



**Лабораторная
диагностика
КОЛИ-
инфекций**

Семейство Enterobacteriaceae
30 родов

Escherichia

Salmonella

Shigella

Klebsiella

Yersinia



**Эшерих (Escherich)
Теодор
(1857—1911),
немецкий педиатр.
Выделил и описал
(1885) кишечную
палочку**

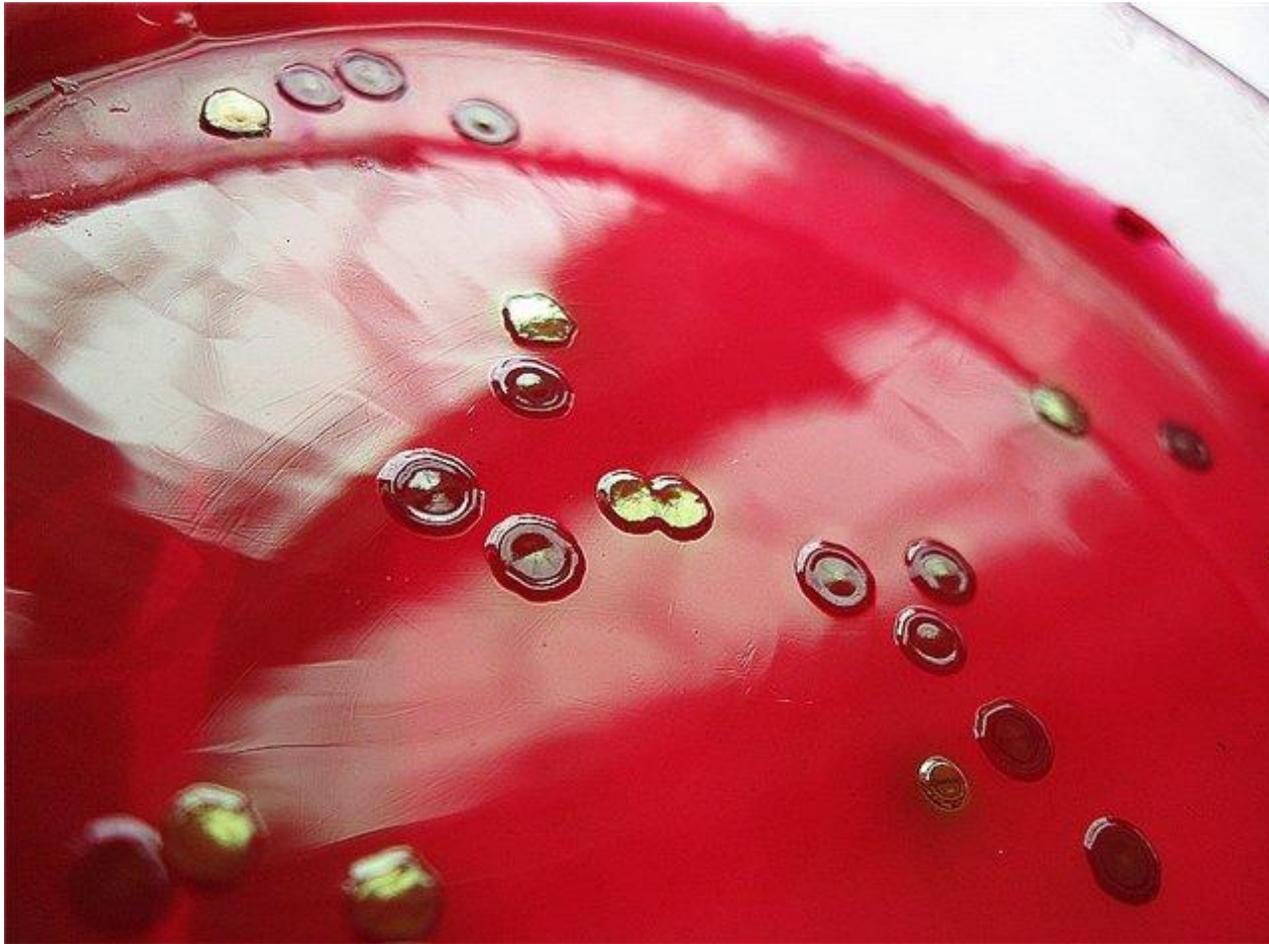
**Мазок из чистой культуры *E. coli*
окраска по Граму**



