

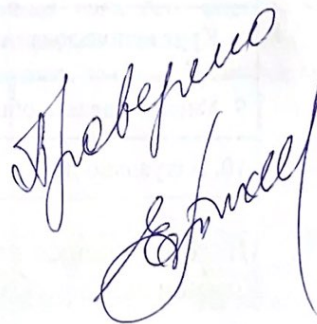
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Высшего образования
“Красноярский государственный медицинский университет имени
профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого”
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО КрасГМУ им проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава
России)

Кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии с курсом ПО

Зав. кафедрой: д.м.и профессор Тихонова Е.П.
Руководитель ординатуры: к.м.и. доцент Кузьмина Т.Ю.

Реферат на тему: Холера

Выполнила: ординатор 2 года
Шишкина Т. П.



2023г

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
Высшего образования
“Красноярский государственный медицинский университет имени
профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого”
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ФГБОУ ВО КрасГМУ им проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России)

Институт последипломного образования

Рецензия доцента КМН кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии с
курсом ПО
Кузьминой Татьяны Юрьевны на реферат ординатора 2-го года обучения
специальности “Инфекционные болезни”

Шишкиной Т.П. по теме “Холера”

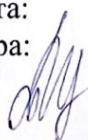
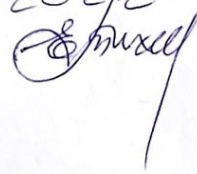
Оценочный критерий	Положительный /отрицательный
1. Структурированность	+
2. Наличие орфографических ошибок	+
3. Соответствие текста реферата по теме	+
4. Владение терминологией	+
5. Полнота и глубина раскрытия основных понятий темы	+
6. Логичность доказательной базы	+
7. Умение аргументировать основные положения и выводы	+
8. Круг использования известных научных источников	+
9. Умение сделать общий вывод	+
10. Актуальность	+

Итоговая оценка: положительная/отрицательная
Комментарий рецензента:

Дата: 10.09.2022

Подпись рецензента:

Подпись ординатора:

Этиология

Возбудитель холеры относится к роду *Vibrio*. Это изогнутая, граммотрицательная, не образующая споры палочка, имеющая один полярно расположенный жгутик. По чувствительности к специфическому фагу (IV тип по Мукерджи) различают два биотипа холерного вибриона — классический (возбудитель азиатской холеры) и Эль-Тор. Каждый из них по 0-антигену подразделяется на 3 серологических типа: Огава (AB), Инаба (AC) и редко встречающийся Гикошима (ABC), который некоторые авторы рассматривают как вариант серотипа Огава. H-антиген холерных вибрионов — общий для всех серотипов.

Холерные вибрионы образуют термолабильный экзотоксин — холероген (относительная молекулярная масса — 82—84 кД). Он состоит из комплекса тяжелой субъединицы А, активирующей аденилатциклазу, и субъединицы В, представленной 4—6 легкими цепями и обеспечивающей связывание холеро-гена с рецепторами эпителиальных клеток тонкой кишки.

Биолого-патогенетические свойства возбудителя

Миновав желудочный барьер, вибрионы попадают в тонкую кишку с благоприятной для них средой и заселяют (колонируют) поверхность кишечного эпителия. Процесс колонизации включает в себя хемотаксис вибрионов к слою слизи, покрывающему верхушки ворсинок тонкой кишки, проникновение через эту слизь, адгезию к рецепторам на исчерченной каемке кишечных эпителиоцитов и размножение на поверхности эпителия ворсинок и крипт. У больных холерой возбудитель может быть обнаружен на всем протяжении желудочно-кишечного тракта. В желудке при pH не менее 5,5 вибрионы не обнаруживаются, в стуле их концентрация достигает 10^6 — 10^7 (иногда 10^8 — 10^9).

