

Холера Эшерихиозы  
Дизентерия Листерииоз

**КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ И  
ВИРУСОЛОГИИ РНИМУ им.Н.И.ПИРОГОВА**

Холера

**Cholera**

Это острая антропонозная  
кишечная инфекция,

которая характеризуется

- водной диареей (**watery diarrhea**)
- нарушением водно-солевого обмена
- обезвоживанием (**dehydration**),
- что проявляется в форме энтерита или гастроэнтерита и нарушения сердечно-сосудистой системы

Холера отнесена к группе особо опасных карантинных заболеваний

## Исторический очерк

- холера известна с древних времен, первые упоминания в санскритских ведах **-500** лет до н.э.
- До **XIX** века холера встречалась только в Индии, в долинах рек Ганга и Брахмапутры, где образовались эндемические очаги.

## Исторический очерк

- В начале **XIX** века холера заносится в Европу, В Россию – через Астрахань и Оренбург. Впервые вибрион описал Ф.Пачини (Флоренция).

Этиологическую роль вибриона доказал Р.Кох (**1883г.**) – он выделил чистую культуру вибриона в Египте и позже – в Индии.

В **1937-1938** г.г. Появился новый эндемик в Индонезии – на острове Сулавеси

## Исторический очерк (продолжение)

Возбудитель отличался от классического варианта, ранее этот вибрион был описан на карантинной станции Эль-Тор в Египте.

С **1961** года началась **7-я** пандемия холеры, обусловленная именно этим вибрионом, получившим название Эль-Тор. К началу **XXI** века пандемия охватила около **100** стран мира.

В последующие годы регистрировали случаи холеры (вариант Эль-Тор) в России (**Астрахань**) и сопредельных государствах - на Украине (**Одесса, Керчь**), в **Казахстане, Узбекистане**



# Этиология

Возбудитель холеры - **Vibrio cholerae**

представлен двумя биологическими вариантами:

**Vibrio cholerae**, биовар классический

**Vibrio cholerae**, биовар **El-Tor**.

Это Грам - палочки, аэробы, имеют жгутики



Отличия биовара Эль-Тор  
от классического биовара **Vibrio cholerae**

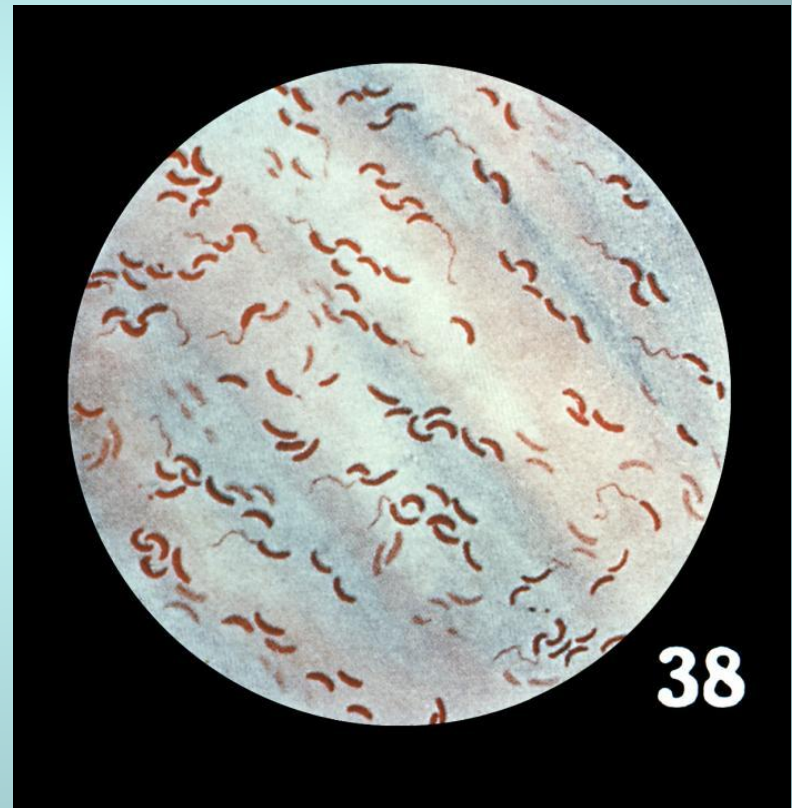
Эль-Тор:

- устойчив во внешней среде и быстро распространяется по регионам мира
- вызывает бессимптомную инфекцию
- лизис эритроцитов животных в течение **48ч**

# Общие свойства биоваров возбудителя холеры

## Морфология:

- изогнутые палочки,
- Грам-,
- в капле жидкости-  
выстраиваются как  
«стая рыб».

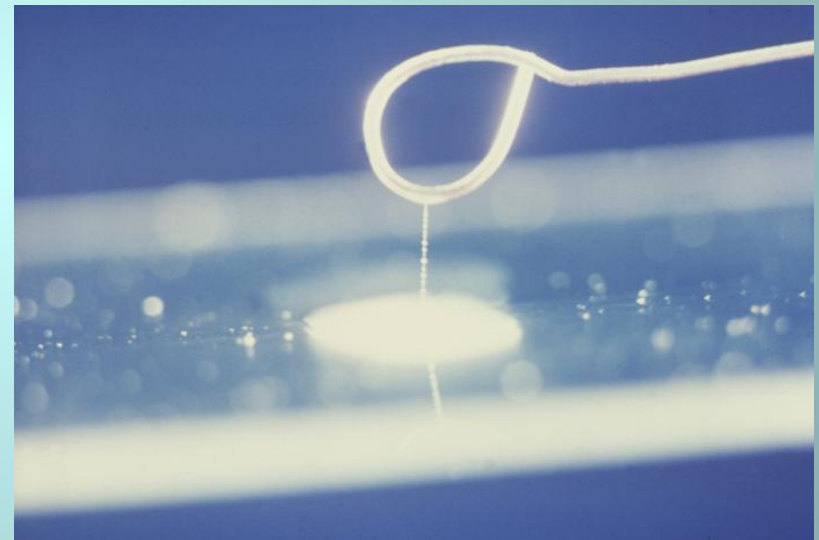




## Общие свойства биоваров возбудителя холеры

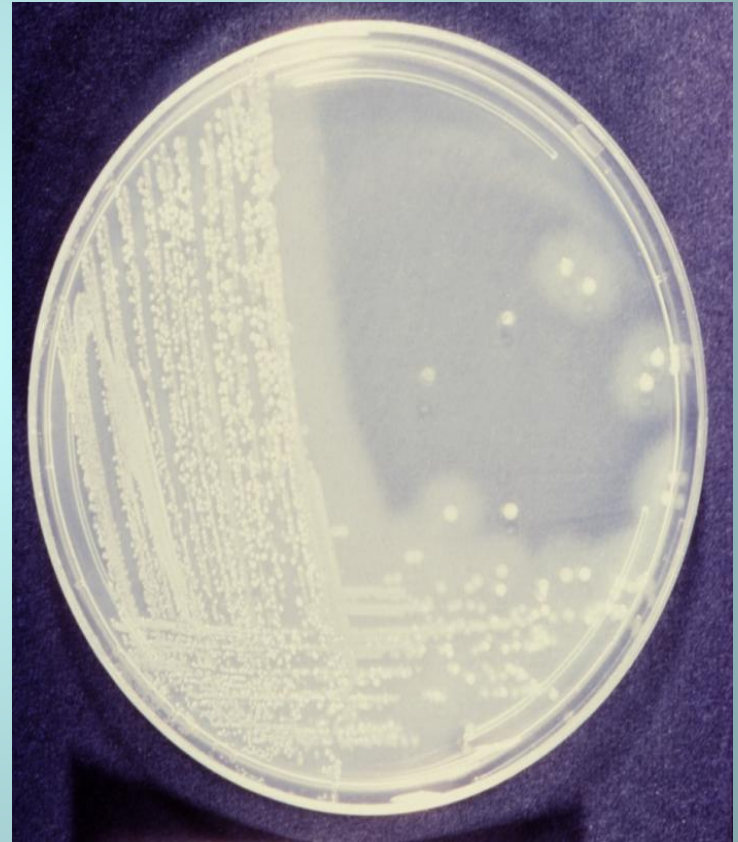
- *Культуральные свойства –*

образование  
пленки на жидких  
средах

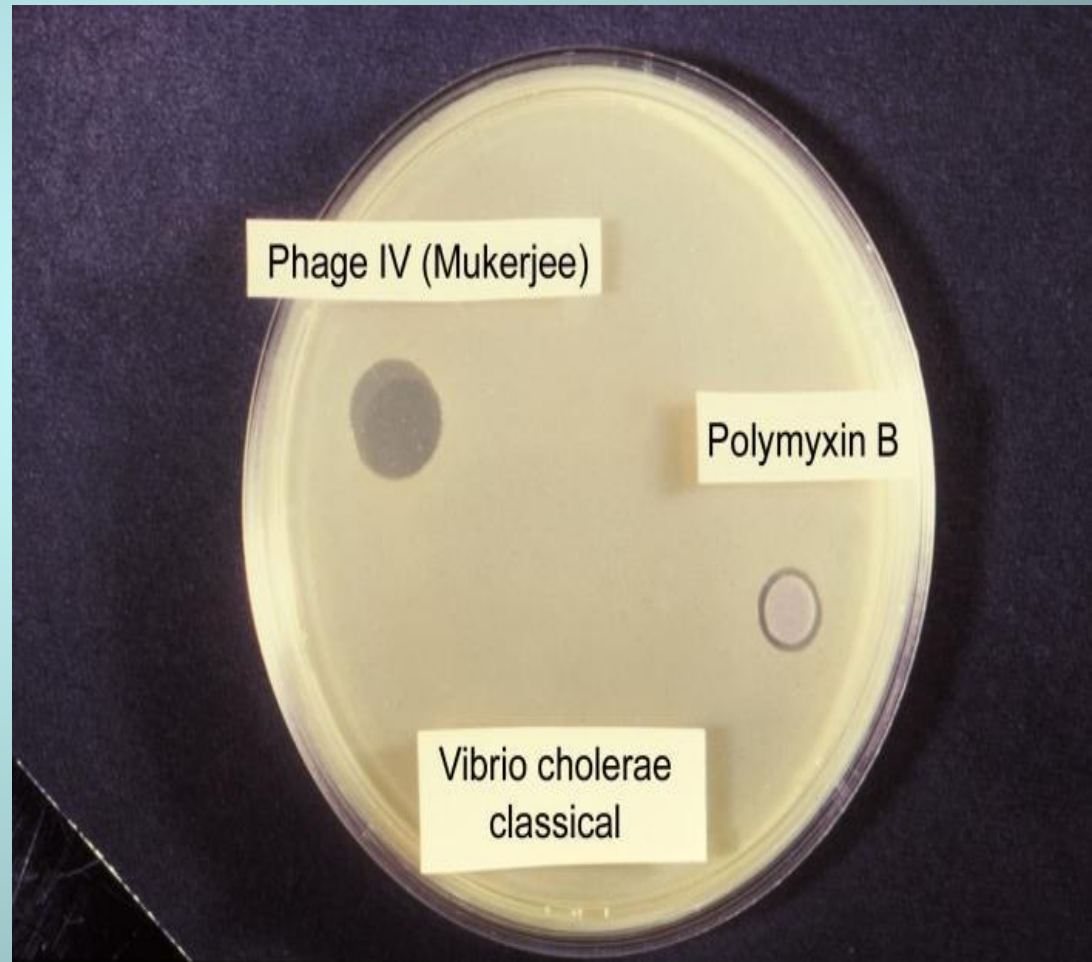


# Общие свойства биоваров возбудителя холеры

- **Культуральные свойства** – **рост** на среде с желатином
- **Биохимическое типирование**:  
разлагают крахмал,
- разжижают желатину,
- **Не** разлагают арабинозу **ara-**

