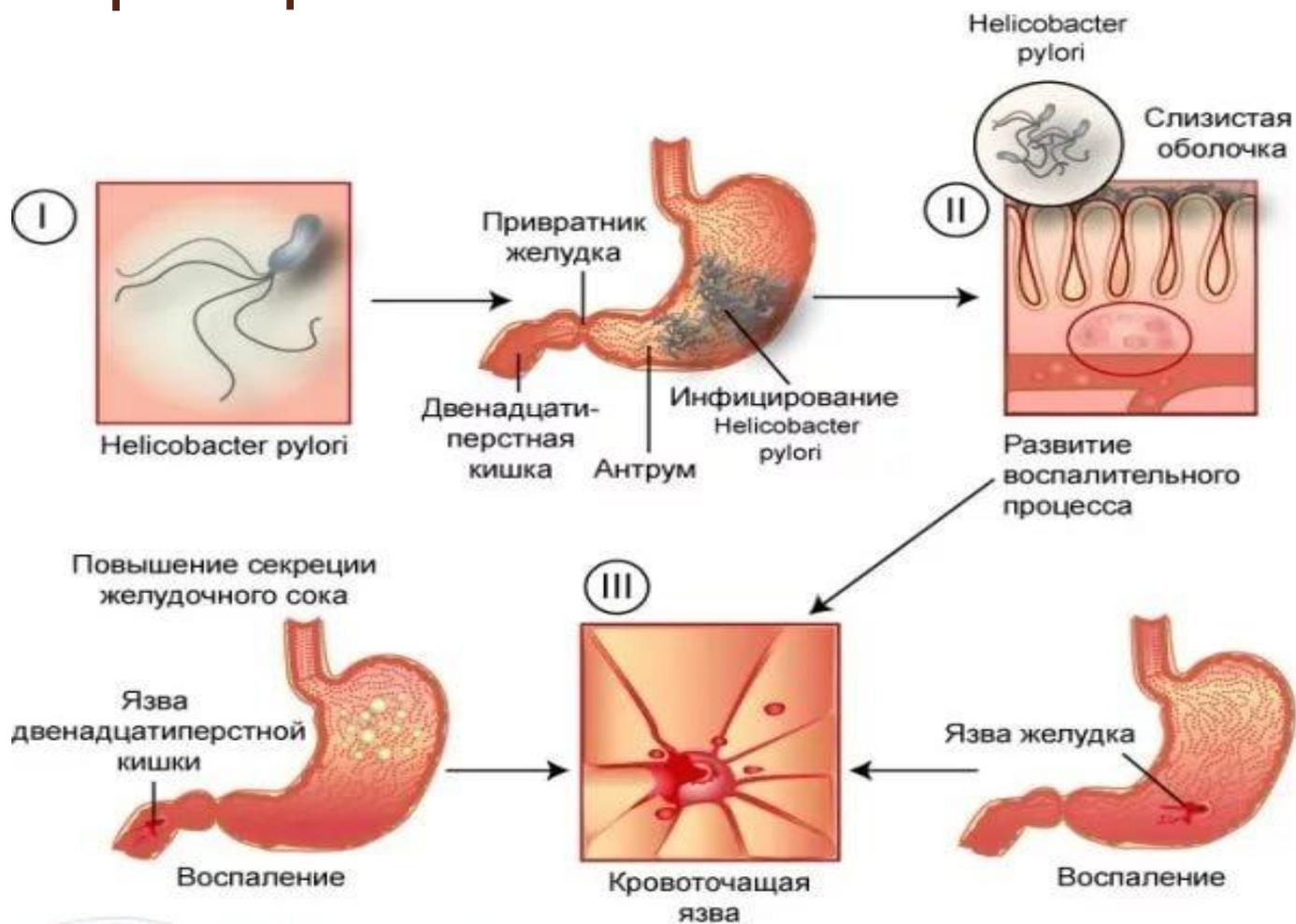
Патогенез *Helicobacter pylori*-инфекции



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 37⁰С при влажности 95%:
 - O₂ – 5-6%
 - CO₂ – 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*»(x48)
- 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.

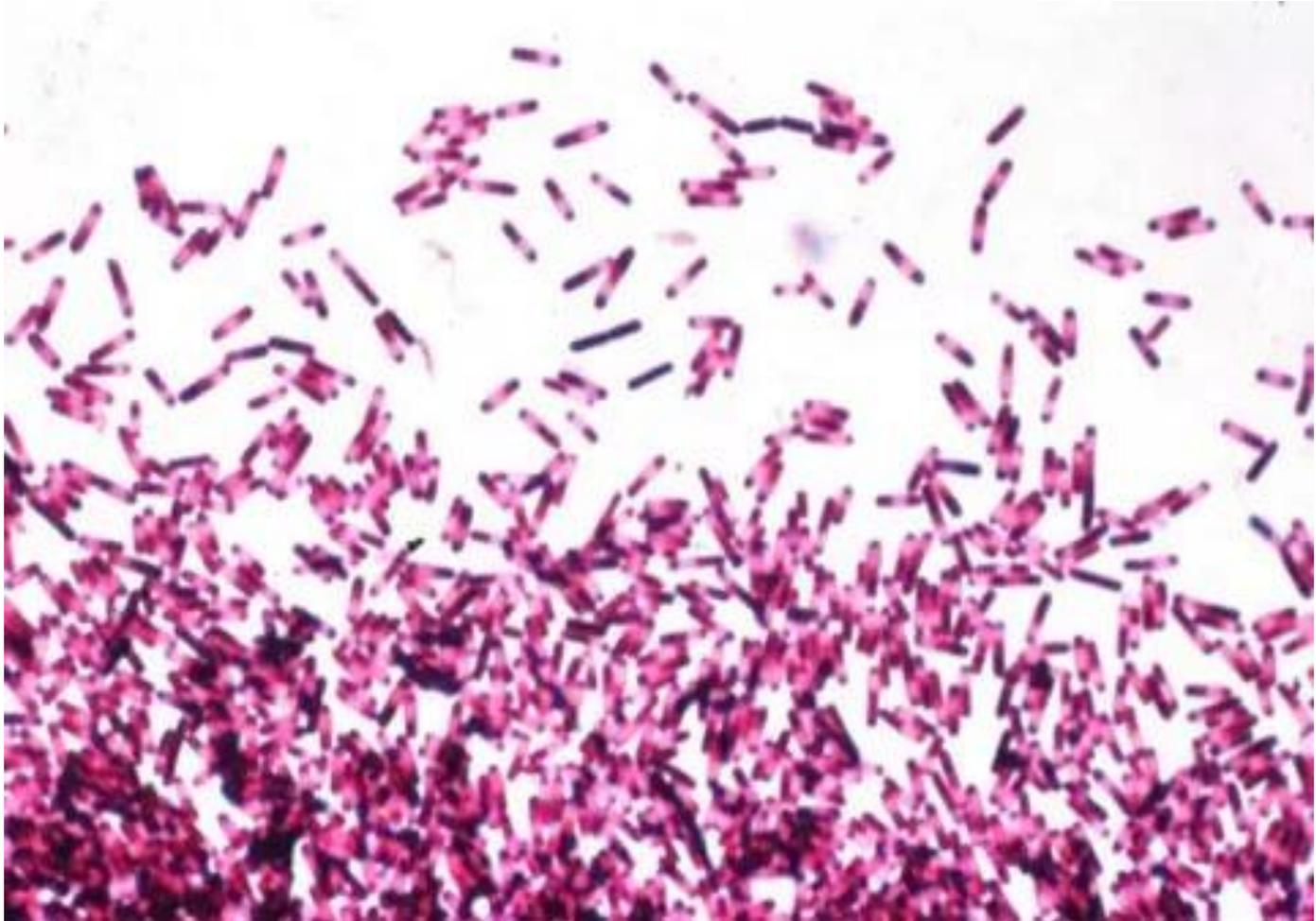
Лабораторная диагностика.

