

# Холера

- острая инфекционная болезнь; характеристики:
- острое начало,
- гастроэнтеритические проявления,
- резкое нарушение водно-солевого и белкового обменов,
- обезвоживание и тяжелый токсикоз,
- тенденция к эпидемическому и пандемическому распространению,
- высокая летальность среди нелеченных больных

- Семейство **Vibrionaceae**
- Род **Vibrio**
- Вид **Vibrio cholerae**

- Источник инфекции: человек — больной холерой и здоровый (транзиторный) вибриононоситель.

Несмотря на то, что выделение возбудителя в окружающую среду происходит в течение короткого времени, большое количество скрытых форм поддерживает циркуляцию возбудителя.

Соотношение носители/больные может достигать от 4:1 до 10:1.

- Основной механизм передачи – фекально-оральный, реже - контактный.

Факторы передачи – вода, пищевые продукты, объекты окружающей среды.

Заражение происходит главным образом при питье необеззараженной воды, заглатывании воды при купании в загрязнённых водоёмах и пр.

## Биохимические свойства.

Сбраживают с образованием кислоты (без газа) глюкозу, сахарозу, мальтозу, маннозу, маннит, лактозу (сравнительно медленно), левулёзу, гликоген и крахмал.

Диагностическое значение имеет ферментация **маннозы, сахарозы и арабинозы (триада Хёйберга)**; холерные вибрионы разлагают только маннозу и сахарозу и принадлежат к 1 группе Хёйберга (по отношению к этим трём углеводам все вибрионы разделяют на 6 групп).

Разжижают желатину с образованием «воронки» с пузырьком воздуха вверху, гидролизуют казеин. Обладают плазмокоагулирующим действием (свёртывают плазму кролика) и фибринолитическим (разжижают свёрнутую сыворотку по Лёффлеру).

Свёртывают молоко и разлагают другие белки и их дериваты до аммиака и индола.  $H_2S$  не образуют. Восстанавливают нитраты.

# Патогенез холеры

- Симптомы заболевания вызываются не самим холерным вибрионом, а продуцируемым им холерным токсином.
- Входные ворота инфекции - пищеварительный тракт. Вибрионы колонизируют поверхность эпителия тонкого отдела кишечника, не проникая, однако, внутрь его и выделяют **экзотоксин** (холероген) - термолабильный белок. Экзотоксин способствует выходу в просвет кишечника огромного количества изотонической жидкости с низким содержанием белка и высокой концентрацией ионов натрия, калия, хлоридов, гидрокарбонатов. Развивается диарея, рвота и обезвоживание. Потеря жидкости, гидрокарбонатов и калия ведёт к развитию метаболического ацидоза, гипокалиемии.
- Кроме экзотоксина, холерный вибрион имеет эндотоксин - термостабильный ЛПС, сходный по структуре и активности с эндотоксинами прочих грамотрицательных бактерий. Эндотоксин проявляет иммуногенные свойства, индуцируя синтез вибриоцидных АТ.

- **Лабораторная диагностика.**
- Цель исследований: выявление больных и бактерионосителей; установление окончательного диагноза при исследовании погибших; контроль за эффективностью лечения больных и санации носителей; контроль над объектами внешней среды и эффективностью дезинфекционных мероприятий.
- Материалы для исследований - испражнения, рвотные массы, жёлчь, секционный материал (фрагменты тонкой кишки и жёлчного пузыря), постельное и нательное бельё, вода, ил, сточные воды, гидробионты, смывы с объектов окружающей среды, пищевые продукты, мухи и др.

- Наилучшие результаты даёт исследование проб, взятых до начала антибактериальной терапии.
- Материал отбирают в стерильную посуду без следа дезсредств.
- Испражнения в количестве 10-20 мл отбирают резиновыми катетерами, или используют ректальные тампоны.
- При исследовании желчи отбирают порции В и С (доставляют нативный материал).
- Все образцы помещают в герметически закрываемую транспортную тару. Материал следует доставлять в лабораторию не позже 2 ч после забора. При невозможности образцы помещают в транспортные среды (наиболее удобна 1 % пептонная вода с рН 8,2-8,6).