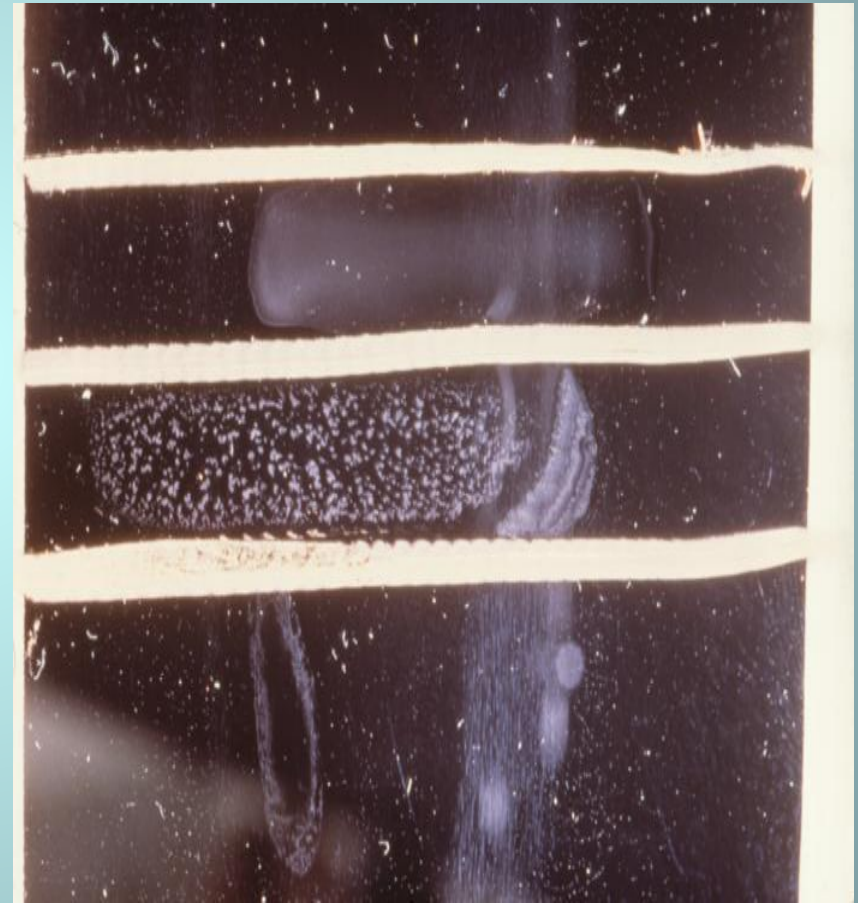


Общие свойства биоваров  
возбудителя холеры (фаготипирование, тест на чувствительность  
к антибиотикам



# Общие свойства биоваров возбудителя холеры

- **Серологическое типирование:**  
серогруппа **01**, которая включает
- **3** серотипа-Инаба, Огава, Гикошима.  
Исключение: вибрион **0:139** Бенгал, способный продуцировать токсин



Реакция агглютинации на стекле



# Бактериологическое исследование

- Питательные среды:
- Жидкая 1% щелочная пептонная вода
- Плотные среды: щелочной агар, **TCBS** (желтые колонии на зеленом фоне)
- Для сокращения сроков культивирования получают “пленку” из вибрионов в жидкой питательной среде, а затем делают посев на плотные среды



Колонии **Vibrio cholerae** (среда **TCBS**)



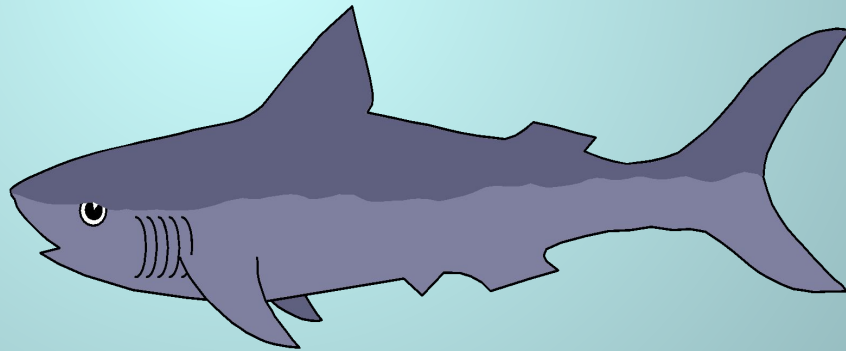
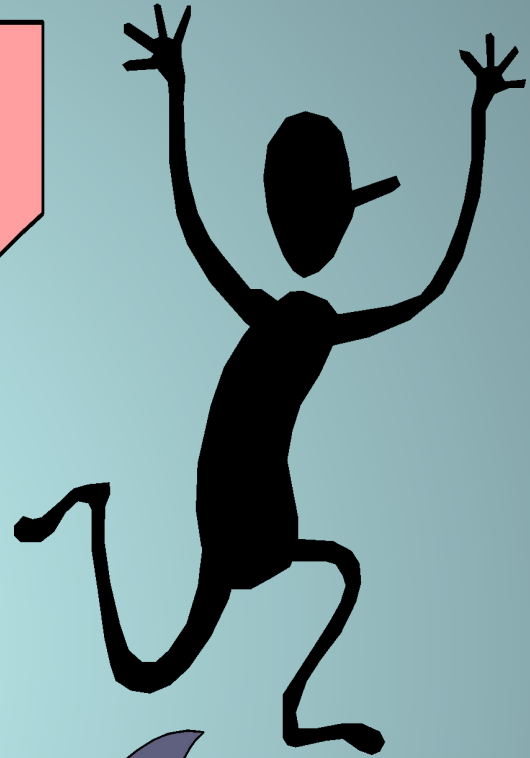
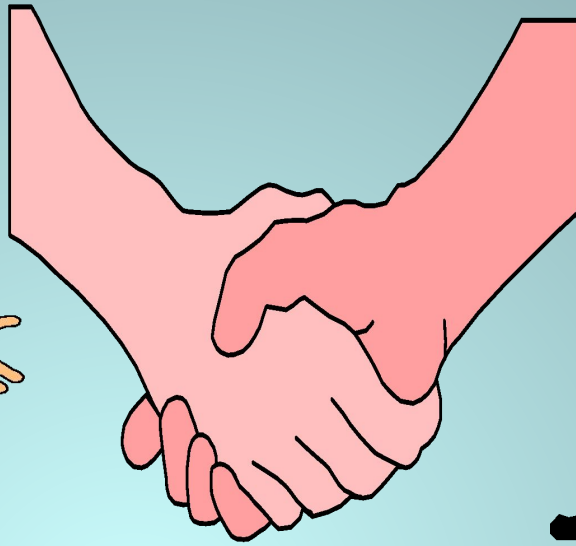
# Эпидемиология

## Источник инфекции -

- **больные типичной формой холеры,**
- **больные субклинической формой (выделители)**
- **находящиеся в инкубационном периоде**
- **реконвалесценты (продолжающие выделять вибрионы в течение **2-4** нед.)**
- **здоровые (транзиторные) носители, периодически выделяющие (**9-14** дней) вибрионы**

## Основные пути передачи инфекции

- **Водный** (Эль-Тор сохраняется у обитателей водоемов, включая рыбы, крабы, креветки, моллюски)
- **Пищевой** (сохраняется в холодильнике на сыром мясе, рыбе, овощах и фруктах),
- **Контактный**
- **Трансмиссивный** (может также переноситься с мухами)



## Свойства **Vibrio cholerae**

- сохраняются при комнатной температуре и в холодильнике
- погибают при кипячении через **1** мин или при нагревании до **56** С через **30** мин
- чувствительны к действию желудочного сока, УФ
- чувствительны к хлорсодержащим препаратам, сулеме



# Патогенный микроорганизм **V.cholerae**



# ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ

## Факторы адгезии и колонизации

- **Протеазы** - ферменты, осуществляют гидролиз слизи для подхода вибриона к поверхности энтероцитов
- **Токсин-корегулирующие пилы (Тср А)**; их адгезивный эффект служит механизмом запуска продукции токсина (активность пилей и синтез холерогена кодирует одна и та же система регуляторных генов)
- **Адгезины** - белки на концах пилей (способствуют адгезии и колонизации),

# Факторы патогенности

- **Фактор проницаемости -нейраминидаза,** действует в комплексе с толерогеном и способствует проникновению токсина в клетку
- **Экзотоксин (толероген, белковый токсин)** -действует как энтеротоксин и вызывает основные проявления холеры -обезвоживание и нарушение водно-солевого обмена,
- **Эндотоксин (липополисахарид, ЛПС)** вызывает интоксикацию, поликлональную пролиферацию В клеток

# Экзотоксин холерного вибриона

Структура и взаимодействие с клеткой

Токсин состоит из 2-х субъединиц А и В.

