

A microscopic image of a bacterium, likely a vibrio, showing a long, thin, curved body with a prominent, long flagellum extending from one end. The bacterium is stained, showing internal structures and the flagellum. The background is a light, grainy texture.

Лабораторная диагностика холеры.

Дисбактериоз.

ВОЗБУДИТЕЛИ ХОЛЕРЫ

- **СЕМЕЙСТВО** **Vibrionaceae**
- **РОД** **Vibrio**
- **ВИД** **V. cholerae**
- **БИОВАРИ** **V. cholerae asiaticae**
V. cholerae eltor



Классификация вибрионов (по Б.Хайбергу)

Хемогруппа	Манноза	Сахароза	Арабиноза
1	К	К	-
2	-	К	-
3	К	К	К
4	-	К	К
5	К	-	-
6	-	-	-
7	К	-	К
8	-	-	К

АНТИГЕННАЯ СТРУКТУРА ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

Н- антиген

(родоспецифический)

О-антиген

(группо- и типоспецифический)

Фракции О-антигена: А, В, С

Серовары О1-группы:

- ОГАВА (АВ)
- ИНАБА (АС)
- ГИКОШИМА (АВС)

Серовар О139-группы:

- О139 (Бенгал)

Биологические свойства холерных вибрионов

№	Признак	<i>V.asiaticae</i>	<i>V.eltor</i>	<i>V.cholerae</i> O139
1	Чувствительность к полимиксину В (50 ЕД)	+	-	-
2	Чувствительность к классическому холерному бактериофагу С	+	-	-
3	Чувствительность к холерному бактериофагу eltor II	-	+	-
4	Гемолиз эритроцитов барана	-	+	-
5	Агглютинация эритроцитов кур	-	+	+
6	Нитрозоиндоловая			

ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ ХОЛЕРНОГО ВИБРИОНА

- ПОДВИЖНОСТЬ, ХЕМОТАКСИС
- АДГЕЗИЯ И КОЛОНИЗАЦИЯ
- ФЕРМЕНТЫ АГРЕССИИ (МУЦИНАЗА, ПРОТЕИНАЗА, ЛЕЦИТИНАЗА, НЕЙРАМИНИДАЗА)
- ФАКТОР, ПОВЫШАЮЩИЙ ПРОНИЦАЕМОСТЬ КАПИЛЛЯРОВ
- ХОЛЕРОГЕН
- ЦИТОТОКСИН (НЕКРОТИЧЕСКИЙ, ШИГАПОДОБНЫЙ)
- ЭНДОТОКСИН

Бактериологическая диагностика холеры

Материал для исследования:

- клинический: испражнения, рвотные массы, желчь, белье;
- трупный: отрезок тонкой кишки, желчный пузырь;
- окружающая среда: вода, ил, гидробионты, зоопланктон, мухи, смывы;
- пищевые продукты

Протокол. Лабораторная диагностика холеры

Дата	Исследуемый материал	Что сделать	Результат
+6 часов	Рост на 1% пептонной воде	<ul style="list-style-type: none">• Характеристика роста• Нативная бактериоскопия• Бактериоскопия с окраской по Граму• Пересев на чашку со щелочным питательным агаром	<ol style="list-style-type: none">1) Описание2) Оценка подвижности3) Рисунок4) Заключение

**+6 =
12 час**

**Рост на чашке
со щелочным
питательным
агаром**

- **Характеристика
роста**
- **Нативная
бактериоскопия**
- **Бактериоскопия с
окраской по Граму**
- **Ориентировочная РА
с О-І сывороткой**
- **Пересев на среды
Гисса с сахарозой,
маннозой, арабинозой**

1)Описание

**2)Оценка
подвижности**

3)Рисунок

4)Заключение

Развернутая реакция агглютинации с O-I холерной сывороткой

Разведения сыворотки	1:100	1:200	1:400	1:800	Контроль сыворотки	Контроль антигена
Холерная O-I сыворотка, титр 1:800	1мл	1мл	1мл	1мл	1мл	Физ. р-р 1 мл
Взвесь культуры	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	-	0,1 мл
Учет						