Размножившись до определенной концентрации, возбудитель вызывает заболевание посредством вырабатываемого им холерогена. Основную роль в развитии болезни играют вибрионы, которые находятся в тесной связи со слизистой оболочкой тонкой кишки, так как они выделяют холероген в непосредственной близости от его рецепторов на эпителиальных клетках — ганглиозида GM1. После прикрепления холерного токсина к ганглиозиду субъединица А проходит через мембраны внутрь эпителиальной клетки, где происходит высвобождение фрагмента А1. Последний энзиматически расщепляет НАД и передает его АДФ-рибозную половину на регуляторный протеин аденилатциклазного комплекса, находящегося на внутренней стороне мембраны эпителиоцита. В результате происходит активация аденилатциклазы, приводящая к повышению содержания цАМФ — одного из внутриклеточных стимуляторов кишечной секреции. Связывание холерного токсина с рецепторами на эпителиальных клетках происходит чрезвычайно быстро (через 1—3 мин); биохимические изменения в клетке являются необратимыми.

Возникающее заболевание сопровождается потерей огромных количеств жидкости с низким содержанием белка и высокой концентрацией ионов натрия, калия, хлоридов, гидрокарбонатов. Эта жидкость по составу отличается как от экссудата, так и от трансудата и ближе к составу кишечного секрета.

Восприимчивость

К холерному вибриону восприимчивы люди всех возрастов. Чаще и тяжелее болеют холерой лица, злоупотребляющие алкоголем или перенесшие резекцию желудка. Кислотность желудочного сока играет важную роль в определении минимальной инфицирующей дозы — в опытах на добровольцах при нейтрализации желудочного сока гидрокарбонатом натрия количество вибрионов, необходимых для воспроизведения специфического процесса у человека, уменьшается с 10^8 до 10^4 — 10^6 микробных клеток.

Клинические особенности

Инкубационный период при холере длится от 1 до 5 дней. Клинические проявления холеры весьма варьируют, и тяжесть клинического течения определяется степенью обезвоживания. Заболевание начинается обычно внезапно. Первым клинически выраженным признаком холеры является понос. Типичные холерные испражнения представляют собой водянистую, мутновато-беловатую жидкость с плавающими хлопьями, напоминают по внешнему виду рисовый отвар и не имеют запаха. Мышечная слабость и судороги в икроножных мышцах — ранние симптомы холеры. Вслед за жидким стулом появляется обильная повторная рвота, быстро приводящая к декомпенсированному эксикозу. Кожные покровы становятся цианотичными, холодными на ощупь, черты лица заостряются, глаза и щеки западают. Кожа кистей рук морщинистая («руки прачки»), голос сиплый, вплоть до афонии. У больных с тяжелой формой холеры отмечается гипо-термия. Из-за ее постоянства терминальная форма холеры (IV степень дегидратации) получила название «алгидная». Алгид (декомпенсированное обезвоживание) сопровождается нарушением деятельности основных систем организма — сердечно-сосудистой, дыхательной, мочевыделительной.

Иммунологическая диагностика

Обнаружение антигена. Возбудитель холеры и его специфические антигены (корпускулярный, растворимый, холероген) выявляют в фекалиях, рвотных массах, крови, дуоденальном и кишечном содержимом, желчном пузыре, в объектах окружающей среды (смывы с различных предметов), в воде открытых водоемов, сточных водах, гидробионтах и др.

Из современных методов индикации антигенов холерного вибриона наибольшее распространение получила РНГА, чувствительность которой с антительными эритроцитарными диагностикумами составляет 10^5 — 10^{11} бактерий в 1 мл или 0,04 мкг/мл O-антигена. При клинически выраженных формах холеры, когда в испражнениях больных содержится огромное количество вибрионов (10^7 — 10^9 в 1 мл), прямое исследование фильтратов прогретых на водяной бане испражнений в РНГА с антительным диагностикумом позволяет дать ответ о наличии специфического антигена уже через 2—3 ч. Рвотные массы больных, испражнения вибрионосителей и контактных лиц, содержащие меньшее количество вибрионов, целесообразно исследовать после предварительного 6-часового подращивания на 1% пептонной воде. При исследовании испражнений и рвотных масс оказалось, что лишь в 52% случаев диагноз холеры был подтвержден бактериологически у больных, в анамнезе значительной части которых имелось указание на употребление антибиотиков при появлении первых признаков заболевания. С помощью РНГА заболевания холерой удалось дополнительно установить еще у 21 % больных [Поляков И. И. и др., 1973]. При исследовании испражнений, содержимого кишечника и желчного пузыря умерших от острых кишечных заболеваний, испражнений здоровых лиц и проб воды обычно в практических условиях наблюдали полное совпадение результатов серологического и бактериологического методов исследования, что позволяет считать РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом достаточно надежным экспресс-методом при массовом обследовании на холеру.