- Водопроводную воду (1 л) отбирают в стерильную посуду (по 500 мл) после обжигания кранов и предварительного слива в течение 10 мин.
- Сточные воды (1 л) также отбирают в 2 ёмкости.
- Гидробионтов (рыб и лягушек, по 10-15 экземпляров) помещают в герметичные стеклянные банки.
- Смывы с объектов отбирают с площади 25 см<sup>2</sup> ватными тампонами, смоченными 1% пептонной водой (в которой их транспортируют в лабораторию).
- Для посева используют жидкие среды обогащения, щелочной МПА, элективные и дифференциально-диагностические среды.
- На всех этапах исследования посевы выращивают на пептонной воде 6-8 ч, пептонной воде с теллуридом калия 12-18 ч, на щелочном агаре не менее 14-16 ч, на элективных плотных средах 18-24 ч.
- Для ускоренной диагностики болезни применяют РИФ и РНГА.

- Исследование больных, бактерионосителей и трупного материала проводят в четыре этапа.
- I этап. Материал засевают на накопительную среду, на щелочной агар или одну из селективных сред (например, TCBS-агар).
- II этап (через 6-8 ч после начала исследования). Изучают рост на первой среде накопления и производят высев на щелочной агар и вторую среду накопления. Если на первом этапе при исследовании нативного материала ускоренными методами получают положительные результаты, пересев на вторую среду накопления не производят. При отрицательных результатах ускоренные методы повторяют после 6-часовой инкубации в первой среде накопления.



- III этап (через 12-14 ч после начала исследования). Изучают рост на второй среде накопления; производят высев со второй среды накопления также на щелочной агар. С чашек отбирают для дальнейших исследований не менее 5 подозрительных колоний и высевают на лактозно-сахарную среду или среду Клиггера.
- IV этап (через 18-24 ч после начала исследования). Проводят отбор подозрительных колоний в посевах на плотные среды нативного материала, а также в посевах со 2-й накопительной среды.

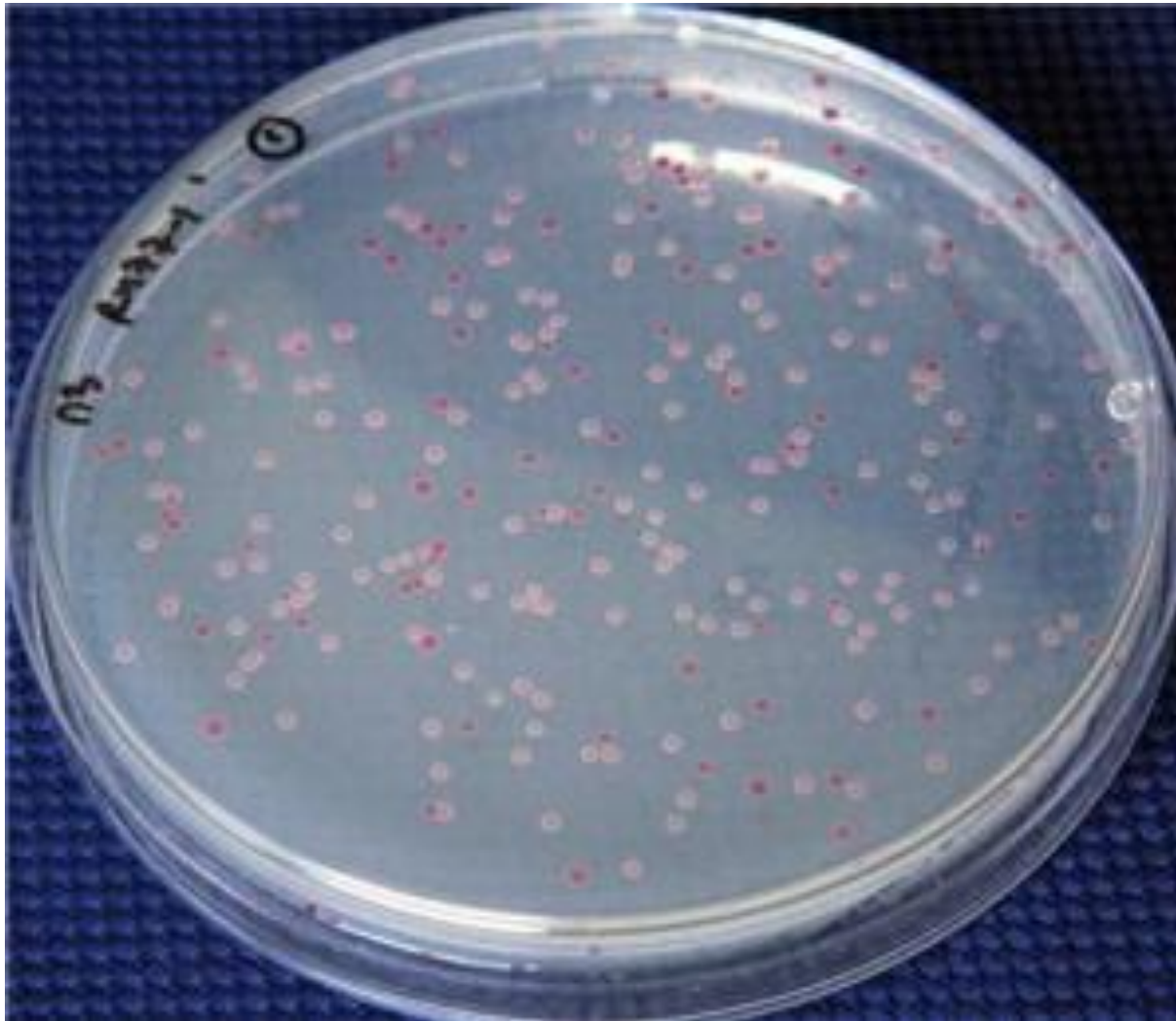
**Морфология**      **Vibrio cholerae**      Прямые или  
изогнутые                      подвижные                      палочки,  
грамотрицательные

