

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

Рудаков Николай Викторович

д.м.н., профессор

Лекция **Vibrio, Campylobacter, Helicobacter**

Основные вопросы

1. Классификация и свойства рода **Vibrio**.
2. Холерный вибрион. Основные свойства, лабораторная диагностика.
3. Рода **Campylobacter** и **Helicobacter**. Основные виды. Лабораторная диагностика. Патогенез язвенной болезни.

- Семейство Vibrionaceae объединяет подвижные, изогнутые грам-палочковидные бактерии, обладающие полярными жгутиками и происходящие из водных бактерий. Род *Vibrio* дифференцируют от других родов семейства по биохимическим тестам. Основные патогенные виды – ***Vibrio cholerae***, ***V. parahaemolyticum***.



Vibrio cholerae

- Морфология. Холерный вибрион имеет один полярный жгутик, напоминает запятую (запятая Коха). Подвижен (микроскопия по методу висячей или раздавленной капли). Окрашивают водным фуксином или карболовым фуксином.
- Биохимические свойства. Ферментирует до кислоты без газа углеводы. По отношению к трем сахарам (триада Хейберга) **разлагает сахарозу и маннозу, но не арабинозу.**

Разлагает желатин, казеин,

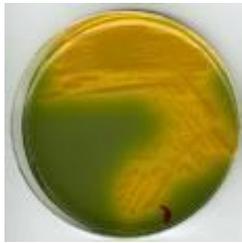
молоко, белки до индола

и аммиака.



- Делятся на серогруппы, серовары и биовары.
- **Серогруппы** выделяют по структуре О-АГ (**вызывают холеру вибрионы О1 и О139 групп**). В основной О1 группе выделяют серовары Огава (АВ), Инаба (АС) и Хикоджима (АВС). Не относящиеся к холерным О1 и О139 серогруппам вибрионы называют неагглютинирующими (НАГ), они вызывают холероподобные заболевания (НАГ-инфекцию).
- **Биовары** О1 группы – классический (***Vibrio cholerae asiatica***) и Эль-Тор (***V.cholerae el-tor***). Биовар el-tor вызывает агглютинацию куриных эритроцитов, гемолиз эритроцитов барана, резистентен к полимиксину, устойчив во внешней среде, вызывает большее число инвазивных форм.⁴

- **Культуральные свойства.** На 1% щелочной (pH 8,6-9,0) пептонной воде быстро размножаются, образуя голубоватую пленку. На плотных средах (щелочной агар, желчно-солевой агар, щелочной агар с кровью, TCBS-агар – с тиосульфатом, цитратом, солями желчных к-т и сахарозой) образуют гладкие стекловидные, прозрачные с голубым оттенком дисковидные колонии вязкой консистенции. На TCBS-агаре колонии ярко-желтые на зеленом фоне.



- **Аг структура.** Имеют термостабильные O- и термолабильные H- Аг. По O-АГ разделены на 139 серогрупп. При S↔R диссоциации не агглютинируются O-сывороткой, используют OR-, серовар-специфические B- и C- сыворотки.

Факторы патогенности

- **Подвижность** (жгутики) и хемотаксис.
- **Ферменты** – способствуют адгезии и колонизации, взаимодействию с эпителиальными клетками – муциназа (разжижает слизь), нейраминидаза (взаимодействие с микроворсинками, создание «посадочной площадки»), лецитиназа и др.
- **Эндотоксин** - термостабильный ЛПС.
- Экзотоксин – **холероген** – главный фактор патогенности, термолабильный белок, состоит из фрагментов А и В. Взаимодействует с рецептором энтероцита, проникает в мембрану клетки, активирует аденилатциклазную систему, цАМФ вызывает гиперсекрецию воды и электролитов из клеток, ведет к обезвоживанию и обессоливанию организма.
- **Энтеротоксины.**

Эпидемиология

- Холера – особо опасная, кишечная инфекция с фекально-оральным механизмом заражения.
- Основной источник – человек (больной или вибрионоситель), фактор - вода.
- Индивидуальная восприимчивость переменчива, большое количество стертых форм, носительство. Обнаружение в воде связано с наличием больных или вибрионосителей. Холерные вибрионы O1 группы могут длительно находиться в водных экосистемах в виде **некультивируемых форм**.
- Холера - древний антропоноз. Постоянно действующий очаг - бассейны рек Ганга и Брахмапутры. Описано 7 пандемий. Возбудитель первых шести пандемий - биовар *V.cholerae asiatica* (классический). 1960-е – 90-е гг. - появление нового биовара *Vibrio el-tor*, развитие 7й пандемии. С начала 90х годов наряду с *V. el-tor* - штамм Бенгал (серогруппа **O-139**); впервые зарегистрирован в Бангладеш; выраженная токсинопродукция; позже распространился по всему миру.

