

Теория занятия

Сальмонеллы. Возбудители брюшного тифа и паратифов.

Морфология и тинкториальные свойства

Мелкие палочки с закругленными краями, имеют микрокапсулу. Подвижны, за счет перитрихально расположенных жгутиков. Спор не образуют. Гр⁻, в мазках располагаются хаотично.

Биохимические свойства

Salmonella typhi

Лактозу не ферментируют

Глюкозу	} K ⁺ G ⁻	H ₂ S «+» индол «-»
Мальтозу		
Арабинозу		
Маннит		

Salmonella paratyphi A, Salmonella schottmulleri

Лактозу не ферментируют

Глюкозу	} K ⁺ G ⁺	H ₂ S: <i>S. paratyphiA</i> «-» <i>S. Schottmulleri</i> «±» индол «-»
Мальтозу		
Арабинозу		
Манит		

Культуральные свойства

Факультативный анаэроб. Оптимальная температура роста 37°C, pH 7,2-7,4. Хорошо растет на простых питательных средах.

На плотных средах:

- мелкие прозрачные колонии с ровными краями S формы
- сухие, плоские, шероховатые колонии R формы с неровными краями

На жидких средах:

- S формы дают равномерное помутнение
- R формы – осадок

Элективными являются среды, содержащие желчь (желчный бульон)

На дифференциально-диагностических средах:

На среде **Эндо** прозрачные колонии

На среде **Плоскирева** бесцветные плотные мутноватые колонии

Висмут-сульфит агар

Содержит глюкозу, неорганические соли и бриллиантовый зеленый. Дифференцирующие свойства основаны на способности микроорганизма продуцировать H₂S, который вступает в реакцию с цитратом висмута и образует соединение черного цвета – сульфит висмута. Среда ингибирует рост сопутствующей микрофлоры за счет действия бриллиантового зеленого и сульфита натрия.

Сальмонеллы образуют колонии черно-коричневого цвета с металлическим блеском (*S. Paratyphi A* образуют коричнево-зеленые колонии).

Антигенные свойства

- Соматический термостабильный O-аг

выдерживает кипячение в течение 2,5 часов и автоклавирование при 120°C 30 минут.

По O-аг сальмонеллы подразделяются на 65 серогрупп (около 2000 сероваров) Обозначаются большими латинскими буквами A, B, C, D, E, F...

В группах аг обозначаются цифрами. Внутри группы могут быть серовары с одним или несколькими идентичными аг. Специфичным для группы является только один аг.

- Жгутиковый термолабильный H-аг.

По нему проводится дифференциация сальмонелл внутри серовара. У H-аг могут быть 2 фазы: 1 фаза – специфическая (обозначается латинскими буквами); 2 фаза – неспецифическая (обозначается цифрами).

- Vi-аг – разновидность K-аг у *S. typhi* и некоторых других сальмонелл (термолабильный). С этим аг связана вирулентность и устойчивость к фагоцитозу.

Патогенез

Возбудитель проникает через рот, частично гибнет в желудке, попадает в тонкий кишечник. Адгезия на энтероцитах происходит за счет микрокапсулы. Большая часть сальмонелл попадает в пейеровы бляшки, фагоцитируется макрофагами, размножаются в них. Из лимфоцитов возбудитель проникает в общий ток лимфы, затем в кровь, вызывая бактериемию. С кровью проникают в паренхиматозные органы (селезенку, печень, костный мозг, почки), а также в желчный пузырь, в котором активно размножаются (желчь является селективной средой). Затем вновь попадают в лимфатические образования тонкой кишки. В результате повторного попадания сальмонелл развивается своеобразная аллергическая реакция, проявляющаяся воспалением, а затем некрозом лимфатических образований. Возникают язвенные дефекты, может быть прободение кишечника и перитонит. Возбудитель выводится из организма с мочой и калом.

Ферменты: лецитиназа, фосфатаза, фибринолизин. Обладают эндотоксином.

Эпидемиология

Брюшной тиф и паратиф А – антропонозные инфекции

Источник: больные люди
бактерионосители

Источником паратифа В могут также быть больные сельскохозяйственные животные.