**А-** субъединица (**2** компонента **А1** и **А2**),  
ответственна за токсические свойства,

**В-** субъединица (**5** компонентов),  
ответственна за связывание на  
энтероцитах и иммуногенность.

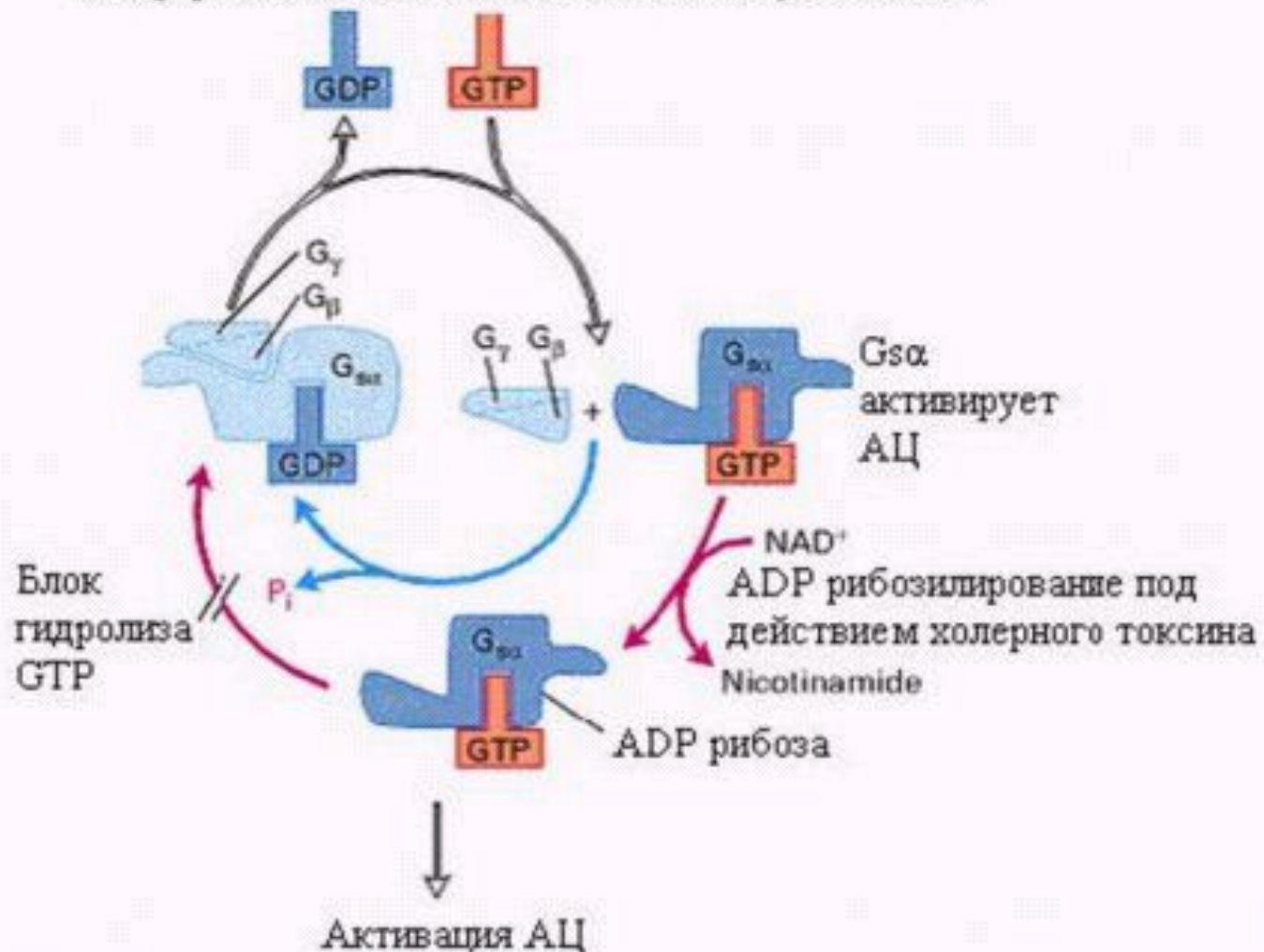
При взаимодействии с клеткой В-субъединица  
связывается с **GM1** -  
ганглиозидными рецепторами энтероцитов и  
встраивается в клеточную мембрану, при этом  
дисульфидные мостики разрываются



# Холерный токсин

Холерный токсин является АДФ-рибозил-трансферазой. В результате действия этого токсина происходит АДФ-рибозилирование Gs- $\alpha$ -субъединицы G-бека, что приводит к подавлению ее GTP-азной активности и т.о. к постоянной активации аденилатциклазы.

Связывание гормона с рецептором вызывает конформационное изменение и обмен нуклеотидов



Благодарность - *Vibrio cholerae*



# МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ХОЛЕРНОГО ТОКСИНА

Токсин не вызывает повреждения клеток,  
его механизм действия связан с  
повышением концентрации цАМФ  
путем воздействия на встроенную в  
клеточную мембрану  
аденилатциклазную систему

## Функция аденилатциклазной системы - регуляция потребления и выхода жидкости через мембрану

- Система состоит из G-белка и циклазы.
- **G-белок** - способен выполнять функцию **GTPазы** (расщеплять **GTP** до **GDP**)
- **В норме возможны 2 состояния G-белка**
  - 1. G+GTP** с усилением активности циклазы и повышением синтеза цАМФ, что приводит к выходу жидкости из энтероцитов
  - 2. G+ GDP** (результат расщепления **GTP** до **GDP**), что приводит к неактивной форме циклазы, снижению синтеза цАМФ и потреблению растворимых веществ

## Воздействия холерного токсина на **Gs $\alpha$** -субъединицу **G**-белка (механизм диареи)

- Токсин обладает активностью **ADP**-рибозил-трансферазы и катализирует перенос **ADP**-рибозил группы с фермента **NAD** на **GTP**-связывающий белок (**Gs $\alpha$** -субъединицу **G**-белка - мишень ); В результате -
- происходит **ADP**-рибозилирование **Gs $\alpha$**  и отмена фазы **G+GDP**
- комплекс **G**-белок+**GTP** приводит к постоянной активации аденилатциклазы и повышению внутриклеточного синтеза цАМФ.
- Жидкость выходит в просвет кишечника

# патогенез холеры (4 звена)

- **1** - вибрион проникает через рот, поступает в желудок, где может погибнуть от кислоты желудочного сока или при сниженной кислотности следует в тонкую кишку;
- **2** - в тонкой кишке высокое содержание пептона и благоприятная щелочная среда; здесь происходит интенсивное размножение вибрионов, которые располагаются на поверхности слизистой оболочки и в просвете тонкой кишки.

## ПАТОГЕНЕЗ ХОЛЕРЫ (продолжение)

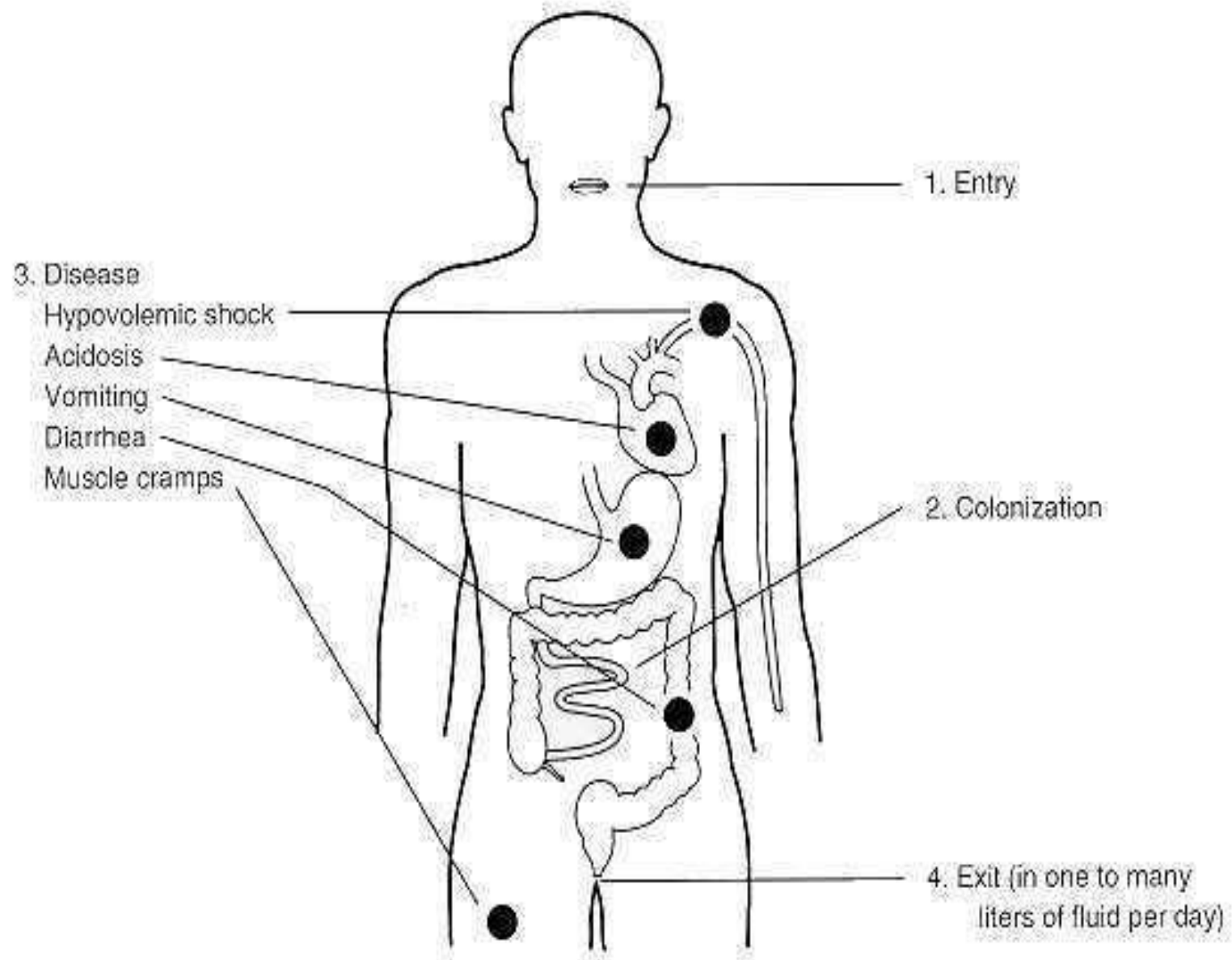
- **3**-размножение вибрионов приводит к накоплению эндотоксина, а при адгезии через **TсР** (токсин-корегулирующие пили) происходит запуск продукции экзотоксина.
- Экзотоксин проникает в энтероциты, активирует аденилатциклазную систему путем воздействия на **G**-белок, что приводит к повышению концентрации цАМФ и усилению секреции воды и электролитов.