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

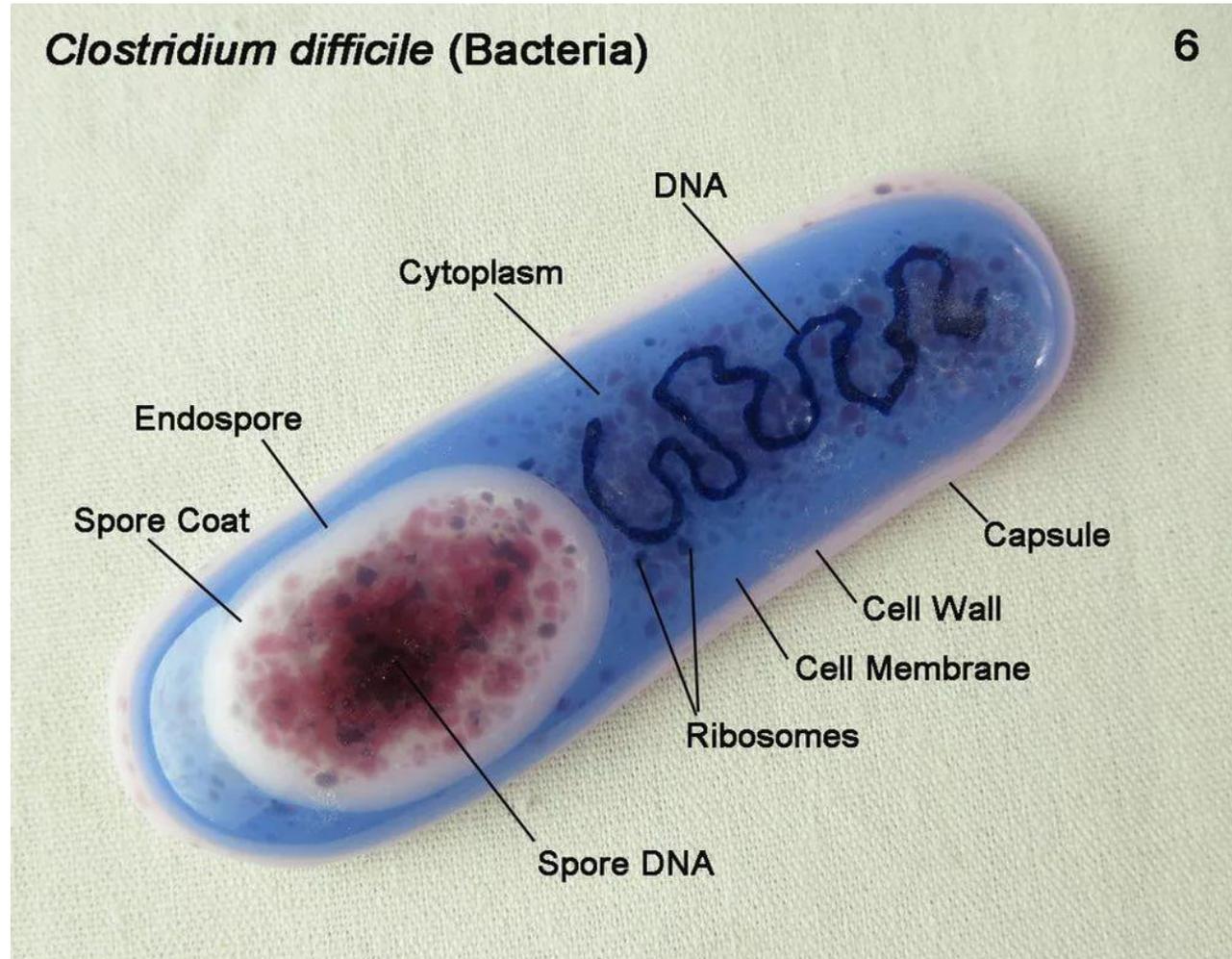
Clostridium difficile.



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 NAP1/B1/027**-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.