### **Культуральные свойства.**

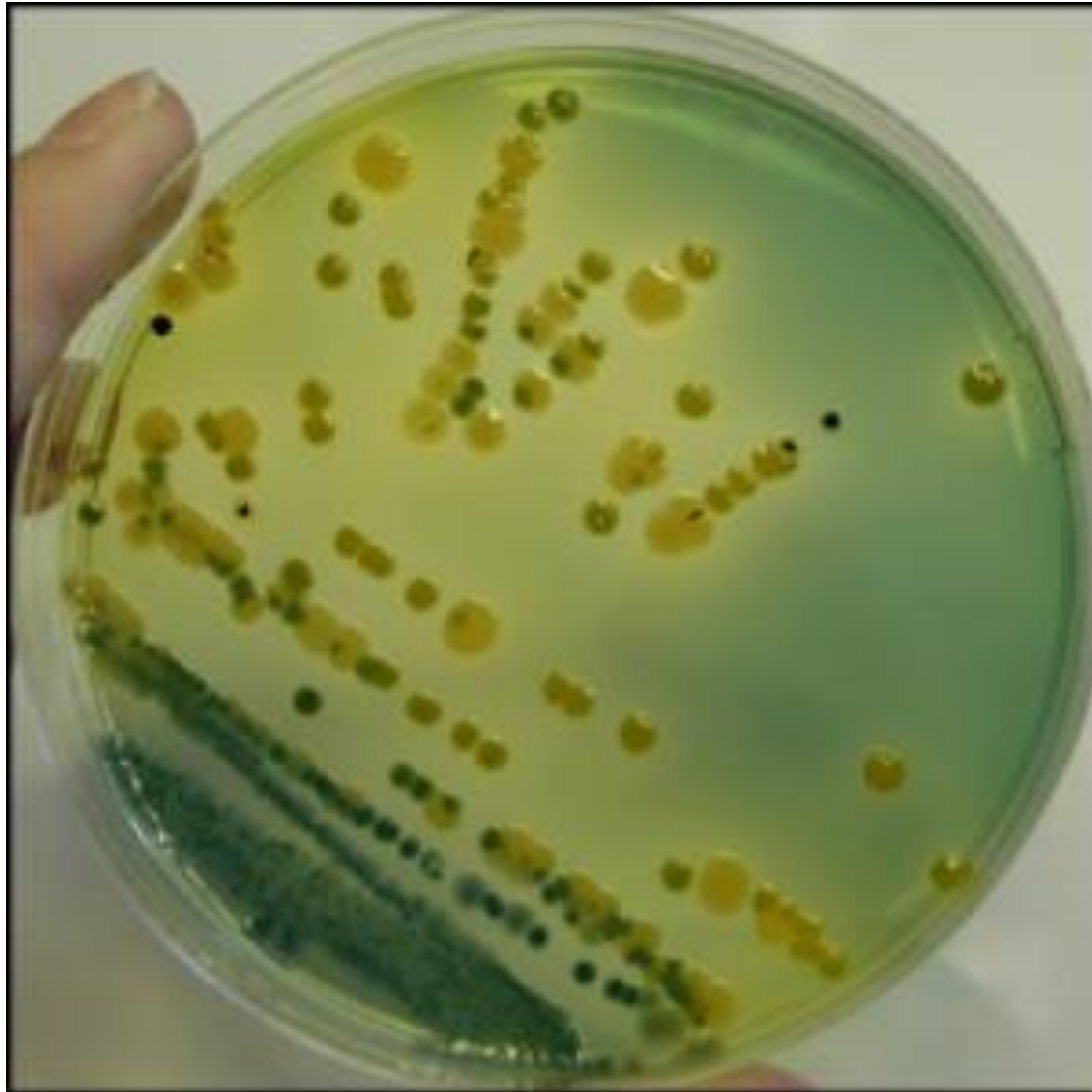
Факультативный анаэроб с более выраженными аэробными свойствами; быстро погибает в анаэробных условиях. Не образует спор.