# ПАТОГЕНЕЗ ХОЛЕРЫ

## (продолжение)

- **4-** происходит быстрая утрата крупных объемов жидкости и развитие диареи (электролитной).
- Степень и скорость обезвоживания и деминерализации определяют тяжесть течения холеры.
- Возможен шок как результат снижения объема циркулирующей крови (**hypovolemia**)



# Патогенез холеры

Утрата воды и электролитов приводит к обезвоживанию организма:

- Падает артериальное давление
- Нарушается микроциркуляция
- Развивается гипоксия тканей
- Метаболический ацидоз
- Гипокалиемия
- Острая почечная недостаточность
- Сердечная недостаточность
- Возможен гиповолемический шок



# Принципы лабораторной диагностики

## Методы:

1. Бактериологический – основной метод
2. Серологический – определение антител к холерогену, агглютинины и вибриоцины в сыворотке – РПГА, ИФА
3. Молекулярно-генетический (ПЦР для определения генов, ответственных за активность факторов вирулентности)
4. Ускоренные методы диагностики (прямая иммунофлюоресценция, антитела анти-О к **1** Ag)

# Подходы к лечению

- регидратация (препараты: трисоль, квартасоль; оралит ( рекомендован ВОЗ)),
- купирование интоксикации (нитрофураны, фторхинолоны),
- связывание и выведение токсина (ваулен, энтеродез),
- применение цитопротекторов (смекта),
- восстановление нормальной микрофлоры



# ПОДХОДЫ К ПРОФИЛАКТИКЕ

- Полученная вакцина первого поколения (живая аттенуированная) оказалась не вполне эффективна.
- К успеху может привести вакцина, которая способна формировать антибактериальный, антитоксический и местный иммунитет.

# Эшерихиозы

- Это заболевания, вызываемые патогенными штаммами **Escherichia coli**
- Их отличия от условно-патогенной кишечной палочки
  - в продукции факторов патогенности, ответственных за клиническую картину заболевания.
- Их сходство с условно-патогенной **E.coli**
  - по основным морфологическим, биохимическим, культуральным свойствам

# Микробиологическая идентификация **E.coli**

Возбудители эшерихиозов сохраняют классические характеристики **E.coli:**

- грамотрицательные палочки,
- образуют лактозоположительные (**Lac+**, яркокрасные с металлическим блеском) колонии на средах Эндо и Левина,
- ферментируют глюкозу (с образованием газа), лактозу, сахарозу (вариабельно), маннит

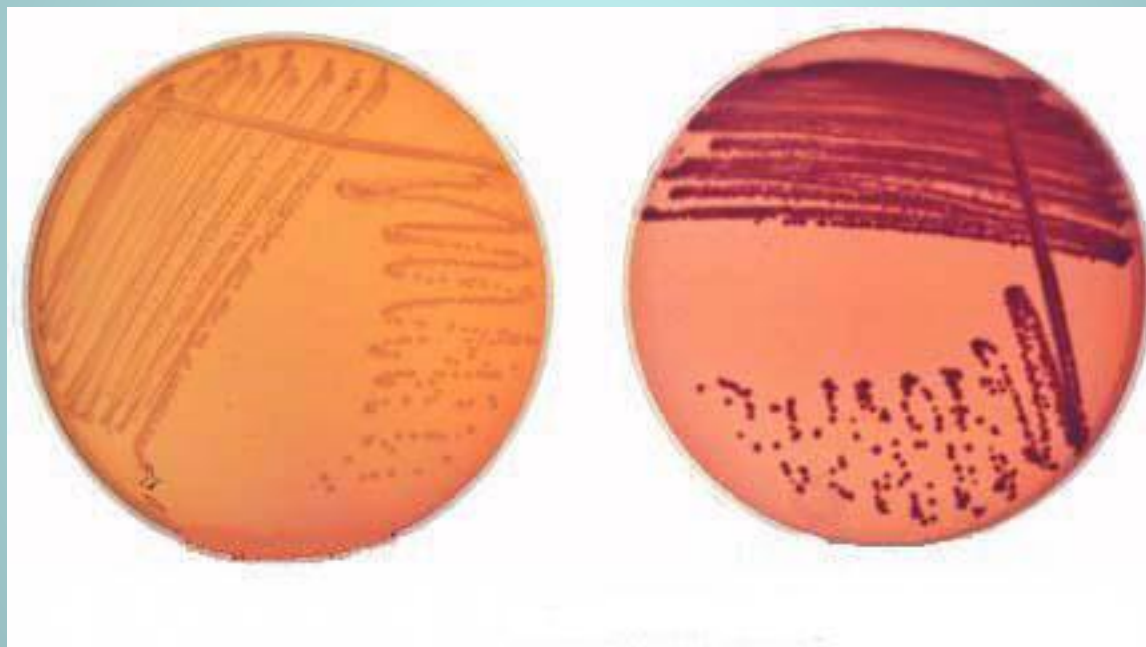
# Escherichia coli

Грам-

Lac+

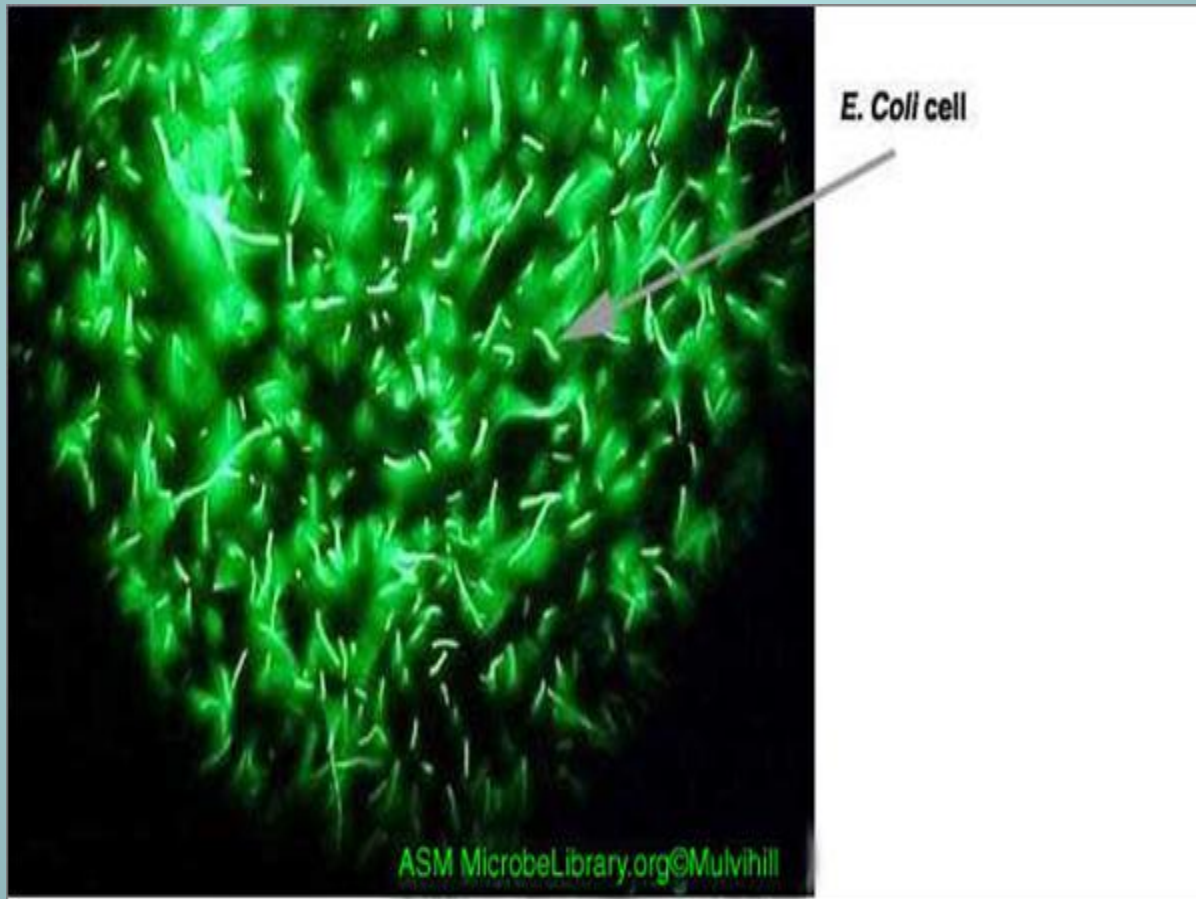


# Эшерихиозы (Lac+ колонии)





# E.Coli - иммунофлюоресценция



# Категории эшерихиозов

**1- ЕТЕС** энтеротоксигенная **E.coli**,  
штаммы O6, O7, O8, O9, O148, O158.

**Клиника -холероподобный синдром**  
(диарея путешественников),

инкуб.период - **16-72ч**, болеют взрослые и дети.