Некоторыми авторами при индикации специфических антигенов холерного вибриона отдается предпочтение РТНГА. Холерные диагностикумы для этой реакции готовят из бараньих или человеческих O (I) группы эритроцитов, сенсibilизированных холерными O- антигенами. Чувствительность метода — 10^4 — 10^6 бактерий в 1 мл при исследовании нативных испражнений и 10^1 — 10^5 — после предварительного подращивания. Минимальное количество O- антигена, выявляемого с помощью РТНГА, равно 0,04—0,16 мкг/мл. РТНГА дает положительные результаты у 91% больных холерой, у 40% ре-конвалесцентов и 12% контактировавших с

больными, 0-антиген холерного вибриона может быть определен через 1 мес от начала заболевания в фекалиях у всех переболевших людей, а спустя 5—6 мес — у половины обследованных, что, по-видимому, свидетельствует о более длительной экскреции специфического антигена в нежизнеспособной форме. Совпадение результатов бактериологического метода и РТНГА, по различным данным, наблюдается в 63—100% случаев. Имеющиеся материалы дают основание считать целесообразным широкое испытание РТНГА.

Положительную оценку при диагностике холеры получил МФА, позволяющий выявлять холерные вибрионы при содержании их не менее 10^6 в 1 мл. Использовать МФА целесообразно при исследовании нативного материала от больных и трупов. У больных холерой положительные результаты с помощью МФА были получены в течение 2 ч в 70—90% наблюдений при полном совпадении с результатами бактериологического анализа. Применение МФА при исследовании воды и смывов возможно лишь после предварительного подращивания или концентрирования материала. Представляется перспективным использование иммунотушевой окраски холерных вибрионов.

Для выявления антигенов холерного вибриона применяют агрегат гемагглютинационную пробу (АГГ). В основе её лежит использование для агрегации и фиксации белков иммунной сыворотки на эритроцитах химического вещества из группы диазосоединений в виде препарата диазоль черного С. Эритроциты, сенсibilизированные агрегированными белками холерной 0-сыворотки, обладают высокой специфичностью и чувствительностью. С их помощью удается определить 0,01—0,005 мкг/мл «цельного» раствора ренного антигена, приготовленного по методу Буавена, и 4000—480 000 клеток холерного вибриона в микробных взвесах. Это позволяет считать АГГ одним из наиболее чувствительных иммунологических методов, который оправдал себя при обследовании людей. С помощью АГГ 0-антиген холерного вибриона обнаружен в 88,2% больных холерой и 78,3% вибрионосителей, причем в титрах 1 : 40 и выше 0-антиген определен у 76,1% больных и у 57,1% вибрионосителей. Серологически активный компонент эндотоксина обнаруживают в высоких титрах, чаще у тяжелых больных и в первые 3—5 дней болезни. В период реконвалесценции количество антигена в сыворотке крови снижается, но у 33% больных он сохраняется до 20—25 дней [Покровский В. И., Малеев В. В., 1978]. Для определения холерогена, помимо биопроб, используют и иммунологические методы — РНГА и АГГ. В опытах с бесклеточными супернатантами культур холерных вибрионов порог чувствительности обоих методов составлял 0,01—0,005 мкг/мл.