Хорошо растёт на простых питательных средах при высоком рН среды (7,6-8,0).

На жидких средах вызывает помутнение и образование нежной голубоватой плёнки на поверхности



На твёрдых средах *Vibrio cholerae* образует небольшие круглые дисковидные прозрачные S-колонии с ровными краями, голубоватые в проходящем свете.

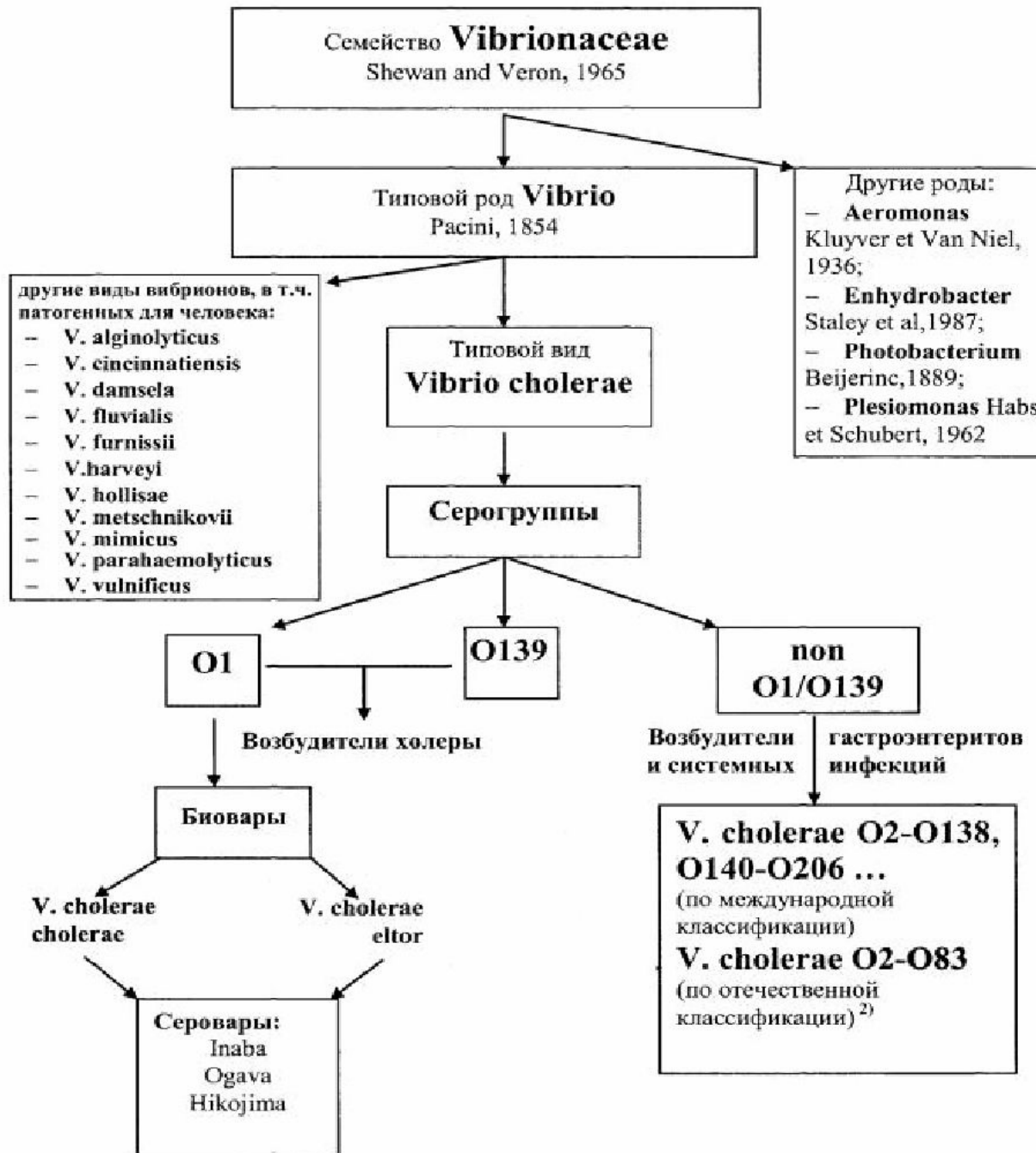


На агаре с тиосульфатом, цитратом, солями жёлчных кислот и сахарозой (TCBS-агар) *Vibrio cholerae* образует жёлтые колонии.

- Подозрительные колонии исследуют в РА на стекле («слайд-агглютинация») с О1-антисывороткой, а также с сыворотками Инаба и Огава в разведении 1:50-100. Если серотипирование вибрионов обычными антисыворотками даёт отрицательный результат, то их проверяют с холерными сыворотками R0 и 0139 в реакции слайд-агглютинации.
- Из культур готовят мазки для окраски по Граму и проб с люминесцирующими сыворотками. Затем проводят биохимическую идентификацию выросших микроорганизмов.