Механизм заражения

- фекально-оральный

Путь передачи

Чаще водный, реже алиментарный и контактно-бытовой.

Клиника

Брюшной тиф

Характерна интоксикация, ↑ температуры до 39-40°C к 4-7 суткам. На 3-5 сутки увеличивается печень и селезенка. В разгар болезни (на 7-8 сутки) усиливается интоксикация, характерно помутнение сознания (с греч. *typhi* – дым, туман), бред, галлюцинации. Характерна розеолезная сыпь. Может быть перфорация кишечника, кишечное кровотечение, а также инфекционно-токсический шок, миокардит, пневмония.

Паратиф А

Поражение ЦНС не характерно, течение менее тяжелое. Характерны диспепсические явления, катаральные явления.

Паратиф В

Характерны симптомы менингита, менингоэнцефалита

Иммунитет

Прочный, продолжительный

Лечение

Антибиотикотерапия: ампициллин, аминогликозиды, фторхинолоны

Профилактика

- вакцина, содержащая Vi-аг *S. typhi*

- тифозно-паратифозно-столбнячная вакцина

Диагностика

С первых дней и весь лихорадочный период – кровь

Со 2 недели – сыворотка

С 3 недели – испражнения, моча, желчь

В гемокультуре обнаруживается возбудитель

В сыворотке – антитела

В копро- и уринокультуре – возбудитель

У носителей возбудитель обнаруживается только в желчи.

Практическая работа

Микробиологическая диагностика брюшного тифа.

Материал для исследования: кровь, сыворотка, фекалии, моча, желчь.

Методы исследования: бактериологический, серологический

Протокол выделения гемокультуры

1 день исследования.

У больного берется кровь из локтевой вены и засеивается на желчный бульон или на среду Раппопорта (содержит желчь, глюкозу или манит и индикатор). Кровь вносится в среду в соотношении 1:10.

Термостат, 37°C, сутки.

2 день исследования.



На среде Раппопорта наблюдается изменение цвета среды с желтого на розовый, следовательно углевод (глюкоза), входящий в состав среды ферментируется до кислоты без образования газа.

Для проверки чистоты культуры приготовлен мазок и окрашен по методу Грама.

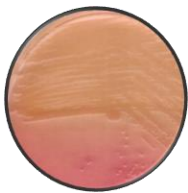


В мазке обнаружены мелкие Гр⁻ палочки, располагающиеся хаотично.

Производится пересев культуры на дифференциально-диагностическую среду Эндо, для определения отношения выделенной культуры к лактозе.

Термостат, 37°C, сутки.

3 день исследования



На среде Эндо обнаружен рост прозрачных колоний округлой формы, следовательно возбудитель не ферментирует лактозу.

Прозрачную колонию пересевают на

- для накопления чистой культуры на скошенный МПА с мочевиной;
- на среду Ресселя для определения способности ферментировать глюкозу и лактозу;
- На среду Пешкова для определения подвижности микроорганизмов.

Термостат, 37°C, сутки.

4 день исследования



На скошенном МПА с мочевиной обнаружен рост культуры в виде прозрачного равномерного налета по штриху. Мочевина не разлагается.



На среде Ресселя изменение цвета нижней части среды на желтый, верхняя часть среды цвет не меняет. Следовательно, исследуемая культура ферментирует глюкозу до кислоты без образования газа, лактозу не ферментирует.

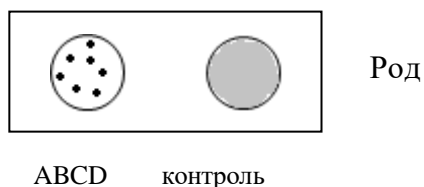


На среде Пешкова наблюдается равномерное помутнение, что свидетельствует о подвижности микроорганизма. А так же изменение цвета среды на малиново-красный, что свидетельствует о ферментации углевода, входящего в состав среды до кислоты без газа.

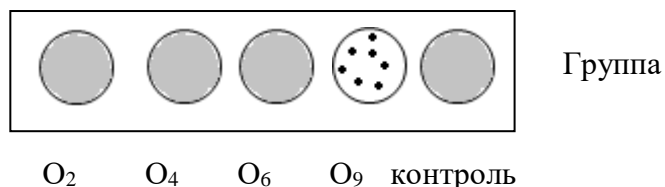
Для проверки чистоты культуры приготовлен мазок и окрашен по методу Грама. В мазке обнаружены мелкие Гр⁻ палочки, располагающиеся хаотично.