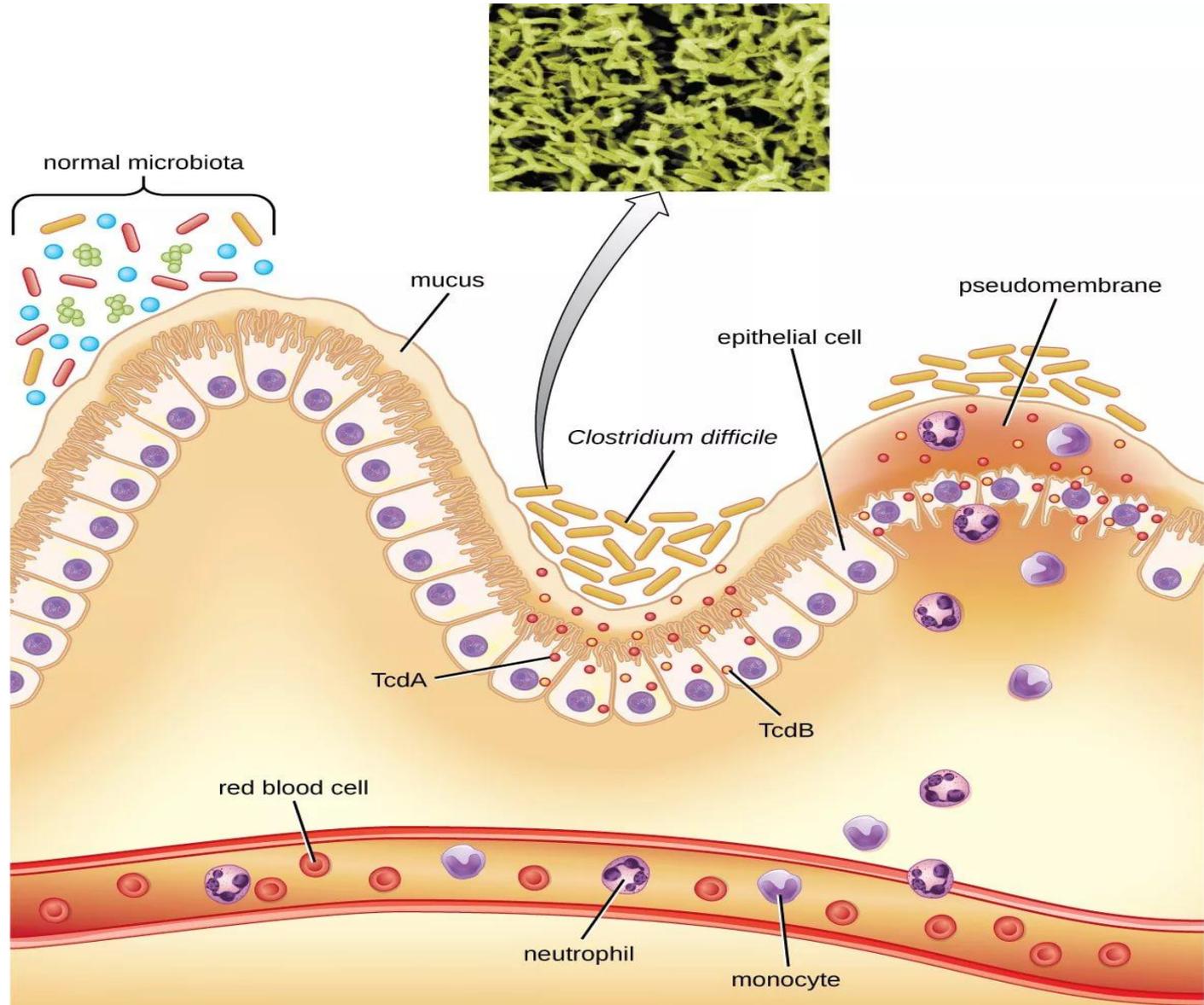
Clostridium difficile. Патогенез.

- 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 (H₂-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.

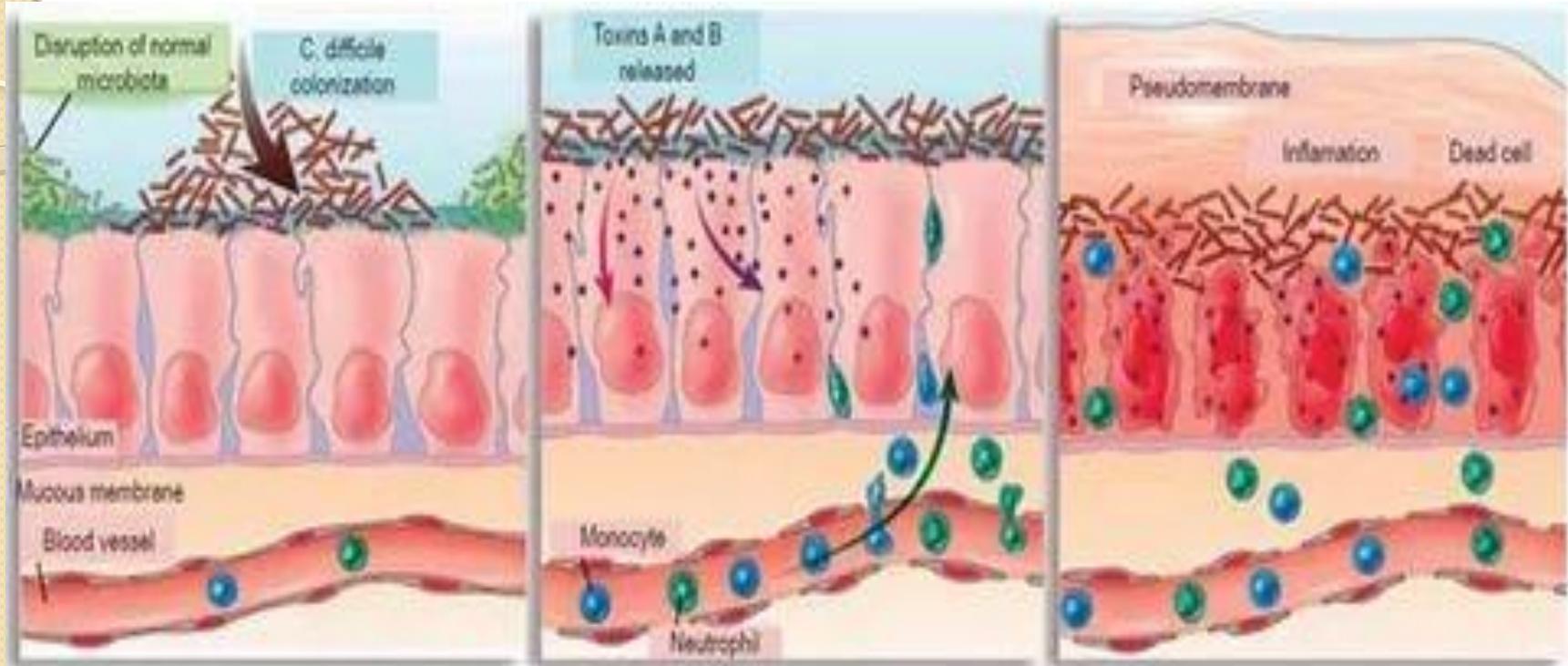


Figure 1. Pathogenesis of *C. difficile* infections. Taken and modified from Reference 2.

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)