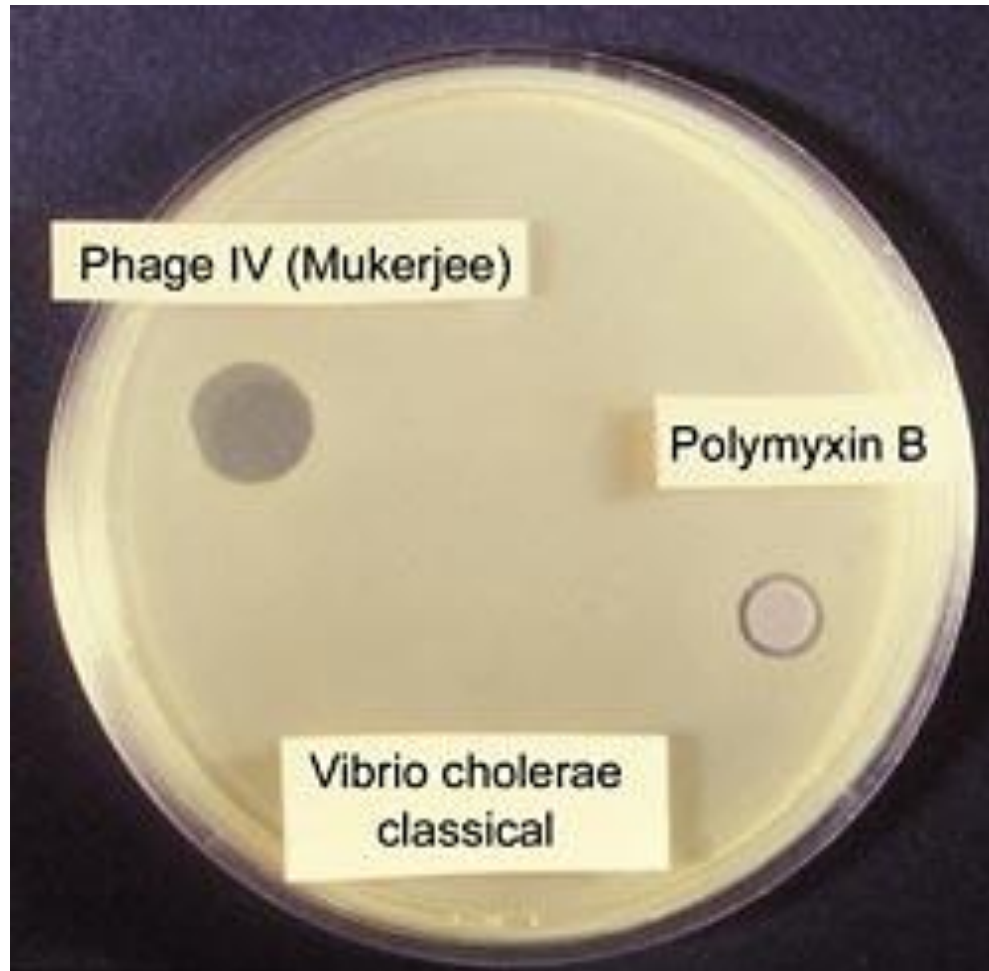
- **Антигенная структура.** У холерных вибрионов выделяют термостабильные О- и термолабильные Н-Аг.
- По структуре О-Аг выделяют 139 серогрупп;
- На основании биохимических и биологических различий холерные вибрионы разделяют на 2 биовара (биотипа): классический (*V. cholerae asiaticae*) и Эль-Тор (*V. cholerae eltor*).
- Возбудители классической холеры и холеры Эль-Тор относятся к О1 серогруппе (*при исследовании на холеру обязательно проводят типирование О1-анти-сывороткой*).
- О-Аг О1 группы холерных вибрионов неоднороден и включает А, В и С компоненты, разные сочетания которых присущи сероварам Огава (АВ), Инаба (АС) и Хикоджима (АВС)

# Классификация вибрионов



- В начале 1993 г. появились сообщения о вспышках холеры в юго-восточной Азии, вызванных вибрионами ранее неизвестной серогруппы, обозначенных как серовар 0139 (Бенгал).
- Вибрионы серовара 0139 не агглютинируются видоспецифической O1 и типоспецифическими Огава-, Инаба- и RO-сыворотками, устойчивы к полимиксину и не проявляют гемолитическую активность.
- Все *Vibrio cholerae* лизируются бактериофагом группы IV (по Мукерджи, 1963), а вибрионы биовара Эль-Тор - фагами группы V.





Тест на резистентность *V. Cholerae* к бактериофагу IV и полимиксину B.

# Препараты для специфической профилактики холеры

- **Холероген-анатоксин** - очищенный и концентрированный препарат, полученный из центрифугата бульонной культуры холерного вибриона, обезвреженного формалином.