Микробиологическая диагностика

- Культивирование требует соблюдения режима биологической безопасности. Основной метод диагностики – **бактериологический**, включает выделение и идентификацию возбудителя. Для посева используют жидкие среды обогащения (транспортная среда – 1% щелочная пептонная вода), щелочной ПМА, элективные и диф.-диагностические среды (TCBS-агар). Колонии пересевают для получения чистой культуры, которую идентифицируют по морфологическим, культуральным, б/х, Аг свойствам, подвижности, фаготипируют.
- **Молекулярно-биологические** – для выявления ДНК возбудителя и некультивируемых форм – ПЦР, для определения токсигенности - ПЦР к гену *tox+*, выявление холерогена - ИФА.

Лечение

В первую очередь - восстановление водно-солевого обмена, а затем - использование антибиотиков.

Специфическая профилактика

- **Существует несколько типов вакцин:**
 - **вакцина холерная корпускулярная инактивированная из *V. cholerae*, *V. el-tor*;**
 - **химическая холерная вакцина - моно (содержит холероген-анатоксин и О-АГ серовара Инаба) и би (серовары Огава, Инаба).**

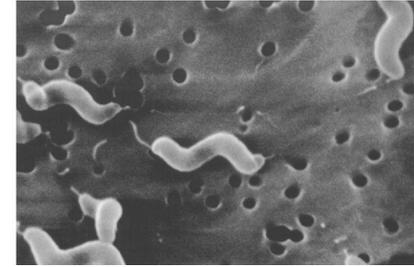
Специфическая защита непродолжительная (6 месяцев), не предохраняет от О139 (Бенгал).

Рода *Campylobacter* и *Helicobacter*

относятся к семейству

Campylobacteraceae, порядку

Campylobacterales, классу эpsilon –
протеобактерии

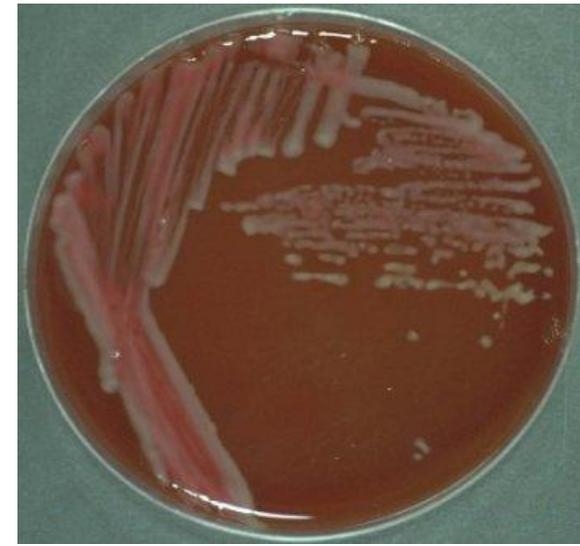


- Кампилобактеры – грам-, подвижные, изогнутые (в виде крыльев чайки или S-образные) бактерии, имеющие один и более завитков. Обладают полярными жгутиками и винтообразным движением. Капрофилы и микроаэрофилы (требуют повышенной концентрации CO₂ и пониженной – O₂).
- Выделяют из кишечника, ротовой полости и органов мочеполовой системы теплокровных. Патогенные виды вызывают кампилобактериозы – протекают чаще по типу ОКИ.

Основные группы

- Группа *C.jejuni* - **термофильных кампилобактерий** с оптимумом при +42.
- Группа **мезофильных кампилобактерий** с оптимумом при +37*. Основной вид - *C.fetus* вызывает артриты, менингиты, васкулиты, аборты.

Культуральные свойства. Используют специальные (мясные, печеночные, кровяные) селективные среды с антибиотиками, чаще исследуют копрофилтраты.



Биохимические свойства

Инертны к углеводам, энергию получают за счет аминокислот. Дифференциация видов по б/х свойствам основана на гидролизе гиппурата, чувствительности к налидиксовой кислоте, образовании сероводорода.

Антигенная структура. Имеют O-, H- и K-антигены. Для серотипирования используют O-антигены.

Факторы патогенности. Высокая адгезивная и инвазивная активность, быстрая колонизация верхних отделов тонкого кишечника. Имеется эндотоксин, термостабильный энтеротоксин.

Клиника – энтероколит.