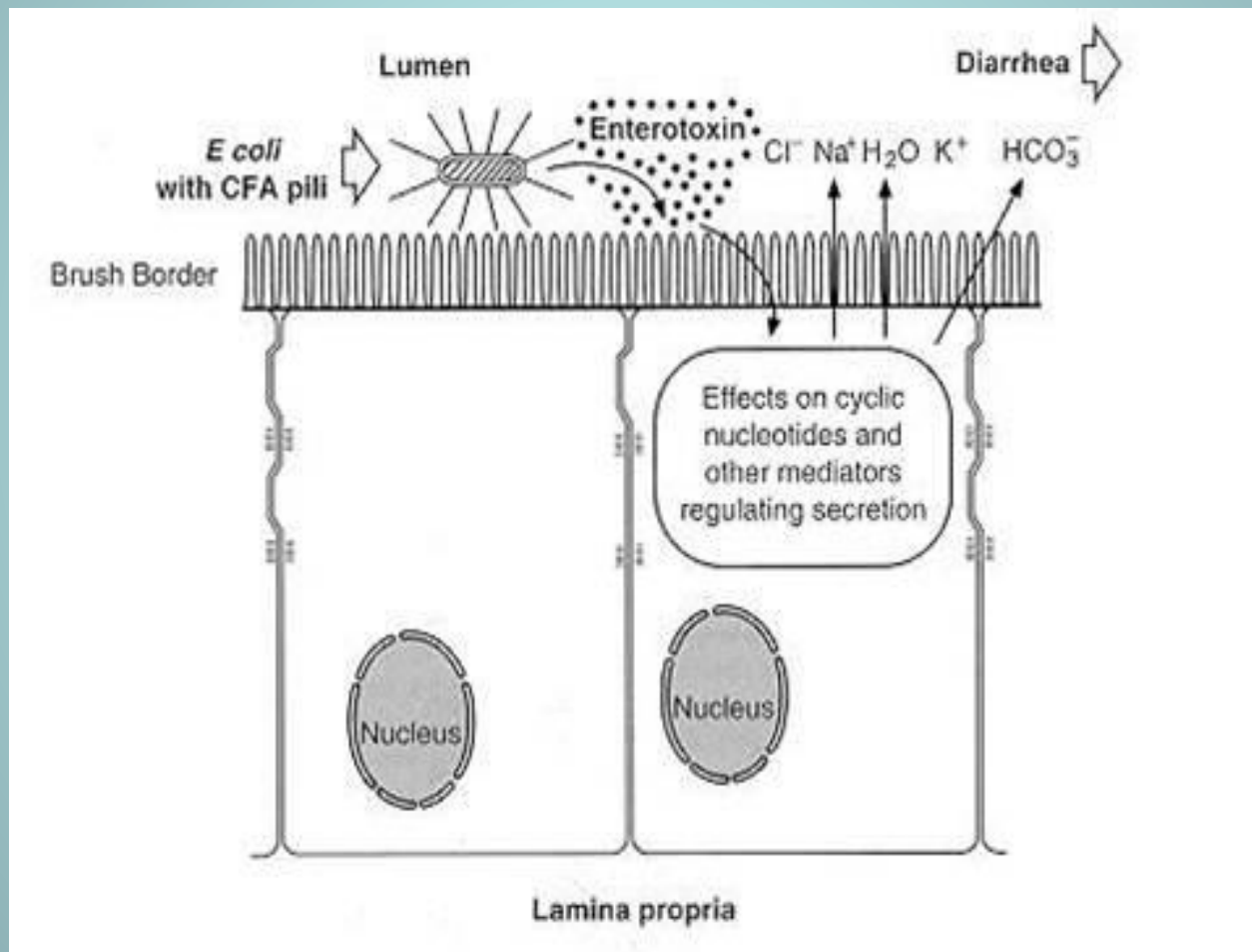
**Факторы патогенности:**

**LT** -термолабильный токсин,

**ST**-термостабильный токсин (или оба),

их синтез кодируют гены плазмид, структура **LT**  
подобна В-субъединице толерогена

# Энтеротоксигенная **E.coli**



## 2 категория эшерихиозов

- - **2-ЕРЕС** энтеропатогенная **E.coli** Открыл Эшерих, **1886**. Штаммы O26, O55, O125, O44.

**Клиника**- водная диарея, эксикоз у детей до **1** года жизни, инкуб. период **6-24**ч.

**Факторы патогенности:** связанные в узел пили, которые через сигнальную систему вызывают фосфорилирование белка **Hp-90** клеток эпителия, активацию фосфолипазы C.

Повреждающее действие связано с перестройкой цитоскелетной структуры. Энтеротоксина не выявлено.

## 3 категория эшерихиозов

- - **3- EIEC** энтероинвазивная **E.coli**  
штаммы **O124, O135, O143, O144**

**клиника**- дизентерия-подобный синдром,

локализация процесса- нижний отдел  
подвздошной кишки, толстая кишка. Чаще  
болеют дети **1,5-2** лет, подростки. Инкуб. период  
**6-48**ч.

**Факторы патогенности:** плаزمиды, подобная

плазмиде шигелл, кодирующая токсигенные, инвазивные  
свойства. **EIEC** внедряется и размножается в клетках  
слизистой оболочки кишки, вызывая ее деструкцию.



## 4 категория эшерихиозов

- 
- **4-ЕНЕС** энтерогеморрагическая **E.coli** Штамм O157:H7 госпитальный. Вспышки в домах престарелых. Инкуб. период 72-120ч.

**Клиника**- геморрагический колит, тромбоцитопеническая пурпура, диарея, гемолитический-уремический синдром.

**Факторы патогенности:** фактор адгезии - плаزمида кодирует новый тип фимбрий;  
синтез **2**-х токсинов, один из которых подобен токсину типа **1** шигелл (шигеллоподобный токсин)

## Энтерогеморрагическая **E.coli**

Обнаружена у человека и крупного рогатого скота.

- ЕНЕС может вызывать гемолитический уремический синдром и острую почечную недостаточность.
-

## **5** категория эшерихиозов

### **EAggEC** энтероагрегативная **E.coli**

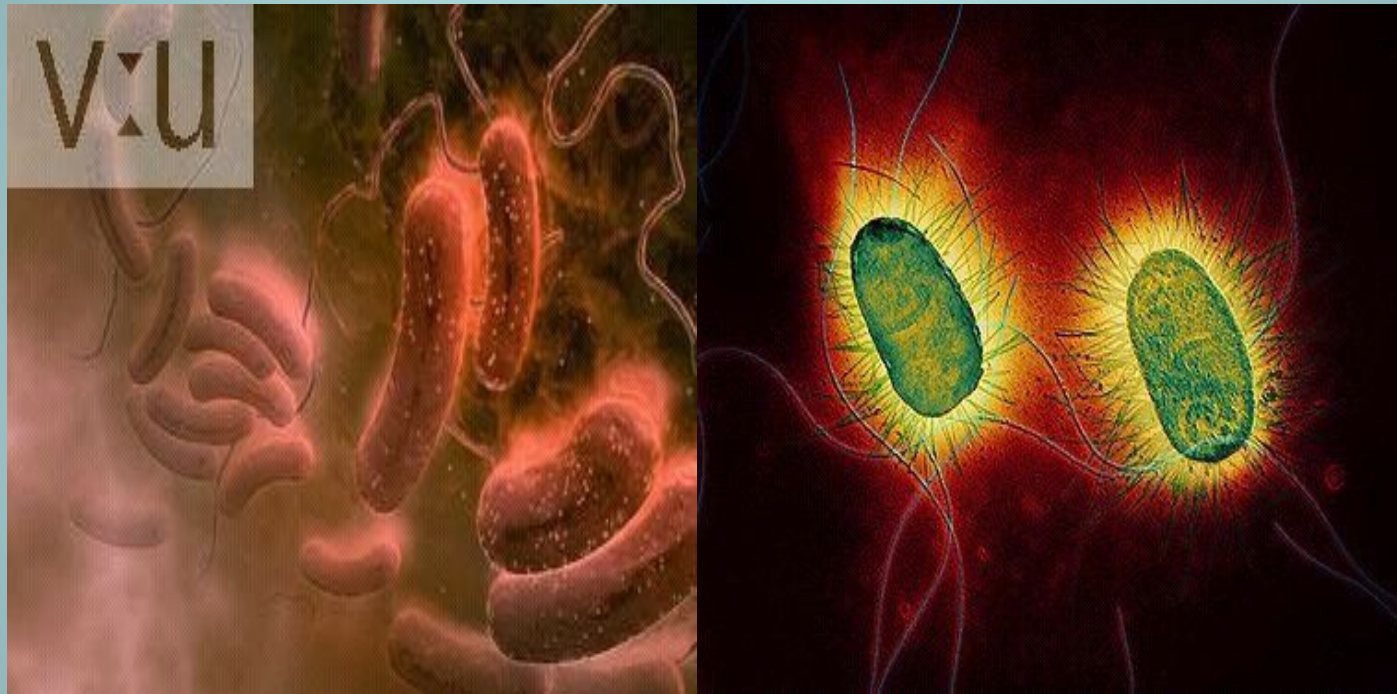
Аутоагглютинаты (агрегаты) в культуре ткани ассоциируются с диареей детей раннего возраста (до **6** мес)

Наряду с этим, выявлена персистирующая диарея у ВИЧ-инфицированных взрослых лиц

## Энтероагрегативная **E.coli**

- **Бактерии** обнаружены только у человека,
- получили свое название за способность с помощью фимбрий вызывать агрегацию клеток в клеточной культуре
- **EAggEC** адгезируют на поверхности слизистой тонкого кишечника и вызывают водную диаррею без лихорадки
- Неинвазивны, продуцируют гемолизин и **ST-**энтеротоксин, сходный с энтеротоксином энтеротоксигенных эшерихий

# Escherichia coli





# Дизентерия

- Это инфекционное заболевание, вызванное бактериями рода шигелл, которое характеризуется
- интоксикацией и
- поражением дистального отдела толстого кишечника (слизь, кровь в стуле),  
часто с хроническим течением  
(У детей нередко поражается и подвздошная кишка)

Изучение заболевания связано с именами Шига, Григорьева, Штуцера, Шмитца, Ларджа, Сакса, Флекснера, Бойда, Зонне

# **Shigella** – возбудитель дизентерии

- Семейство ***Enterobacteriaceae***
- Род ***Shigella***

**Дизентерия - полиэтиологическое  
заболевание**

- Виды: ***Shigella dysenteriae, S.flexneri, S.boydii, and S.sonnei***

Группа	Подгруппа (вид шигелл)	Серотип	Подсеротип	Комментарий*
A	<i>Shigella dysenteriae</i>	1..... 12	—	Григорьева-Шига — <i>Sh. dysenteriae</i> 1; Штуцера-Шмитца — <i>Sh. dysenteriae</i> 2; Ларджа-Сакса — <i>Sh. dysenteriae</i> 3-7;
B B	<i>Shigella flexneri</i>	1, 2, 3, 4, 5, 6,  X и Y варианты	1a, 1b  2a, 2b 3a, 3b 4a, 4b	Ньюкестл — <i>Sh. Flexneri</i>
C	<i>Shigella boydii</i>	1... 18		
D	<i>Shigella sonnei</i>			

\* указаны прежние названия шигелл.