- Предназначен для создания активного искусственного иммунитета против холеры. Вакцинация и ревакцинация проводятся по эпидемиологическим показаниям однократно за месяц перед эпидемическим сезоном.
- **Холерная вакцина** относится к числу убитых корпускулярных вакцин и готовится на основе вирулентных штаммов холерного вибриона классического биотипа или биотипа Эль-Тор серотипов Инаба и Огава, инактивированных нагреванием или формалином.
- **Вакцина холерная бивалентная химическая таблетированная** представляет собой смесь холерогена-анатоксина и О-антигенов, полученных из бульонных культур холерного вибриона сероваров Инаба и Огава. Вакцина обеспечивает антибактериальный, антитоксический и местный кишечный иммунитет длительностью до 6 месяцев. Ревакцинацию проводят через 6-7 мес после первичной вакцинации.
- **Холерный бактериофаг.** С тех пор, как в 1926 г. Ф.Д.Эрелль получил хорошие результаты при лечении холеры бактериофагом, этот метод терапии приобрел широкое распространение. Однако в последующем результаты фаготерапии оказались менее обнадеживающими и недостаточно постоянными. Существующие разновидности бактериофага не подавляют развитие вибриона Эль-Тор в организме экспериментальных животных и человека. Согласно заключению Комитета экспертов ВОЗ, в настоящее время нет убедительных материалов, свидетельствующих об эффективности фаготерапии холеры.