**6) Развернутая РА с
О-1 сывороткой**

6) Учет

**7) Развернутая РА с
сыворотками Инаба и Огава**

7) Учет

**8) Посев для определения
биовара:**

-на среду с полимиксином

**-с бактериофагом eltor II и
классическим холерным С**

**9) Пересев на скошенный
щелочной агар**

Развернутая реакция агглютинации с типовыми сыворотками

Разведения сыворотки	1:50	1:100	1:500	1:1000	1:2000	Контроль сыворотки	Контроль антигена
Холерная сыворотка Огава, титр 1:2000	1мл	1мл	1мл	1мл	1мл	1мл	Физ.р-р 1мл
Взвесь культуры	0,1 мл	-	2 капли				
Учет							

Разведения сыворотки	1:50	1:100	1:200	1:400	Контроль сыворотки	Контроль антигена
Холерная сыворотка Инаба, титр 1:400	1 мл	Физ.р-р 1 мл				
Взвесь культуры	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл	-	0,1 мл
Учет						

**+12=
24 часа**

**Рост
культуры
на средах
«пестрого
ряда»**

- Характеристика биохимических свойств**
- Оценка чувствительности к бактериофагам и полимиксину В**
- Заключение по работе**

• Заключение

2) Рисунок

**3)
Заключение**

Питательные среды.

Обогащения:

- 1% пептонная вода pH 8,4 - рост 6-8 часов
- 1% пептонная вода pH 8,4 с теллуридом калия -12-18 часов

Плотные:

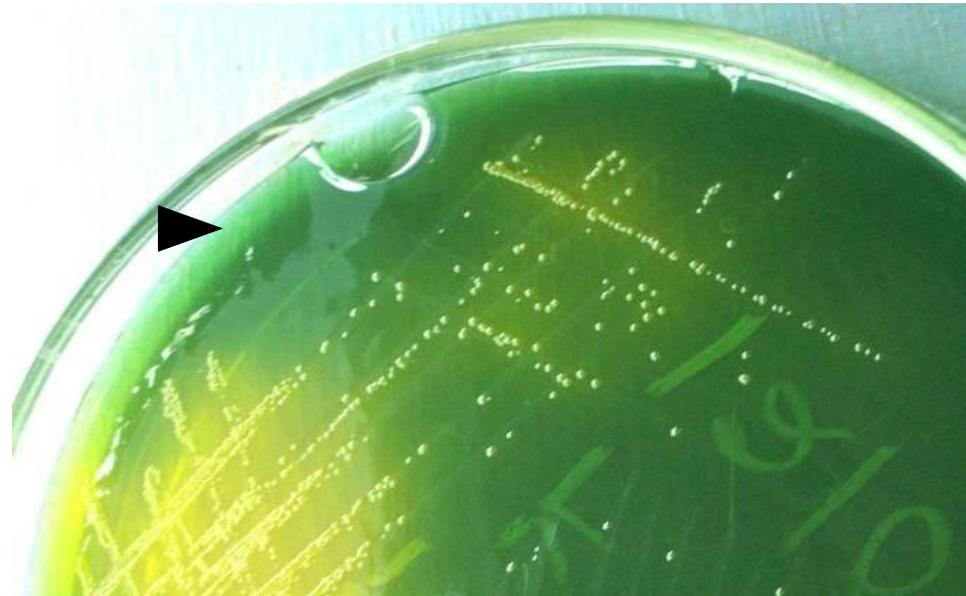
- щелочной питательный агар pH 8,0 10-16 часов
- щелочной дрожжевой питательный агар pH 8,0

Элективные – 18-24 часа:

- СЭДХ
- TCBS состоит из гидролизата рыбной муки, дрожжевого экстракта, сахарозы, цитрата натрия, цитрата железа, хлорида натрия, желчи крупнорогатого скота, тиосульфата натрия, тимолового синего и агара.