Антительный ответ. Инфицирование человека холерным вибрионом ведет к местному и системному ответу. Клинически выраженное заболевание холерой сопровождается ростом уровня сывороточных антимикробных (агглютинирующих и вибриоцидных) и токсиннейтрализующих антител, как правило, уже к концу 1-й недели после появления симптомов болезни. Агглютинины к холерному вибриону к 4-му дню заболевания выявляют у 35,7% больных, на 8-й день — практически у всех (98,6%). Уровень агглютининов достигает максимума на 2-й неделе заболевания (на 11—15-й день титры, равные 320 и выше, регистрируют у 71% больных), а затем резко падает. Титры вибриоцидных антител также увеличиваются к 8—10-му дню заболевания и после 3 нед (иногда несколько раньше) начинают снижаться, достигая первоначального уровня через 2—7 мес. У детей до 4 лет падение титра вибриоцидных антител происходит быстрее, чем в старшей возрастной группе (5—14 лет), достигая исходного уровня уже через 3 мес. Динамика титров токсиннейтрализующих антител имеет сходный характер — появляясь в конце 1-й недели, они достигают максимума между 2-й и 3-й неделями, а с 21-го дня снижаются.

Содержание сывороточных IgM и I gG на протяжении болезни сопоставимо с аналогичными показателями в контрольной группе, хотя есть данные об увеличении уровня IgM

в острой стадии и снижении его в период реконвалесценции. Некоторые исследователи не установили разницы в содержании IgA при поступлении больных в стационар и в стадии реконвалесценции; другие отмечают повышение его уровня у переболевших [Покровский В. И., Малеев В. В., 1978; Адамов А. К., 1981]. Сказанное не дает достаточных оснований утверждать, что изменение уровня сывороточных иммуно-глобулинов при холере носит специфический характер.

Специфическая активность иммуноглобулинов различных классов зависит от формы и длительности инфекционного процесса при холере. Антитела в сыворотке крови переболевших относятся, преимущественно к IgM. У вибрионосителей продуцируются, наоборот, высокоактивные IgG-антитела. Активность IgA-антител в сыворотке крови вибрионосителей незначительно выше по сравнению с больными. Чем тяжелее протекает заболевание, тем выше активность продуцируемых антител, относящихся к иммуноглобулинам класса M, и ниже активность IgG-антител.

Самым простым и легко воспроизводимым методом определения антимикробных антител является РА с живыми культурами холерного вибриона, но чувствительность этой реакции ограничена. Диагностические титры (1 : 40 и выше) появляются, как правило, к концу 1-й недели заболевания, но лишь у 19,7% больных холерой. Исследование парных сывороток, полученных с интервалом 7—10 дней при наличии 4-кратного и более нарастания титров антител увеличивает частоту положительных результатов до 89,6%

Гораздо большее значение придается в настоящее время выявлению вибриоцидных антител. Вибриоцидный тест (ВТ) является более чувствительным в сравнении с РА, давая высокие титры, особенно у реконвалесцентов холеры (до 1 : 100 000). Нужно, однако, иметь в виду, что вибриоцидные антитела (титры до 1:1000) могут обнаруживаться и в сыворотках невакцинированных здоровых людей, никогда не болевших холерой, и у лиц, инфицированных бруцеллами, *Yersinia enterocolitica* 09, цитробактером. Агглютинины относительно меньше чувствительны к такой неспецифической стимуляции. Как и РА, ВТ позволяет регистрировать подъем специфических антител (4-кратный и более) у 90—95% больных с бактериологически подтвержденным диагнозом холеры [Watanabe Y., 1974].

В качестве антигена в РА и ВТ используют холерные вибрионы обоих серотипов. При необходимости пользоваться одним предпочтение отдают серотипу Огава, который чаще, чем Инаба, вступает в перекрестные реакции с гетерологичным серотипом холерного вибриона и реже дает неспецифические реакции с микробами других семейств.

Хотя эти серологические реакции являются наиболее чувствительными, необходимость применения в них живых вибрионов создает определенные трудности при массовых обследованиях. Поэтому наибольшего внимания заслуживают антигенные эритроцитарные диагностикумы, которые позволили внедрить в практику РНГА и РТНГА. Эти реакции обладают достаточной чувствительностью и специфичностью, позволяя обнаруживать антитела у больных и переболевших холерой в титрах 1 : 640—1 : 1280. Наблюдаемые различия в титрах при параллельном использовании РНГА и ВТ обусловлены главным образом различиями в физико-химической природе выявляемых антител: IgG-антитела более эффективно обнаруживают бактерицидным методом (ВТ), IgM-антитела — в РНГА.