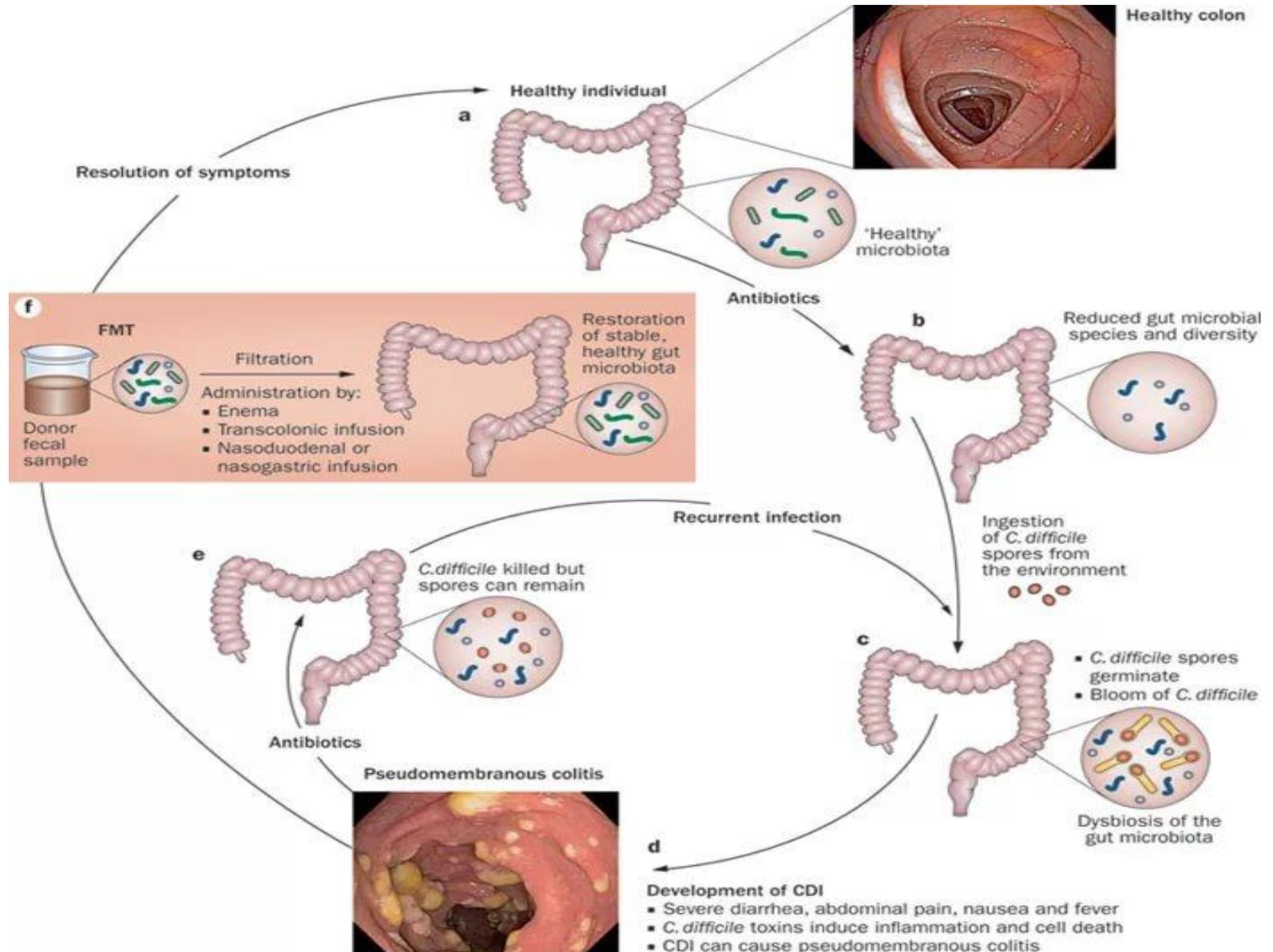
Псевдомембранозный колит

- 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 38-40⁰С.
- 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 α -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°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.

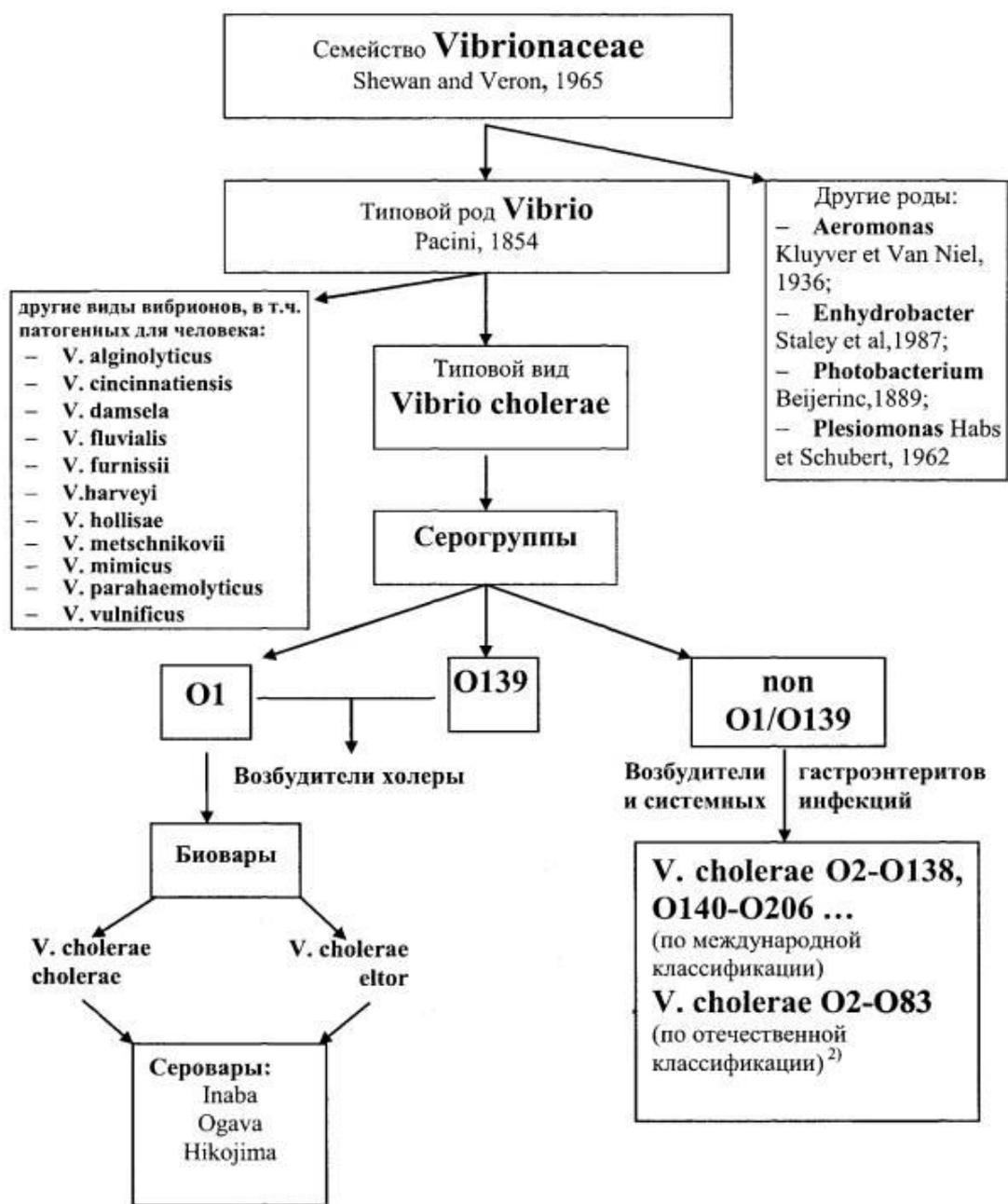
- Семейство *Vibrionaceae*
- Род *Vibrio*

Негалофильные вибрионы:

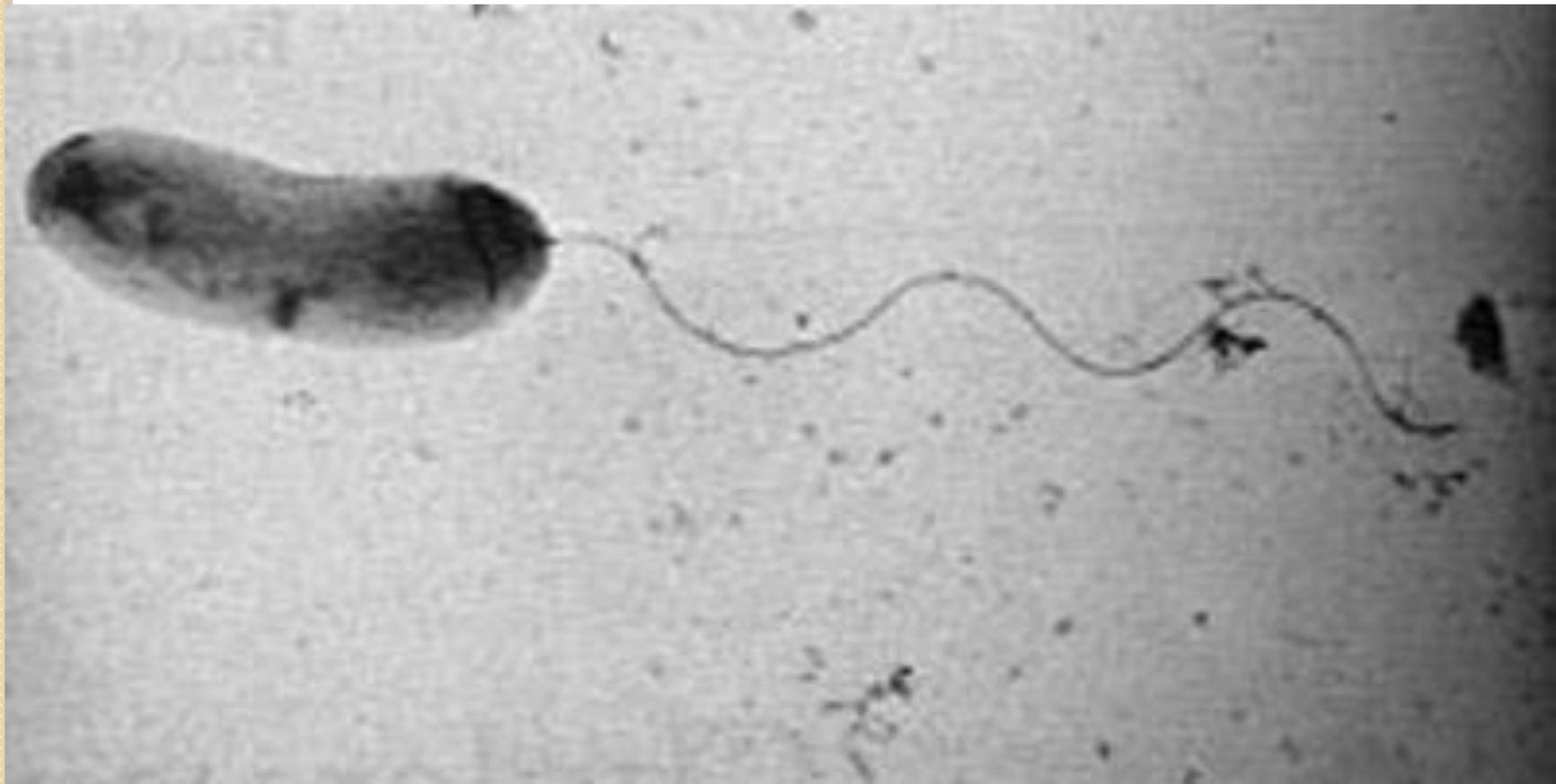
- *Vibrio cholerae* (Холерный вибрион)

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 О-антигену делятся на серогруппы.
- Возбудители холеры относятся к **серогруппе O1 и O139** – носители умеренного бактериофага.
- Н-антиген общий для всех холерных вибрионов.