Полиуглеводные:

- лактозо-сахарозная
- маннозо-сахарозная



МАТЕРИАЛ

- ЩА,
- Элективная среда

1-я пептонная вода

Экспресс методы:

- МФА
- РИВ
- РНГА
- ПЦР

- ЩА,
- Элективная среда

2-я пептонная вода

ЩА

- Отбор подозрительных колоний,
- РА

- Полиуглеводные среды
- Скошенный ЩА

РА

В лабораторию
ООИ
В эпидситуации –
на месте
по сокращенной
схеме

Сокращенная схема идентификации чистой культуры

Бактериоскопия: по Граму, подвижность
Оксидазный тест
Окисление/ферментация глюкозы в среде Хью-Лейфсона
Ферментация лизина, аргинина, орнитина,
маннита, инозита, лактозы, глюкозы, сахарозы
МФА с O1, O139
РИВ
Рост на полиуглеводных средах
РА с O1, PO, O139
Чувствительность к бактериофагам
Ориентировочная оценка эпидзначимости:
-Гемолитическая активность по Грейгу
-Фаги ctx+ , ctx-

Полная схема идентификации в лаборатории ООИ

Определение биовара
Определение антибиотикограммы
Оценка эпидзначимости:
-ПЦР гены ctx AB и tcp A
-токсигенность (биологическим методом)

Пероральные противохолерные вакцины:

Вакцина WC/rBS — состоит из убитых целых клеток *V. Cholerae* O1 с очищенной рекомбинантной В-субъединицей холерного анатоксина (WC/rBS) — предоставляет 85-90%-процентную защиту во всех возрастных группах в течение шести месяцев после приема двух доз с недельным перерывом.

Модифицированная вакцина WC/rBS — не содержит рекомбинантной В-субъединицы. Необходимо принимать две дозы этой вакцины с недельным перерывом. Вакцина лицензирована только во Вьетнаме.

Вакцина CVD 103-HgR — состоит из аттенуированных живых оральных генетически модифицированных штаммов *V. Cholerae* O1 (CVD 103-HgR). Однократная доза вакцины предоставляет защиту от *V. Cholerae* на высоком уровне (95 %). Через три месяца после приема вакцины защита от *V. Cholerae* El Tor на уровне 65%.

Содержание некоторых бактерий в фекалиях здоровых взрослых лиц (в колониеобразующих единицах на 1 г фекалий)

Бифидобактерии	10^8-10^9
Лактобактерии	10^6-10^7
Бактероиды	10^7-10^9
Эшерихии, лактозопозитивные	10^5-10^7
Эшерихии, лактозоотрицательные	10^5-10^7
Молочнокислый стрептококк	10^5-10^7

Микробиологические критерии дисбактериоза

кишечника

Стадии дисбактериоза	Состав микрофлоры
1 степень	<p>1. Снижение общего количества анаэробной микрофлоры (бактероидов, бифидо- и лактобактерий) до 10^6-10^7 м.кл. в 1г. фекалий.</p> <p>2. Снижение общего количества кишечной палочки, уменьшение количества кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью (до 10^5 м.кл.)</p>
2 степень	<p>1. Снижение общего количества анаэробной флоры до 10^5 м.кл.</p> <p>2. Увеличение количества кишечной палочки. Уменьшение количества эшерихий с нормальной ферментативной активностью, увеличение лактозонегативных форм. Появление гемолитических форм.</p>

<p>3 степен ь</p>	<p>Снижение общего количества анаэробной микрофлоры до 10^3-10^4 м.кл./г.</p> <ul style="list-style-type: none">• Отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью. Повышение числа лактозонегативных и гемолитических форм. <p>Повышение уровня условно-патогенных энтеробактерий (протеи, клебсиеллы, цитробактер и др.), псевдомонад до 10^8 м.кл./г.</p> <p>Увеличение количества золотистых стафилококков, грибов рода <i>Candida</i> – до 10^5-10^8 м.кл./г.</p>
<p>4 степен ь</p>	<ul style="list-style-type: none">• Отсутствие основных представителей анаэробной флоры.• Отсутствие эшерихий с нормальной ферментативной активностью. Подавляющее превосходство условно-патогенных энтеробактерий, псевдомонад, грибов рода <i>Candida</i>, золотистых