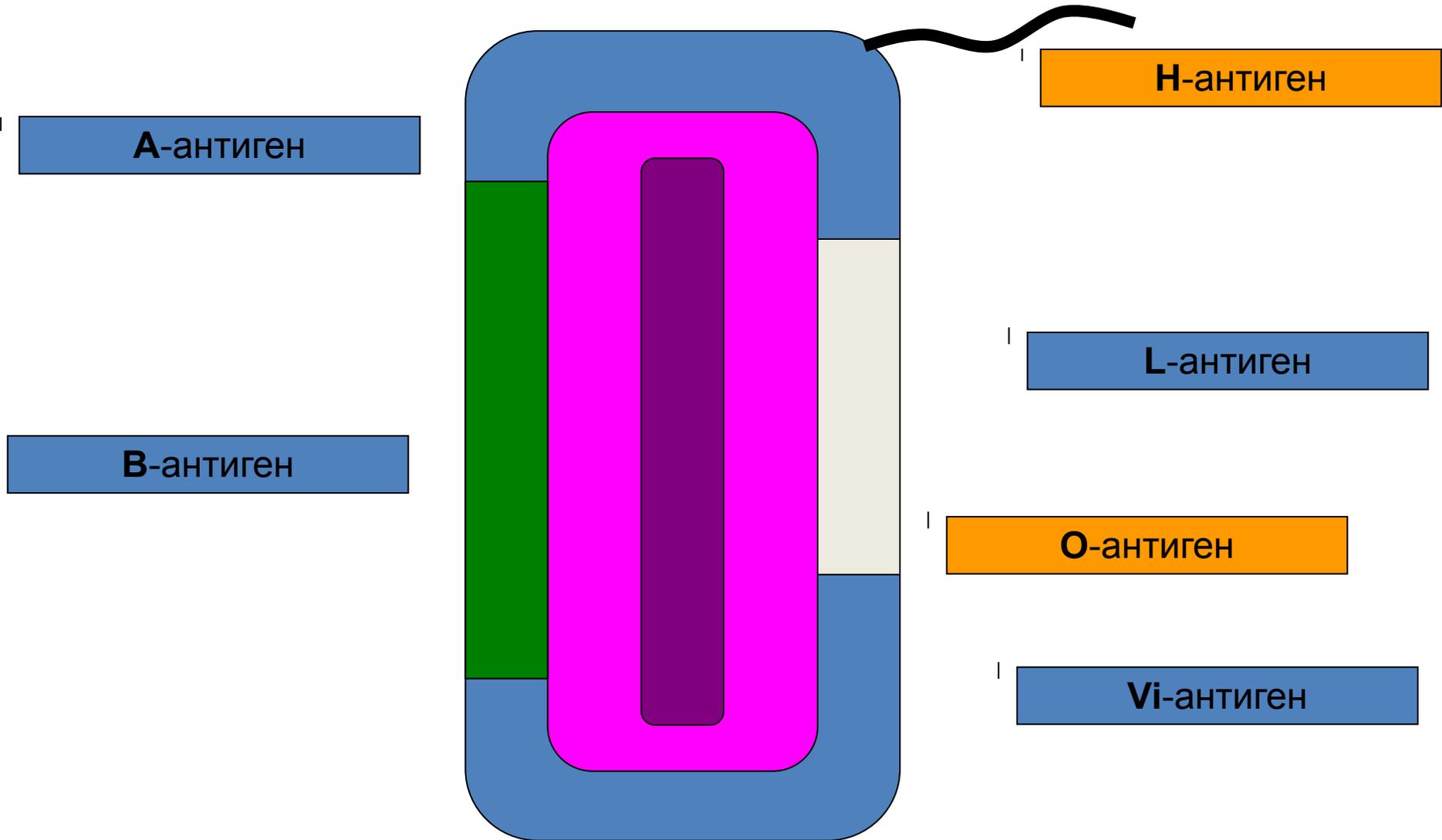
**Электронная
микрофотография
*E. coli***