– Для сероидентификации возбудителя ставятся следующие реакции:

1. Ставится ориентировочная РА на стекле с поливалентной сывороткой ABCD для определения принадлежности возбудителя к роду сальмонелл.

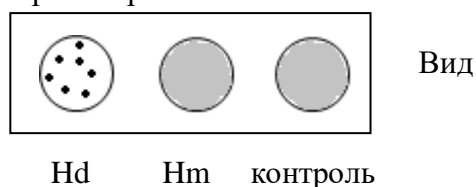


2. Ставится ориентировочная РА на стекле отдельно с каждой сывороткой, входящей в смесь. Сыворотки специфичные для каждой группы А-О₂, В-О₄, С-О₆, D-О₉.



Данный возбудитель агглютинируется сывороткой О₉, следовательно относится серогруппе D.

3. В группу D входит несколько возбудителей, поэтому для определения вида микроорганизма ставится ориентировочная РА на стекле с Н-аг.

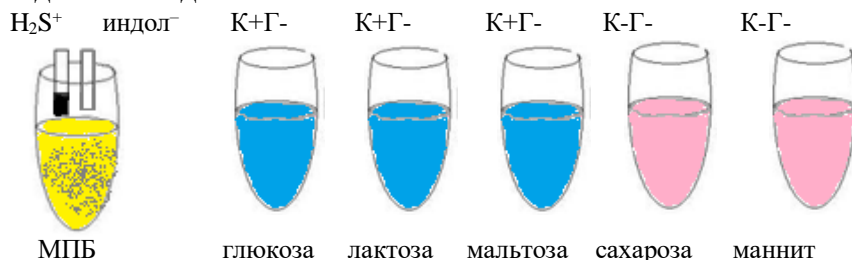


Реакция положительна с Nd-аг.

Для определения биохимических свойств возбудителя производится пересев культуры в цветной ряд.

Термостат, 37°C, сутки.

5 день исследования



На МПБ диффузный рост, помутнение среды. Разлагает белки с образованием сероводорода, индол не образуется. Глюкозу, мальтозу, маннит ферментирует с образованием кислоты без газа. Лактозу и сахарозу не ферментирует.

Серологическая диагностика брюшного тифа и паратифов.

Серодиагностику этих заболеваний осуществляют, начиная со 2 недели болезни, т.к. к этому времени вырабатывается достаточное количество АТ.

Для постановки серологического диагноза используют развернутую РА в пробирках Видаля и РПГА.

Реакция Видаля

У больного берут кровь из вены, готовят сыворотку и делают 4 ряда разведений сыворотки произвольно, начиная с 1:100.

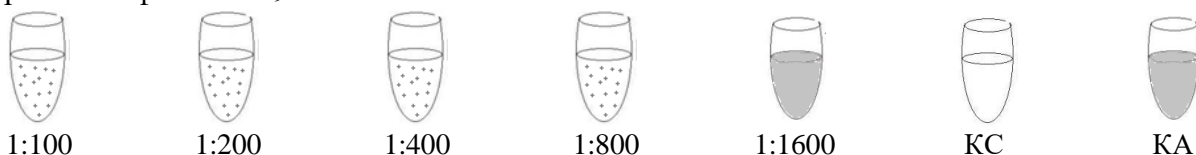
- В пробирки первого ряда добавляют брюшнотифозный О₉-аг.
- В пробирки второго ряда - брюшнотифозный Нd-аг.
- В третий ряд добавляют ОН-аг паратифа А.
- В четвертый ряд - ОН-аг паратифа В.

Пробирки ставят в термостат при 37°С на 2 часа, затем выдерживают при комнатной температуре 18-20 часов и учитывают результат.