# Shigella

## морфология

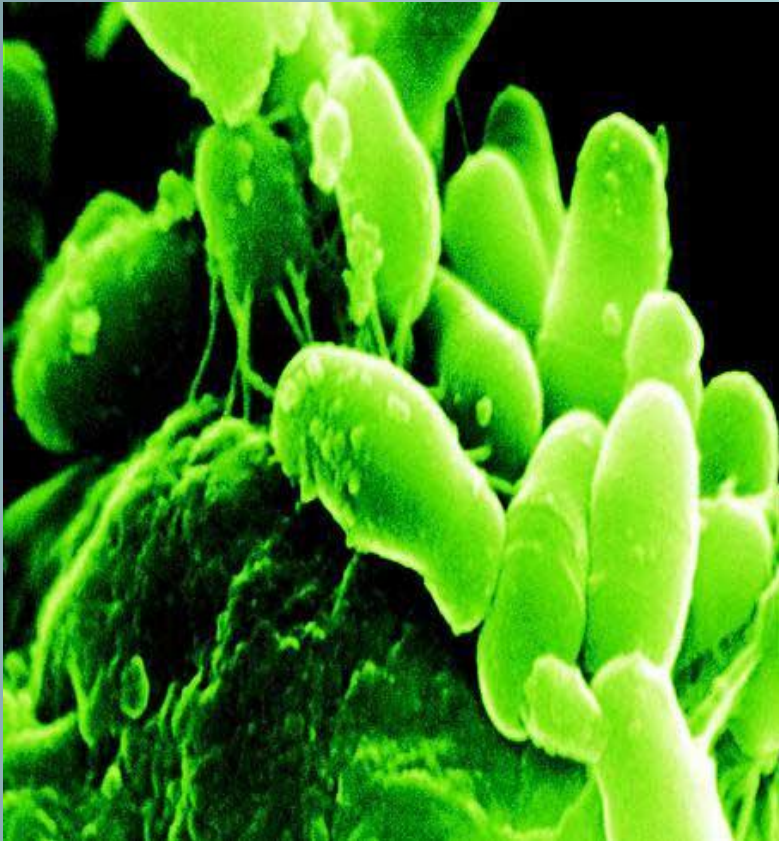
- Мелкие  
грамотрицательные  
палочки с закругленными  
концами, неподвижные

**S. sonnei** - ферментируют  
лактозу

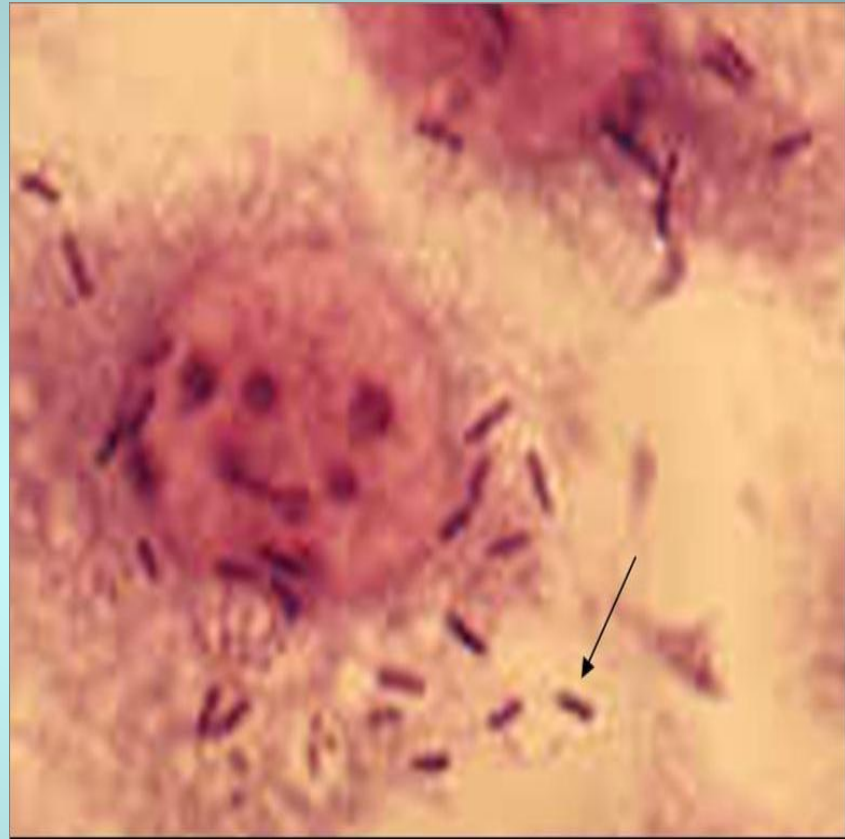




# Shigella



**Трансмиссивная электронная  
микроскопия. Колонизация  
эпителиоцитов**

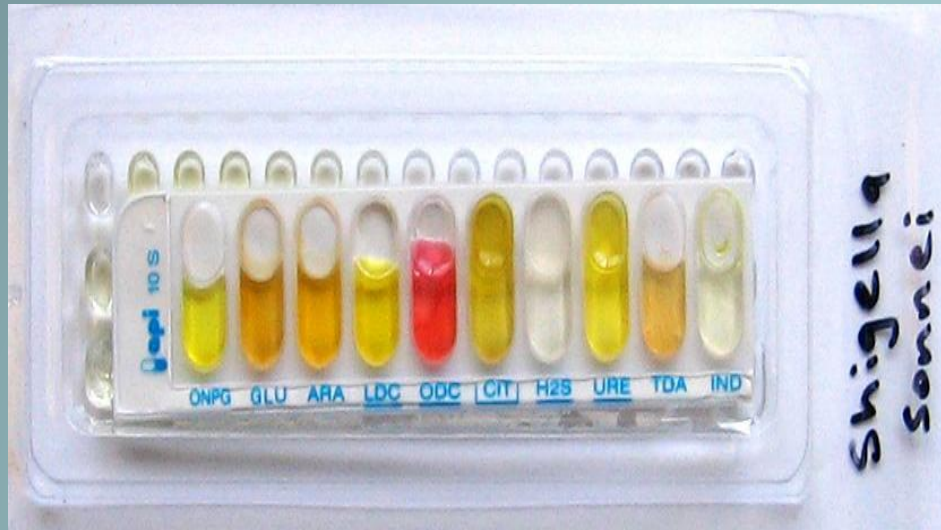


Шигеллы внутри эпителиоцитов





- Факультативные анаэробы
- На среде Эндо – бесцветные
- лактозонегативные КОЛОНИИ
- Селективные среды- среда Плоскирева, сальмонелла-шигелла агар



- Биохимически малоактивны
- расщепляют отдельные углеводы только до кислоты
- чувствительны к дезинфектантам

## Антигены

***O-антиген*** - термостабильный, ЛПС наружной мембраны

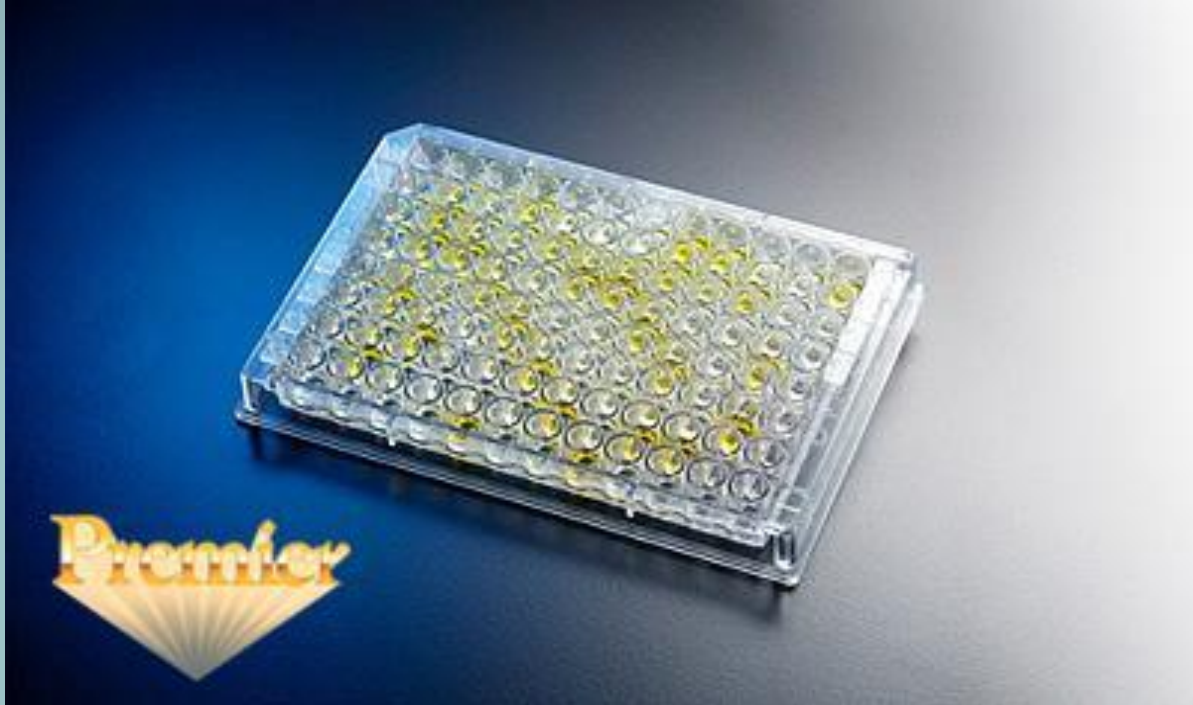
***K-антиген*** — капсульный антиген (поверхностные полисахариды) , термолабильный

# Факторы патогенности

- Фимбрии и белки наружной мембраны – факторы адгезии,
- Ферменты патогенности: гиалуронидаза, муциназа, нейраминидаза,
- Эндотоксин (ЛПС);
- Токсин Шига и шигаподобные токсины
- взаимодействуют с рецепторами энтероцитов,
- макрофагов и нервных клеток
- обладают цитотоксическим, нейротоксическим и энтеротоксическим эффектами
- Шига-токсин может вызывать гемолитический уремический синдром с развитием почечной недостаточности