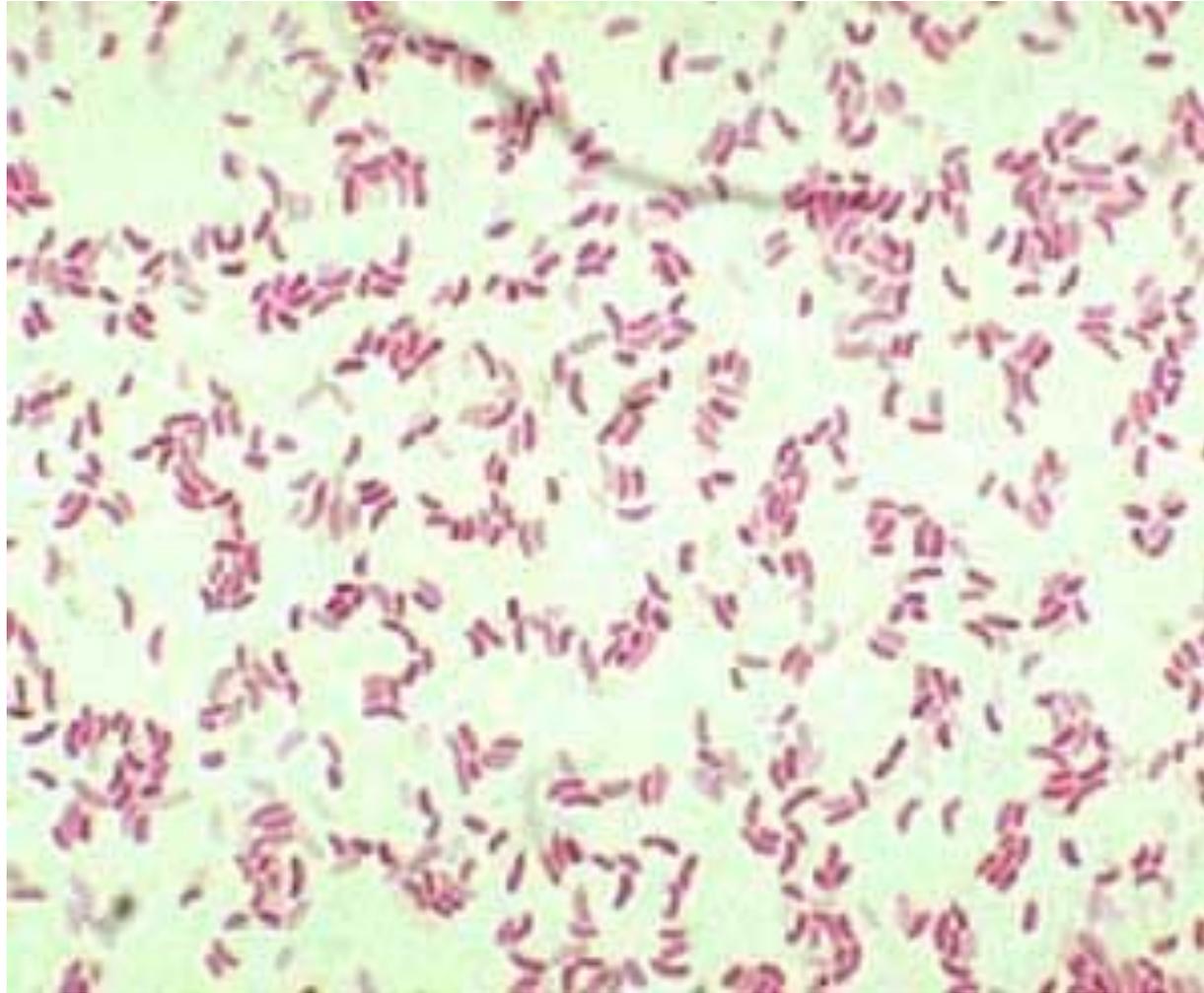
Vibrio cholerae



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

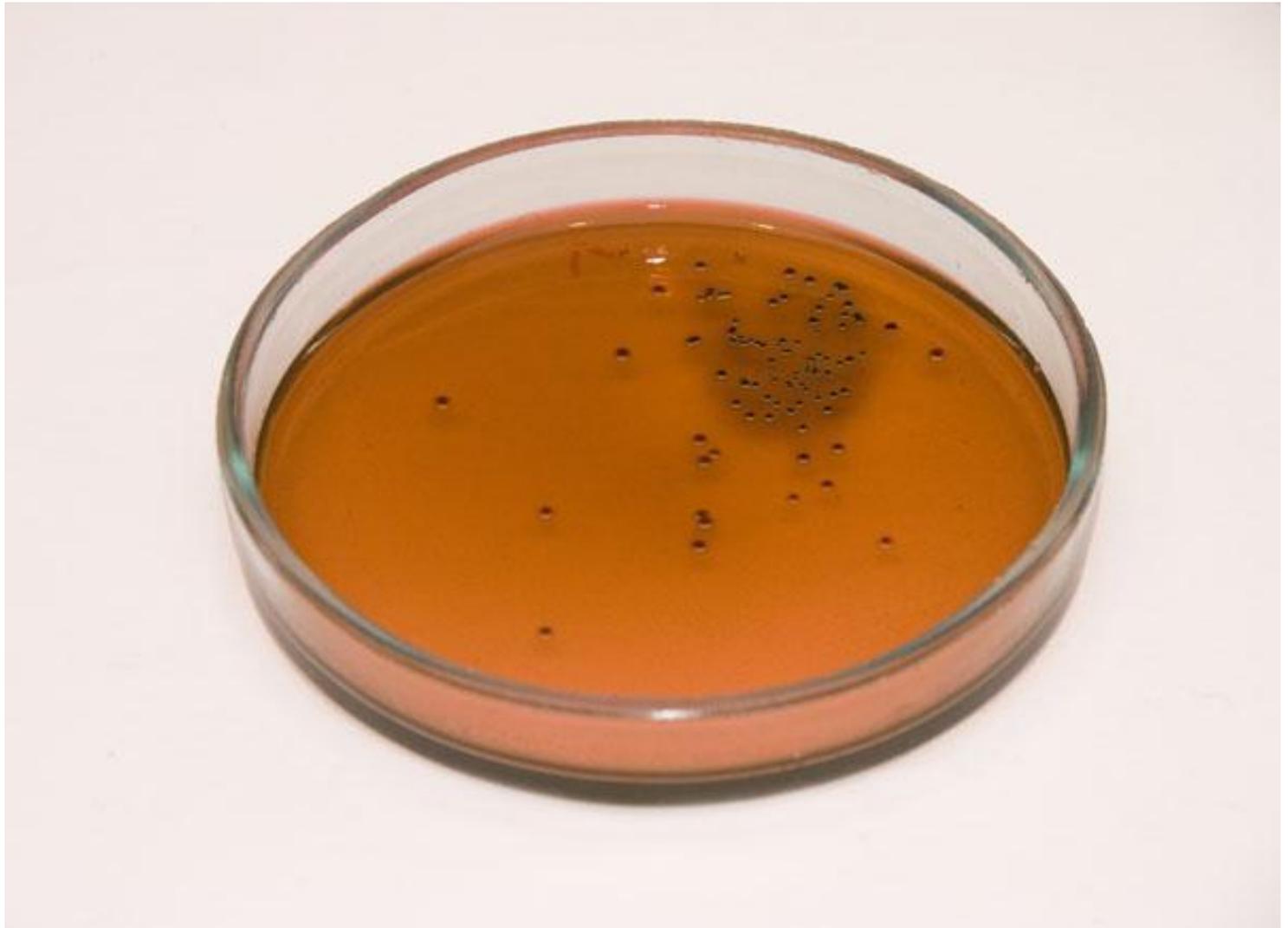
Плотные питательные среды для выделения холерных вибрионов:

- 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.