Рост колоний *E. coli* на среде Эндо



Антигены бактериальной клетки



Факторы патогенности кишечной палочки

Адгезины

Фимбрии
Белки наружной мембраны
Бактериальные
липосахариды

Факторы инвазии

Белки наружной мембраны

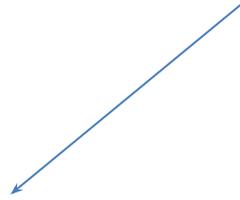
ЭНДОТОКСИНЫ

Ы

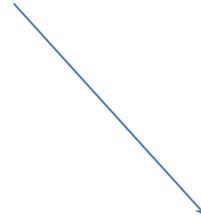
Экзотоксины

1. Цитотонины
 - Термолабильный энтеротоксин (субъединицы А1, А2 и В)
 - Термостабильный энтеротоксин 2 типов
2. Цитотоксины (шигаподобные)

Веротоксины (шигаподобные токсины)



**веротоксины 1
(VT1, SLT1, Stx1)**



**веротоксины 2
(VT2, SLT2, Stx2)**

• ETEC

Энтеротоксигенные
кишечные палочки

- Имеют факторы адгезии, колонизации, **энтеротоксины.**
- Холероподобная диарея.

• ЕРЕС

**Энтеропатогенные
кишечные
палочки**

- Имеют факторы адгезии, **колонизации, ЦИТОТОКСИН.**
- Поражают тонкий кишечник с образованием воспаления и эрозий.

• EIEC

**Энтероинвазивные
кишечные палочки**

- **Разрушают
энтероциты
подвздошной и
толстой кишки.**
- **Заболевание по
типу дизентерии.**

• ЕНЕС

Энтерогеморрагические
кишечные
палочки

Фактор адгезии – **белок
ИНТИМИН,**

**веротоксины
(шигаподобные),
энтерогемолизин.**

- **Вызывают
геморрагический колит,
гемолитикоуремический
синдром**

• EAEC

**Энтероадгезивные
кишечные палочки**

- **Быстро прикрепляются к поверхности клеток.**
- **Цитотоксины не образуют.**

Протокол. Лабораторная диагностика эшерихиозов

День исследования	Исследуемый материал	Что сделать	Результат
1 день	Фекалии больного с подозрением на коли-инфекцию	Посев на чашку со средой Эндо	
2 день	Рост колоний на среде Эндо	1. Характеристика роста 2. Бактериоскопия с окраской по Граму 3. Ориентировочная реакция агглютинации с поливалентной ОВ-коли сывороткой (111:В4, 55:В5, 26:В6, 20:К84) 4. Посевы: на среды Гисса, питательный бульон с индикаторами, скошенный агар	Описание Рисунок Рисунок

<p>3 день</p>	<p>Рост на средах «пёстрого ряда»</p> <p>Рост на скошенном агаре</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Учет биохимические свойства 2. Характеристика роста 3. Бактериоскопия с окраской по Граму 4. Ориентировочная реакция агглютинации с типовыми ОВ-колы сыворотками <ul style="list-style-type: none"> • 111:В4 • 55:В5 • 26:В6 	<p>Описание</p> <p>Описание Рисунок</p> <p>Учет, заключени е</p>
---------------	--	--	--

**Развернутая реакция
агглютинации с живой
и гретой культурой с
типовой
агглютинирующей
сывороткой O26:B6**

**Учет,
заключени
е**

Развернутая реакция агглютинации с типовой ОВ-коли сывороткой O26:B6

А) Реакция для определения В-антигена (В-титр 1:200)