***S.flexneri, S.boydii, и S.sonnei* способны продуцировать  
LT-энтеротоксин**

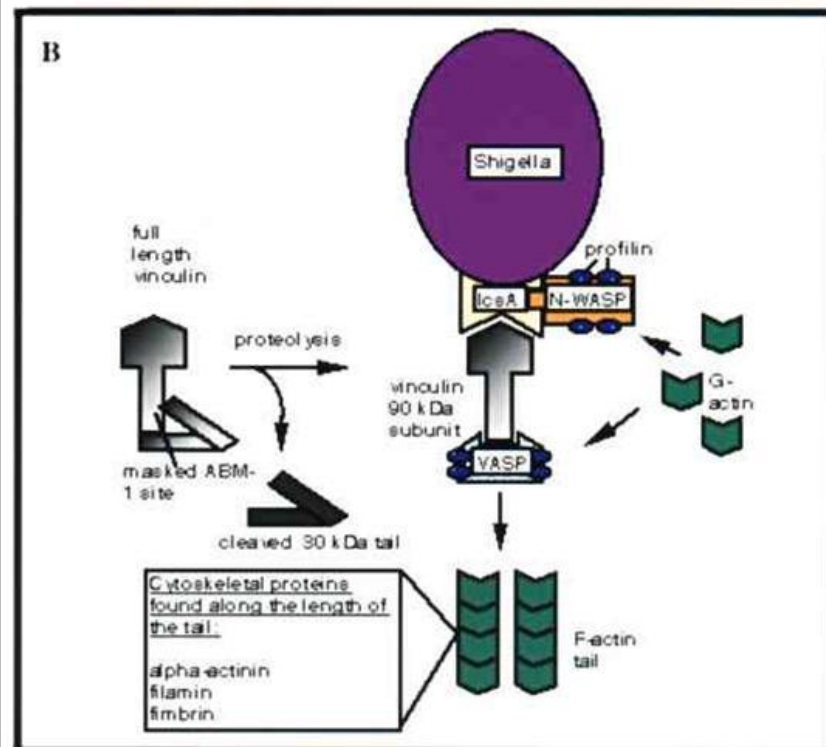
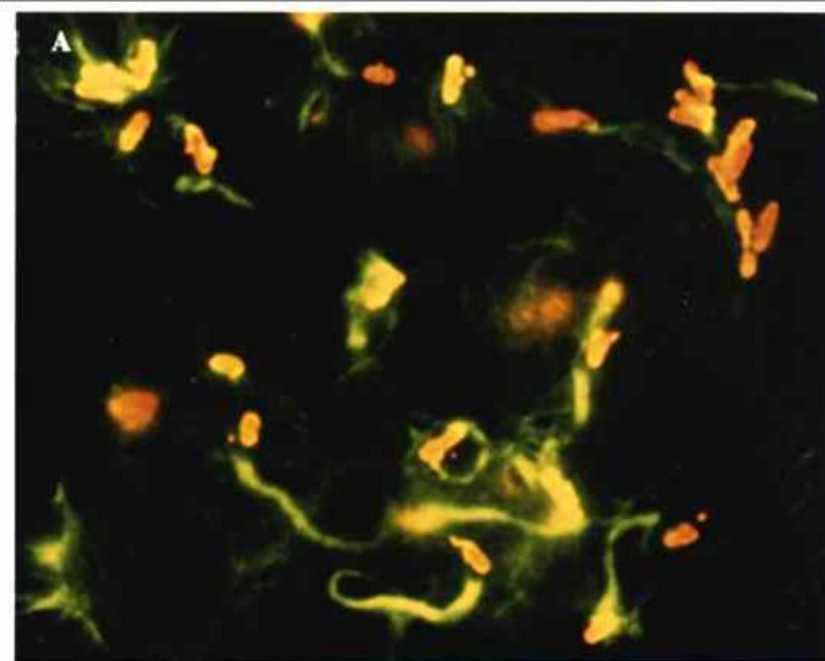




**ELISA** для определения **Shiga** токсинов в  
клиническом материале

**Shigella** после адгезии лизирует мембрану энтероцита и выходит в цитоплазму, вызывает реорганизацию клеточного актина, формируя себе «хвост», выполняющий роль пропеллера, обеспечивающего перемещение из клетки в клетку.

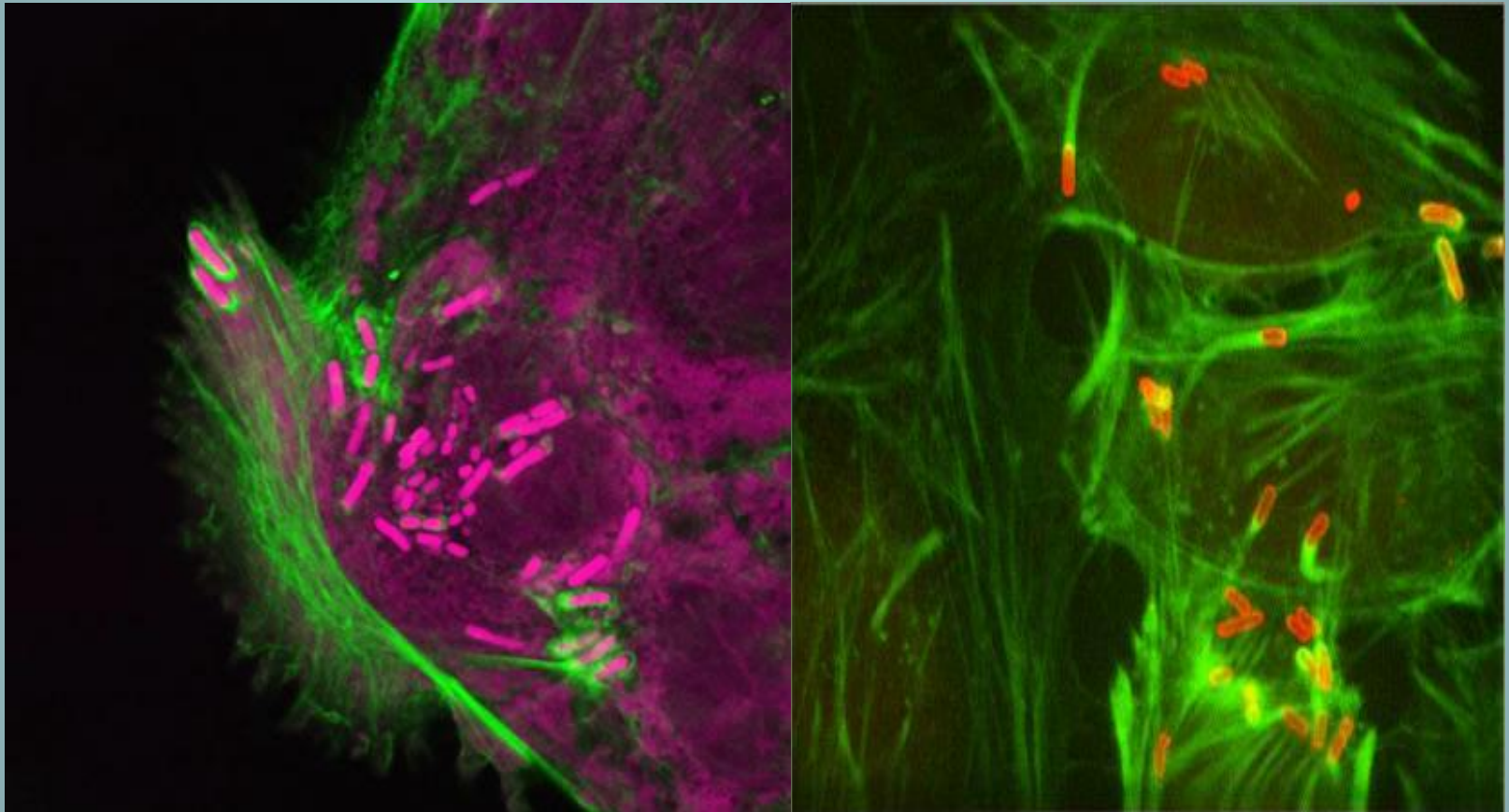
- На рис. А показана иммунофлюоресцентная окраска: клетки шигеллы (красные) перемещаются с помощью полимеризованного актина (зеленый)
- На рис. В. Показана реорганизация цитоскелета - полимеризация актина