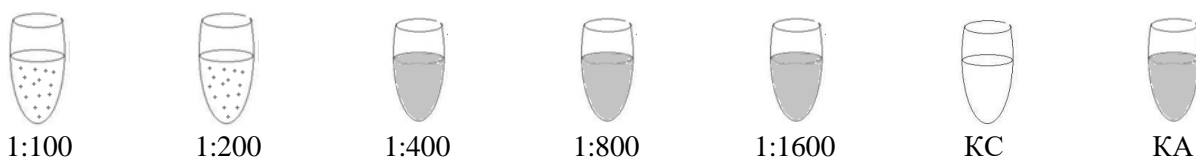
Диагностический титр реакции Видаля 1:200

Было установлено, что у людей, которые болеют в настоящее время преобладают О-ат, а у переболевших и у привитых Н-ат.

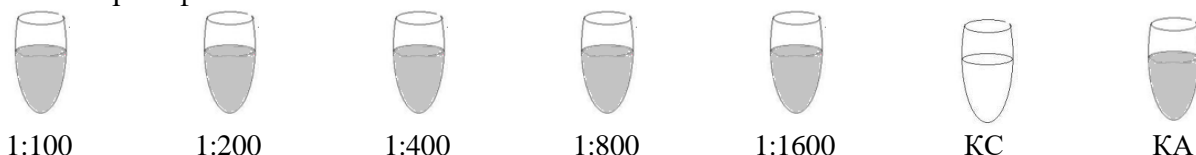
С брюшнотифозным О₉-аг



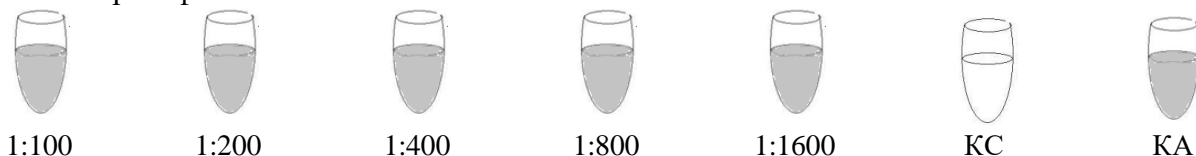
С брюшнотифозным Нd –аг



С ОН-аг паратифа А



С ОН-аг паратифа В



У исследуемого больного:

- реакция «+» с брюшнотифозным О₉-аг в разведении 1:800
- с брюшнотифозным Нd –аг реакция «+» в разведении 1:200
- с ОН-аг паратифа А и В реакция «-»

Т.к. титр О-ат превышает диагностический и превышает титр Н-ат, можно сделать вывод, что пациент болен брюшным тифом.

РПГА

Ставится с сывороткой больного и эритроцитарным диагностикумом (таннизированные эритроциты барана или 0 группы крови человека).

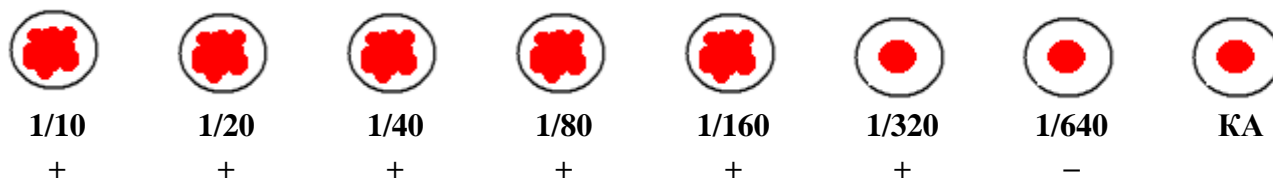
Эту реакцию часто используют для определения бактерионосительства (реакция ставится с Vi-аг). Она позволяет определить небольшие концентрации аг, является более чувствительной, чем реакция Видаля.

«+» реакция характеризуется склеиванием эритроцитов и выпадением их в осадок в виде рыхлого зонтика с неровными краями.

«-» реакция – в виде пуговчатого осадка с ровными краями.

Ориентировочно эту реакцию можно учитывать через 1-2 часа, окончательно через сутки. Диагностический титр реакции 1:40.

Реакция с Vi-аг



Поскольку титр Vi-аг составляет 1:320 и превышает диагностический, то можно сделать вывод, что пациент является носителем брюшного тифа.

Заключение

На основании изученных морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических и антигенных свойств можно сделать вывод о выделении от больного культуры *Salmonella typhi*.