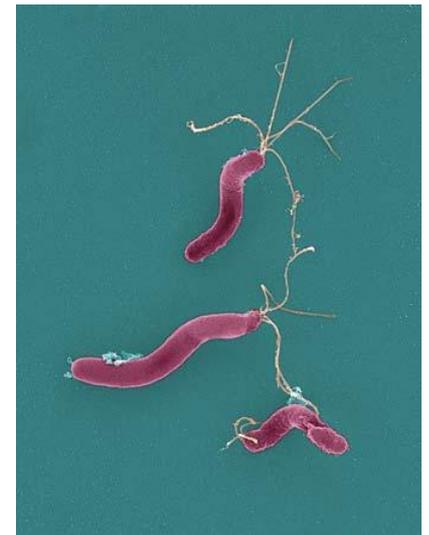
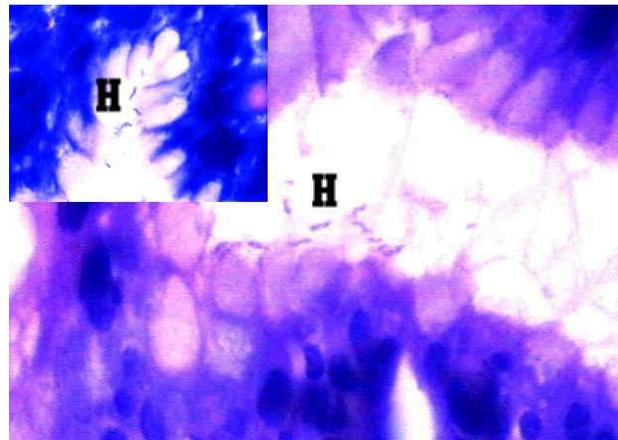
Лабораторная диагностика

- **Микроскопическая диагностика** – окраска 1% водным раствором основного фуксина 10-20 сек. – S-образные короткие цепочки, «крылья чайки».
- Основной метод – **бактериологический** – посев испражнений. Культуры идентифицируют по совокупности признаков.

Лечение. Препаратами выбора при лечении кампилобактериозов являются эритромицин и ципрофлоксацин. При проведении парентеральной терапии системных кампилобактериозов - ампициллин, аминогликозиды.

Род *Helicobacter*

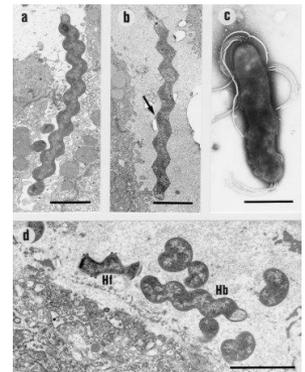
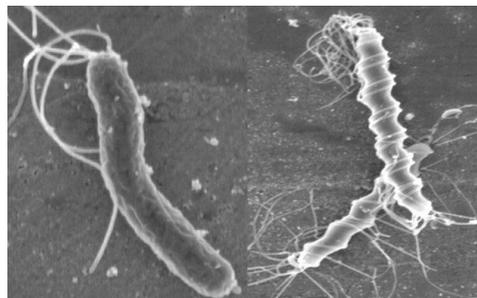
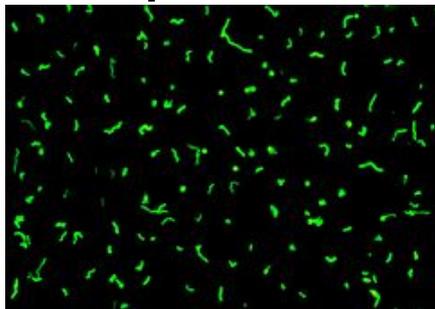
- Род *Helicobacter* объединяет 29 видов, 13 из них обитают в желудках человека и животных, 16 – в печени животных, гепатотропные виды не растут на питательных средах.
- Язвенная болезнь – заболевание, характеризующееся наличием язвенного дефекта в слизистой желудка или двенадцатиперстной кишки. Язвенная болезнь практически в 100% ассоциирована с *Helicobacter pylori*.