Разведения сыворотки	1:25	1:50	1:100	1:200	Контроль сыворотки (1:25)	Контроль антгена
Диагностическая ОВ-коли сыворотка	1мл	1мл	1мл	1мл	1мл	1 мл Физ.р-р
Взвесь живой культуры	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	-	0,1 мл
Учет						

Б) Реакция для определения О-антигена (О-титр 1:3200)

Разведения сыворотки	1:400	1:800	1:1600	1:3200	Контроль сыворотки (1:400)	Контроль антгена
Диагностическая ОВ-колическая сыворотка	1мл	1мл	1мл	1мл	1мл	1 мл Физ.р-р
Взвесь гретой культуры	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	-	0,1 мл
Учет						

Классификация диареегенных *Escherichia coli*

Категория	Серогруппы	Сероварианты
ETEC	O6, O8, O15, O20, O25, O27, O63, O78, O80, O85, O115, O128ac, O139, O148, O153, O159, O167.	O6:H16, O8:H9, O15:H11, O128:H7, O148:H28, O149:H10, O159:H20 И ДР.
EIEC	O28ac, O29, O124, O136, O143, O144, O152, O164, O167. O55, O86, O111, O119, O125, O126, O127.	O28ac:H-, O124:H32, O159:H2, O167:H4, O167:H5, O124:H30 И ДР.
EPEC	O128ав, O142. O18, O44, O112, O114.	O18ac:H7, O20ав:H26, O26:H-, O55:H6, O55:H7, O114:H10 И ДР.
EHEC	O157, O26, O111, O103, O145.	O157:H7.
EАЕС		Не выяснены.

**Эпидемиологически значимые три группы эшерихий,
продуцирующих шига-токсины (STEC) :**

а) *E.coli* O104:H4, эпидемический штамм, вызвавший вспышку STEC-инфекции в Германии и других странах весной 2011 года

б) *E.coli* O157:H7/O157:H-, основной представитель группы энтерогеморрагических эшерихий;

в) энтерогеморрагические эшерихии, не относящиеся к серовару *E.coli* O157:H7"

Ключевым поражающим фактором этих трех групп эшерихий являются

шига-токсины - Stx1 и Stx2.

Выделение и идентификация эпидемического штамма STEC из клинического материала и пищевых продуктов

Первый день исследований.

Посевы на среды МакКонки и Левина с цефотаксимом и налидиксовой кислотой (на *E.coli* O104:H4) ;
без антибиотиков (на *E.coli* O157:H7/O157:H- и на не относящихся к *E.coli* O157:H7),
селективный агар с сорбитолом (на *E.coli* O157:H7/O157:H-),
SDS-бульон, МакКонки-бульон с цефотаксимом и налидиксовой кислотой и без антибиотиков.
Инкубация 37 °С -18-24 час

Второй день исследований.

1) Со плотных сред отсевают из типичных колоний (*E.coli* O104:H4 *рост на средах с антибиотиками, E.coli* O157:H7/O157:H- *негативные колонии на сорбитол-агаре*) на отдельные сектора чашки с питательным агаром.

Инкубация 37 °С - 18-24 час.

2) Анализ культур с плотных сред, индукция синтеза веротоксинов на питательном бульоне с карбадоксом, с дальнейшим их определением в иммунохроматографических экспресс–тестах.

3) Анализ культур, выросших на бульоне, с помощью диагностической мультиплексной ПЦР-тест-системы, для индикации генов *flic*, *rfb eae*, *stx1*, *stx2* (или только *stx1* или *stx2*).

4) *Высев на плотные среды... в повтор....*

Третий день исследований...

)Используя антительную латексную тест-систему для индикации эшерихий в реакции латексной агглютинации (РЛА) среди выросших на питательном агаре изолятов проводят поиск культур. Положительные изоляты подтверждают в ПЦР.

)Положительные изоляты высевают для характеристики по биохимическим свойствам и чувствительности к антибиотикам

3)*Повторные аналогичные исследования*

Пятый день исследований. Окончательный ответ.