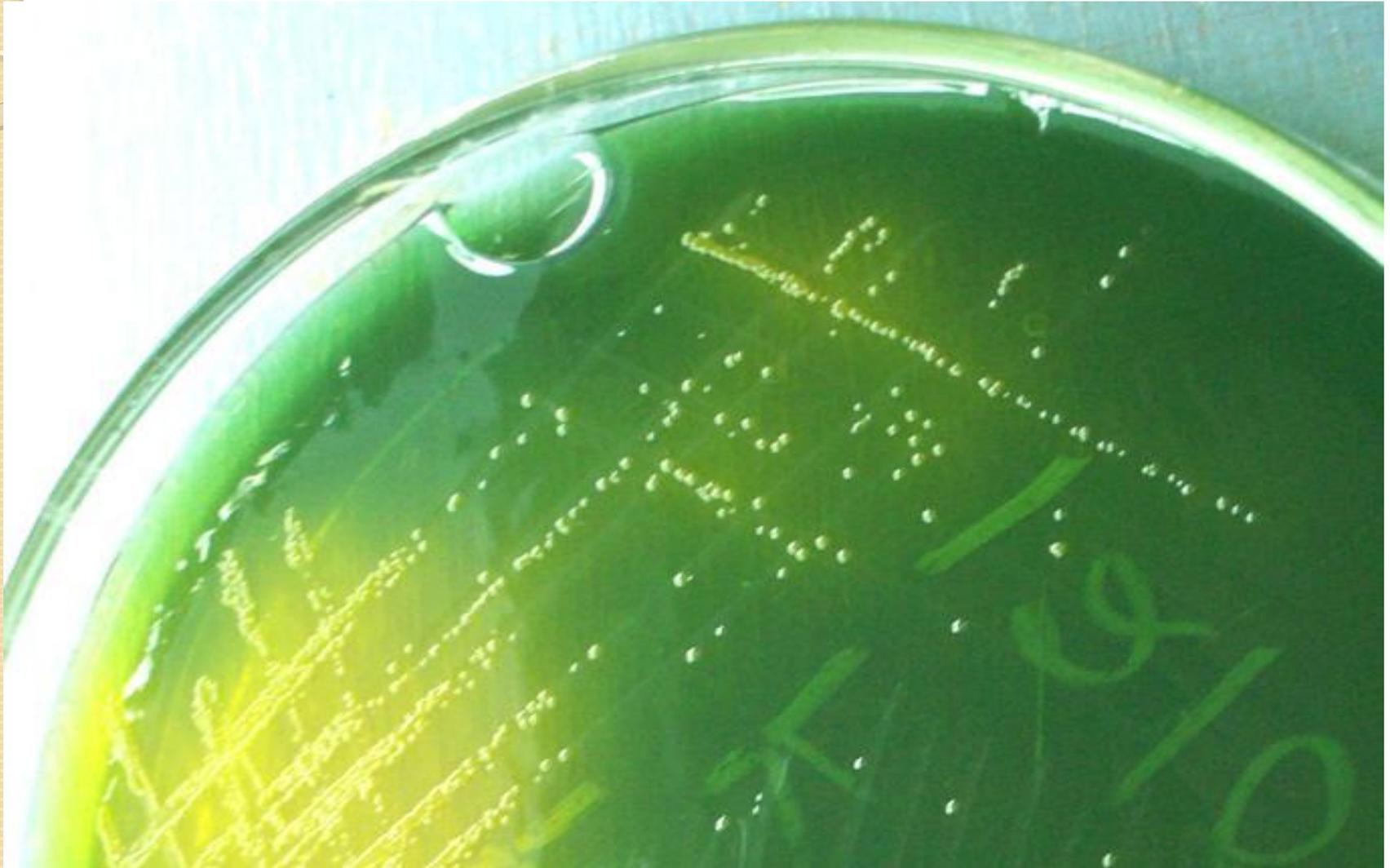
Рост холерного вибриона на щелочном агаре с теллуритом калия



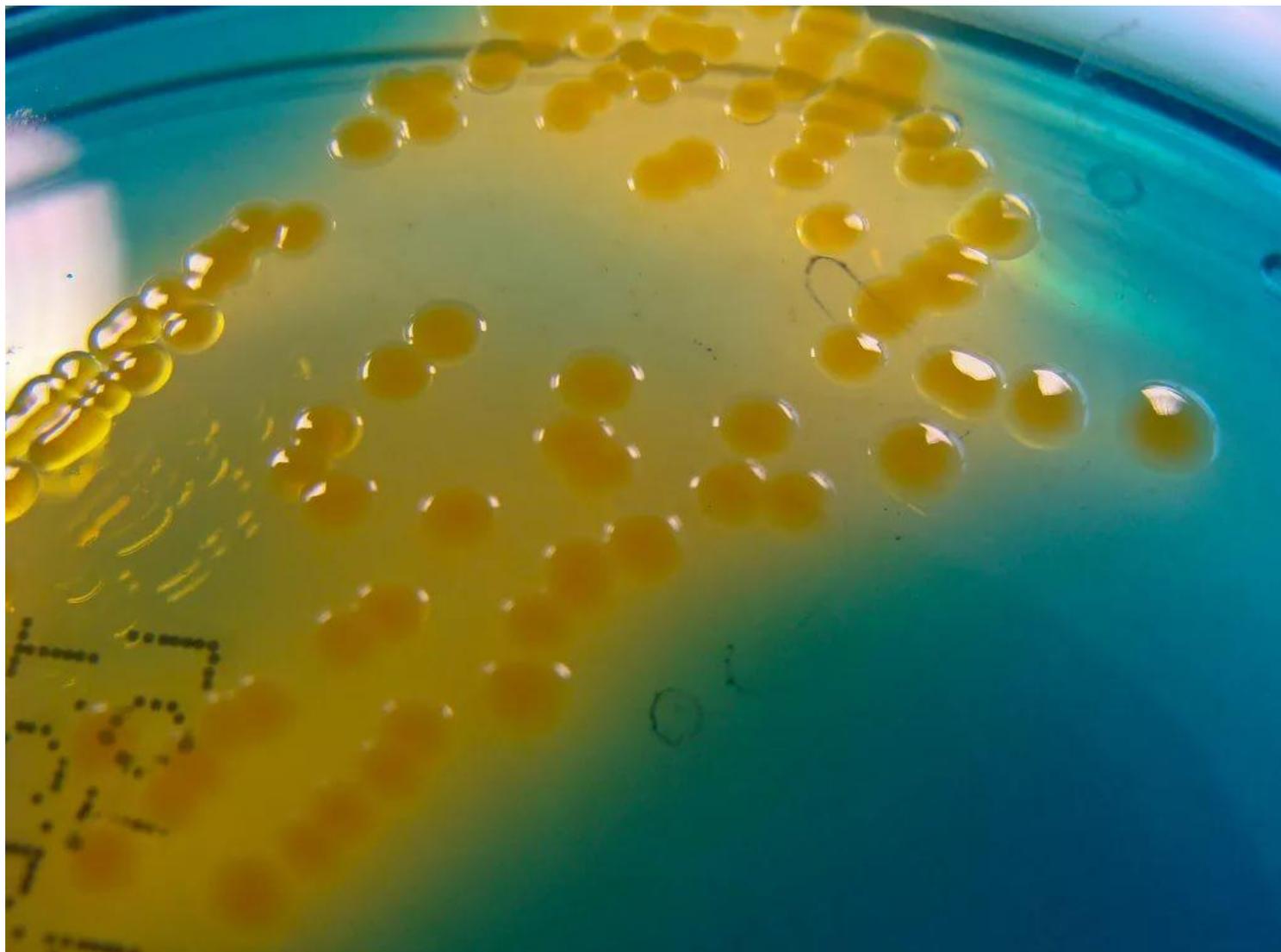
Культуральные свойства

- 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.