# Семейство *Vibrionaceae*

1. изогнутые подвижные палочки
2. распространены повсеместно; широко представлены в морской, пресной воде и часто колонизируют организмы водных животных.
3. хемоорганотрофы; метаболизм окислительный и бродильный
4. температурный оптимум для большинства видов  $37^{\circ}\text{C}$
5. оксидаза-положительны
6. ферментируют глюкозу и другие углеводы с образованием кислоты.
7. нуждаются во внесении в среду 2-3% раствора NaCl.

# Род Vibrio

- Род образуют прямые или изогнутые палочки; характерна подвижность (один или несколько жгутиков).
- Хемоорганотрофы; метаболизм окислительный и бродильный. Оксидаза-положительны
- Температурный оптимум варьирующ; от 20 до 30°C.
- Восстанавливают нитраты, D-глюкозу ферментируют до кислоты. Сбраживают мальтозу, маннозу и трегалозу.
- Наибольшее медицинское значение имеют *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus*.  
Типовой вид рода – *V. cholerae*.

## Прочие патогенные виды *Vibrio*.

- Среди них доминируют поражения, вызванные *V. parahaemolyticus* и *V. vulnificus*.
- ***Vibrio parahaemolyticus*** - галофильный вибрион; возбудитель большинства случаев острых диарей в Японии; вызванные им поражения также регистрируют в странах Юго-Восточной Азии, Африки и Латинской Америки (до 20% диарей), в том числе у туристов. Основные факторы передачи - блюда из морских продуктов, длительно хранимые в тёплом месте и приготовленные с нарушениями технологического процесса. В более редких случаях наблюдают поражения, вызванные употреблением сырых моллюсков и рыбы, а также пищи, обрызганной морской водой. Возбудитель вырабатывает энтеротоксин, вызывающий энтерит.

- Диагностику проводят выделением возбудителя на средах, применяемых для выделения *Vibrio cholerae* (чаще для исключения холеры) с определением роста на TCBS-агаре (образует оливково-зелёные колонии, т.к. не ферментирует сахарозу) и способности утилизировать орнитин.
- ***Vibrio vulnificus*** входит в состав микробных ценозов эстуариев рек умеренных и тёплых регионов Тихоокеанского и Атлантического побережий и концентрируется в «природных фильтрах» - двухстворчатых моллюсках (устрицах, мидиях, гребешках и т.д.). Возбудитель обладает уникальной способностью вызывать 2 типа различных поражений - септицемии и гнойные раневые процессы.

- Септицемии развиваются после употребления моллюсков и проявляются буллёзными поражениями кожи. Поражения с большей частотой регистрируют у лиц с нарушениями иммунитета, заболеваниями печени, почек и сахарным диабетом. 50% случаев заканчивается летально.
- Раневые инфекции обусловлены контактом ран с контаминированной морской водой; они могут быть умеренными либо прогрессировать до тяжёлых целлюлитов и миозитов, имитирующих газовую гангрену. Тяжесть поражений, вызываемых *V. vulnificus*, зависит от степени патогенности возбудителя и состояния организма. Факторы патогенности - капсула, защищающая бактерии от действия фагоцитов, и комплекс ферментов, включающий цитотоксин-гемолизин, эластазу, коллагеназу и фосфолипазы.

- Поражения наиболее тяжело протекают у лиц с гемохроматозом и циррозом печени (что обусловлено дефектами активности фагоцитов и проникновением бактерий в кровоток).
- Диагностику проводят выделением возбудителя на средах, применяемых для *Vibrio cholerae*, с определением роста на TCBS-агаре (образует жёлтые колонии, т.к. ферментирует сахарозу) и способности ферментировать лактозу (50% изолятов *V. metschnikovii* ферментируют лактозу).
- Поражения, вызываемые *V. vulnificus*, требуют проведения интенсивной антимикробной терапии. Препараты выбора - гентамицин, тетрациклин и левомицетин.