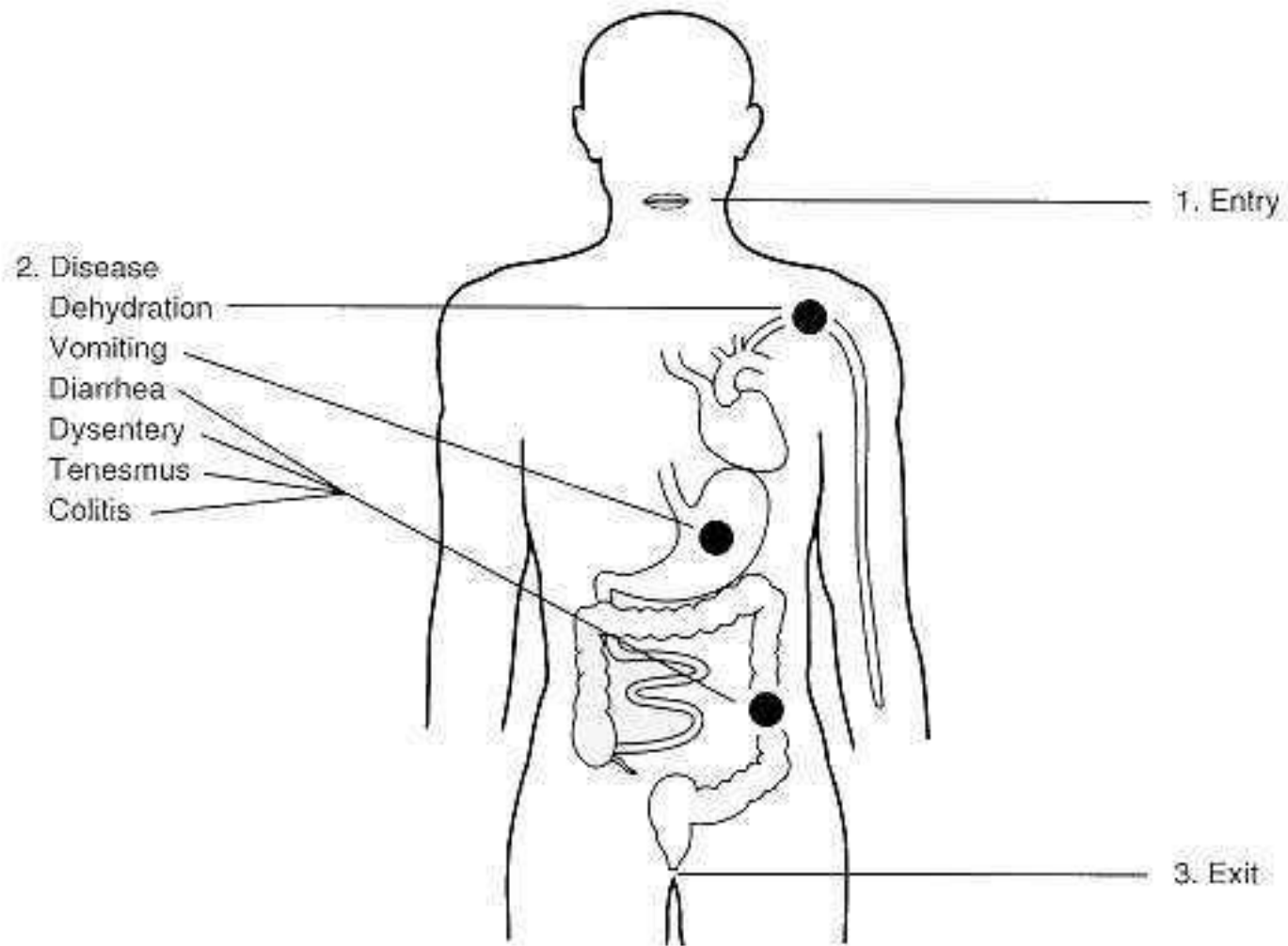
# **Shigella flexneri**

инфицирует культуру клеток **Hela**



**Шигеллы -красное свечение и зеленые  
«ХВОСТЫ» актина**

# Патогенез шигеллезов



## Лабораторная диагностика

- Ускоренные методы - латексагглютинация, прямой метод иммунофлуоресценции
  - Бактериологический (культуральный метод) –основной;
  - Серологический метод (ИФА, РСК, РНГА, развернутая реакция агглютинации) для обнаружения антител в сыворотке больного при хронических, атипичных формах и с целью ретроспективной диагностики,
- Молекулярно-генетический метод: ПЦР

## Бактериологический метод

### Проводят в кратчайшие сроки – «у постели больного»

**Предварительный этап.** Посев в селенитовый бульон

**1 этап:** Посев клинического материала или пробы из селенитового бульона на среды Эндо, Плоскирева и др.

**2 этап:** Макро- и микроскопическое изучение колоний пересев лактозонегативных колоний на среды Ресселя или Клиглера.

**3 этап: Идентификация** :биохимическое тестирование по системе API-20E;

- серологическая (антигенная) идентификация в реакциях агглютинации на стекле (с поливалентной дизентерийной сывороткой и с группоспецифическими сыворотками);
- определение чувствительности к антибиотикам



## Получение проб биоматериала ( ректальный мазок)





## Особенности иммунитета

- После перенесенного заболевания формируется типоспецифический иммунитет - к тому виду, с которым связана этиология дизентерии  
(иммунитет нестойкий)
- Необходима ранняя и дифференциальная диагностика -
- **S.flexneri (Lac-)** от **S.sonnei(Lac+)** через **48ч)**, чтобы разместить больных по разным палатам

## Особенности клинического течения

- Инкубационный период **1 -7** дней (чаще **2-3** дня)
- Острое течение – колиты, гастроэнтероколиты, гастроэнтериты,
- Хронически рецидивирующее течение

### Бактериовыделители

- Характерные симптомы:
- тенезмы (частые позывы), схваткообразные боли,
- слизь и кровь – примеси в стуле

# Лечение

- Симптоматическое:

пероральная (в тяжелых случаях внутривенная)  
регидратация

- Патогенетическое:

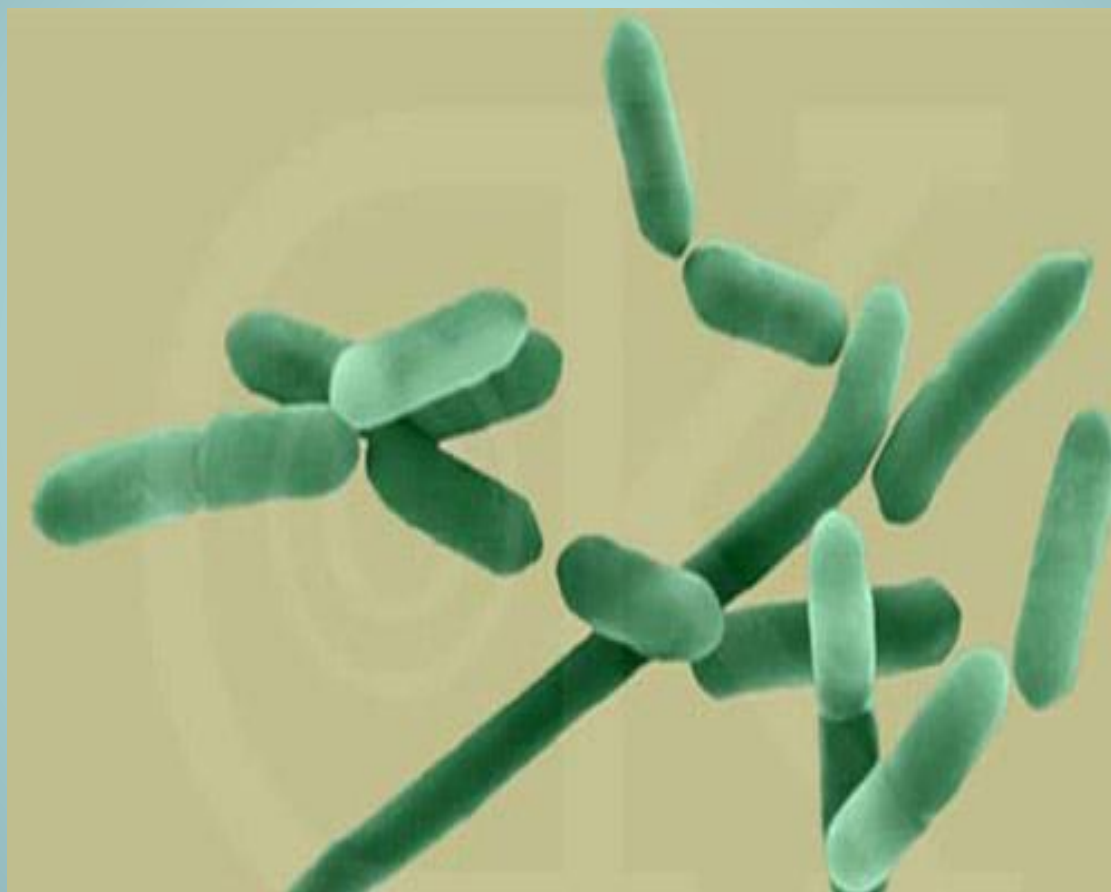
Антибиотики (ампициллин, триметоприм,  
фторхинолоны, ципрофлоксацин)

Дизентерийный поливалентный бактериофаг

Профилактика: Инактивированная дизентерийная вакцина  
(содержит взвесь убитых шигелл) для лечения  
хронических форм инфекции

Препараты для коррекции микрофлоры кишечника

# Листериоз



## **Listeria monocytogenes** – возбудитель листериоза

- Листериоз – зоонозное инфекционное заболевание, которое характеризуется поражением моноцитов и макрофагов, нервной системы
- Листерии – мелкие Грам<sup>+</sup> палочки, микроаэрофилы,
- хорошо растут на простых средах. На кровяном агаре образуют мелкие колонии с зоной гемолиза,
- ферментируют глюкозу, рамнозу, каталазоположительные



# Listeria

бактериологический метод



# Листерии



# Эпидемиология листериоза

- Основной источник заболевания для человека – грызуны (домашние мыши и крысы) и сельскохозяйственные животные (обычно животные заражаются через воду и корма, инфицированные выделениями грызунов или их трупами).

Больные животные выделяют листерии с фекалиями и молоком.

Пути передачи листериоза - фекально-оральный, трансплацентарный, но возможен контактный, аэрогенный, трансмиссивный.

Возможна передача инфекции от больной матери плоду через плаценту или во время родов.

- В последние годы листериоз все чаще обнаруживают у наркоманов (выявлены наиболее опасные наркотики, например, фентанил)

# Продукты питания – источники листериоза





# Пищевые продукты –источник листерий





## Формы листериоза

- Гранулематозный сепсис
- Септикопиемия с метастатическим гнойным менингитом
- Сочетание гранулематозной и пиемической форм

## Факторы патогенности

- Это внутриклеточные паразиты
- Факторы адгезии и инвазии:

фосфолипазы- мембранолитические свойства, лизис макрофагов,  
интернарины - поверхностные белки, участвуют в инвазии  
листерий в клетки эпителия, гепатоциты, эндотелия

Главный внеклеточный белок –муреингидролаза участвует в адгезии и инвазии

Белок **ActA** способствует полимеризации актина с образованием «актинового хвоста» для проникновения листерий внутрь клеток.

Токсин - листериолизин O (гемолизин)

## Клинические проявления

- Первые симптомы появляются через **2-3** нед после заражения.  
Больные чувствуют
- тошноту и рвоту, сонливость, боли в животе.
- Повышается температура тела до **38-39** °
- Нередко отмечаются признаки поражения ЦНС (энцефалит, менингит).
- У беременных женщин и детей листериоз сопровождается расстройствами координации, тремором, судорогами и ригидностью затылочных мышц
- Влияние листериоза на развитие плода –
- бактериемия, поражение печени и селезенки, папулезная сыпь

# Листериоз



# Лечение и профилактика листериоза

- Лечение - не всегда успешно, важно как можно раньше установить диагноз
- Наиболее эффективны препараты: ампициллин, гентамицин и бисептол
- Используют комплексную терапию: антибактериальную, иммунокорректирующую, симптоматическую
- Профилактика -- регулярное проведение санитарно-гигиенических мероприятий в животноводческих хозяйствах и на предприятиях, которые перерабатывают продукты животного происхождения.



БЛАГОДАРИМ ЗА ВНИМАНИЕ