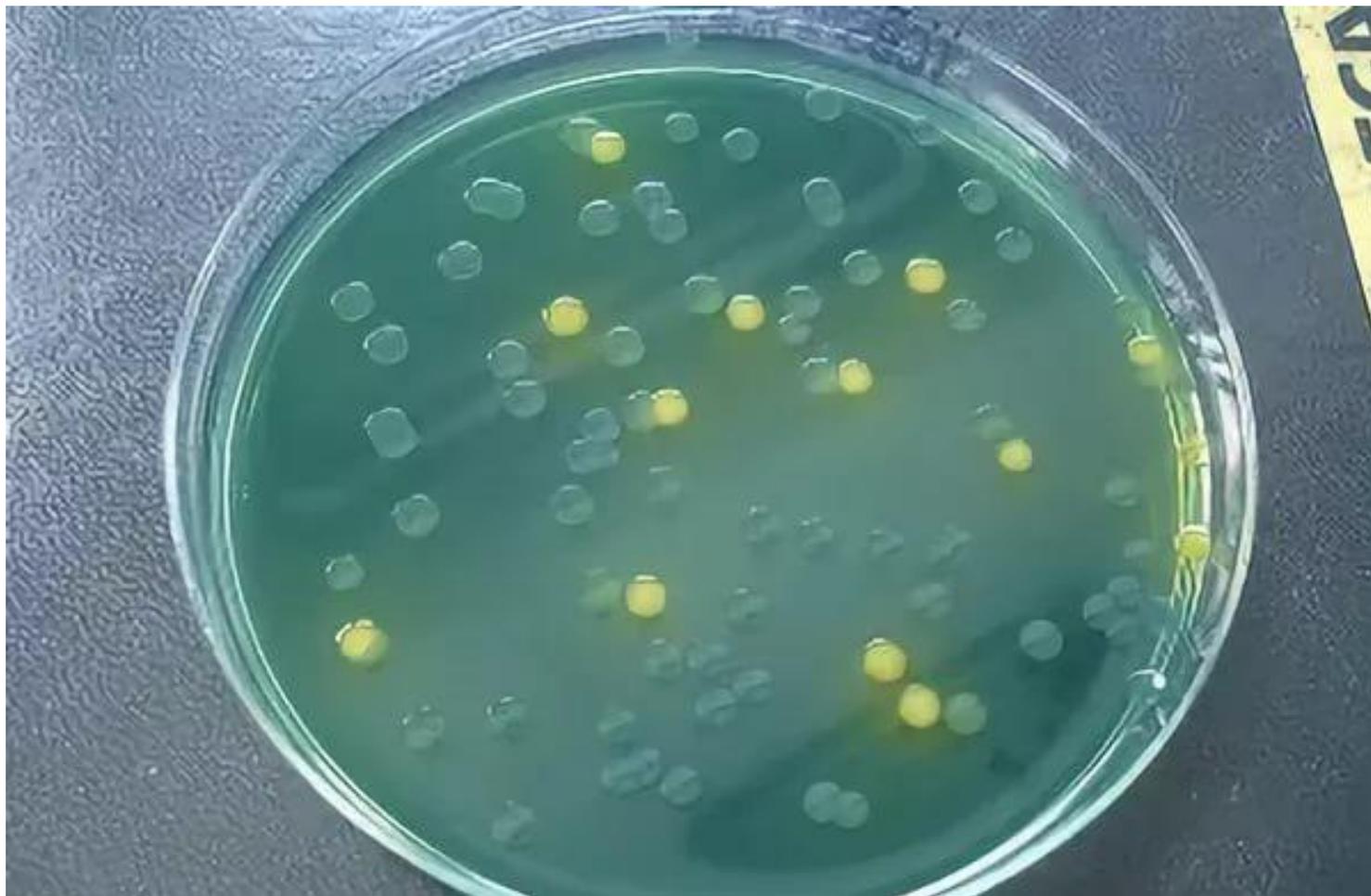
Рост холерного вибриона на TCBS-агаре.



Рост холерного вибриона на TCBS- агаре.



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



Основные питательные среды

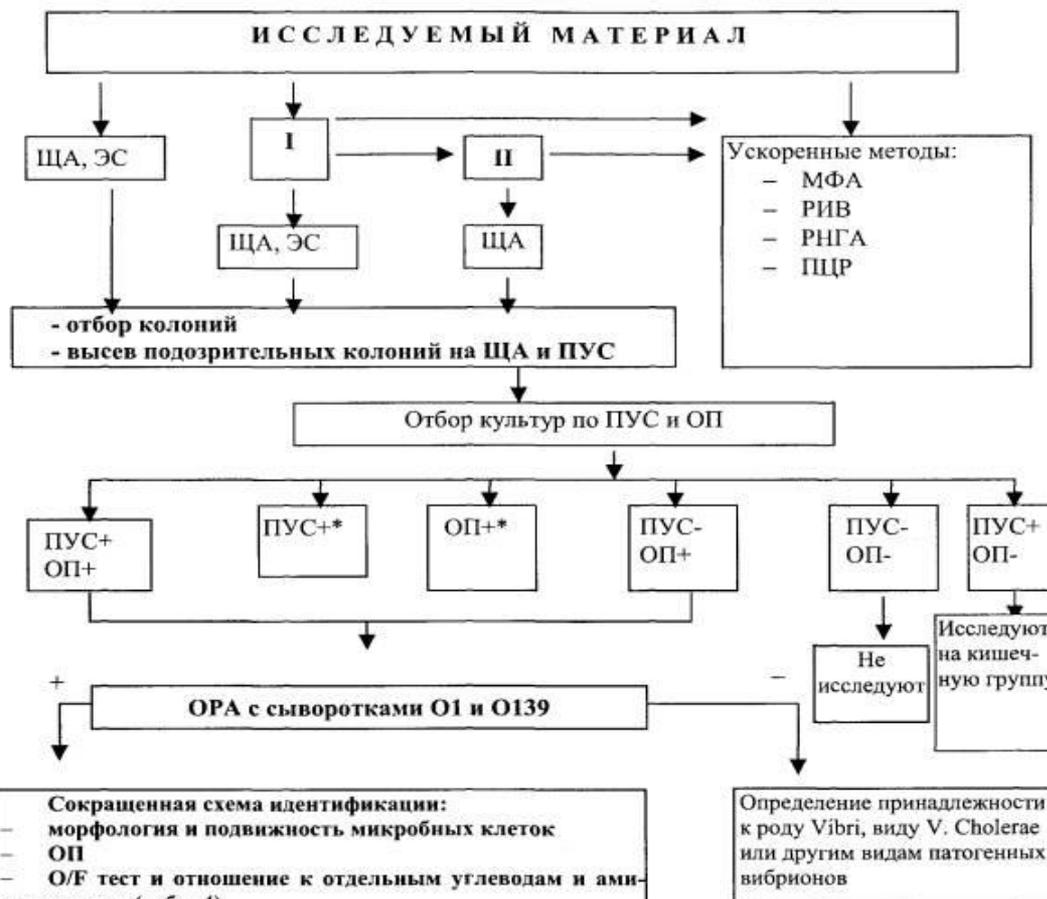
Питательные среды для идентификации
вибрионов:

- 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
- О/Ф 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 – полууглеводная среда; ОП – оксидазная проба; ОРА – ориентировочная реакция агглютинации; РА – развернутая реакция агглютинации; МФА – метод флуоресцирующих антител; РИВ – реакция иммобилизации вибрионов; РНГА – реакция не-прямой 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!