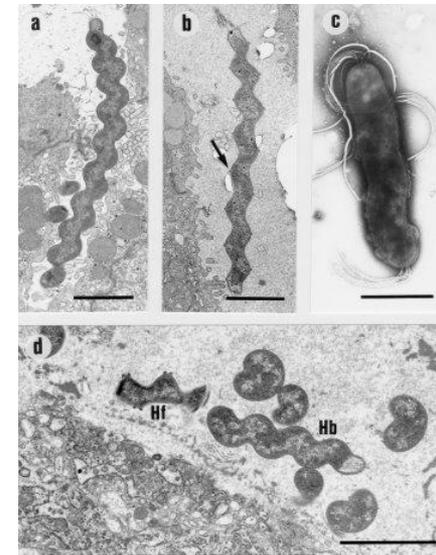
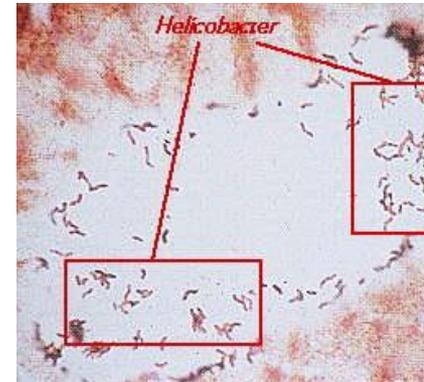
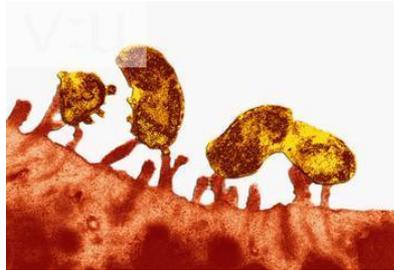
Афоризм «нет кислоты – нет язвы» приобрел новую формулировку: «нет *Helicobacter pylori* – нет язвы»

- *Helicobacter pylori* реализует свою патогенность путем регуляции экспрессии генов в степени, в которой это диктуется реакцией организма.
- Нарушение равновесия между *H.pylori* и организмом приводит к конкретной болезни гастродуоденальной области. Язвенная болезнь и рак желудка являются нечастыми вариантами.

Морфологические и культуральные свойства – аналогичны *Campylobacter*. Персистируют с образованием сферо- и протопластов.



Биохимические свойства. Имеет уреазу.
Антигенные свойства. Имеет O- и H- антигены.
Патогенез поражений.



- Хеликобактеры проникают через слой слизи, прикрепляются к эпителиальным клеткам, проникают в крипты и железы слизистой. Аг (ЛПС) стимулируют миграцию нейтрофилов и воспаление. Уреаза расщепляет мочевины до аммиака, повреждение усугубляют фосфолипаза, муциназа и др. ферменты.

Факторы патогенности:

факторы колонизации (адгезин – белок Bab A, подвижность), **факторы персистенции** (образование сферо- и протопластов), **секреция бактериальных токсинов и ферментов.**

1. Адгезин – белок Bab A позволяет хеликобактеру связываться с Ag группы крови Lewis B на поверхности клеток эпителия. **2.** Имеющие **Cag A** (цитотоксин-ассоциированный) **ген** штаммы синтезируют **Cag A белок**, стимулирующий синтез и секрецию в подслизистый слой ИЛ-8 (цитокин - индуктор воспаления).

- 3.Имеющие **ген Vac A (tox+)** штаммы продуцируют **вакуолизирующий ЦИТОТОКСИН**, вызывающий образование в эндотелиоцитах крупных вакуолей (разрушение), дефекты слизистой.
- Триплет-позитивные штаммы *Helicobacter pylori* (**Bab A+, Cag A+, Vac A+**) – штаммы «первого типа»- обладают повышенной ульцерогенностью.

Лабораторная диагностика

Инвазивные (взятие биоптата слизистой) и неинвазивные методы диагностики.

1. Выявление *Helicobacter pylori* в биоптатах слизистой:

- микроскопические методы;
- бактериологическая диагностика;
- выявление ДНК в ПЦР;
- выявление антигенов в ИФА.



2. Неинвазивные методы - ИФА для выявления IgG и IgA антител, особо – к Сag- антигену (ульцерогенные штаммы).

Бактериологическая диагностика

Выявление и идентификацию хеликобактера проводят на плотных кровяных средах. Культивируют до 7 суток при 37°С в микроаэрофильных, аэробных и анаэробных условиях. Рост – только в микроаэрофильных условиях, не растут при +25 °С и +42 °С.

Колонии до 1мм, округлые, с ровными краями, слегка возвышаются, узкая прозрачная периферия и матовый непрозрачный центр.

Выявляют грам-, подвижные (винтообразные движения) изогнутые бактерии с характерными культуральными свойствами, с оксидазной, каталазной и уреазной активностью.

Лечение

Комплексное (3-х – 4-х компонентное), направленное на иррадиацию возбудителя (санацию организма).

- Антибиотики (макролиды, аминопенициллины, тетрациклины).
- Нитроимидазолы (трихопол) и препараты висмута (Де-НОЛ).
- Антисекреторная терапия (ингибиторы протоновой помпы, антагонисты H^2 -рецепторов гистамина).