Для выявления антитоксинов в сыворотках применяют РН, результаты которой учитывают по отсутствию холерогенного эффекта в перевязанной петле тонкой кишки взрослых кроликов, в кишечнике крольчат-сосунков, на коже морских свинок (кроликов) в опытах *in vivo* и по отсутствию цитотоксического действия в культуре клеток СНО и Y-1 — в опытах *in vitro*. Наиболее стандартизованы кожная проба и модель перевязанной кишечной петли. У 73% больных в эндемичном по холере районе с помощью кожной пробы выявлено диагностически значимое 9-кратное и большее увеличение титров токсиннейтрализующих антител. Частота

сероконверсии вибриоцидных антител и агглютининов в этой же группе больных была выше и составила 98 и 88% соответственно [Watanabe Y., 1974].

Анализ титров антитоксических антител при диареях нехолерной этиологии показал, что в пробах сывороток, взятых в острой стадии болезни, они колебались от $\ll 10$ до 270, но значимое нарастание титров в период реконвалесценции было отмечено лишь у 2,5% больных. Обладая высокой специфичностью, метод определения токсиннейтрализующих антител несколько уступает по чувствительности методам определения вибриоцидных и агглю-

тинирующих антител. Высокой разрешающей способностью обладают ИФМ и РИМ, использующие меченный энзимом или радиоактивным веществом антиген и позволяющие определять связывание 0,001—1 нг иммунного белка исследуемой сыворотки. Титры антитоксических антител, регистрируемые ИФМ, выше титров, которые определяются с помощью внутрикожного теста, что обусловлено различиями в выявляемых классах иммуноглобулинов: кожный тест документирует нейтрализующую активность только IgG-антител, вероятно, в силу их большей авидности, в то время как ИФМ регистрирует и уровень IgM-антител.

Таким образом, изучение титров и динамики нарастания циркулирующих антител в сыворотках крови больных при холере расширяет возможности ее лабораторной диагностики. Ретроспективный диагноз холеры с большей степенью вероятности может быть установлен в РА и ВТ, но лишь на основании изучения парных сывороток больных. Определение уровня антитоксина полезно в тех случаях, когда необходимо исключить предшествующую специфическую вакцинацию, так как антитела этого типа не индуцируются существующими холерными вакцинами и очень редко встречаются у здоровых людей. Однако подъем антитоксических титров у больных на фоне диагностически значимой сероконверсии вибриоцидных и агглютинирующих антител повышает достоверность серологической диагностики холеры.

Возникновение патологического процесса, вызванного холерными вибрионами, ведет к появлению антител к этим микроорганизмам и во внешних секретах пищеварительного тракта — интестинальной жидкости (ко-проантитела) и слюне. Отличительной чертой динамики копроантител является их раннее появление (у 72% — на 2—3-й день болезни, у 100% — на 4-й день) и быстрое исчезновение из кишечного содержимого. В интестинальной жидкости выздоравливающих от холеры людей антитела против вибрионов относятся к иммуноглобулинам А, G и M, но преобладающими являются SIgA-антитела, количество которых у больных холерой возрастает примерно в 30 раз, но составляет около 1/4 того, что наблюдается у больных диарейными заболеваниями нехолерной этиологии. Последнее связано с адсорбцией SIgA на холерных вибрионах, что приводит к стойкому снижению количества вибрионов в стуле больных и сокращает продолжительность их выделения из кишечника. Концентрация этого иммуноглобулина и время его появления в кишечном содержимом не связаны с сывороточным IgA. Количество IgG- и IgM-антител в кишечном содержимом реконвалесцентов холеры также увеличивается (в 5—7 раз), но в фекалиях антитела класса IgM не обнаруживают.

Для обнаружения антител в интестинальной жидкости и фекалиях больных могут быть использованы ВТ, РИМ с холерными антигенами, мечеными радиоактивным йодом, непрямой флюоресцентно-серологический метод. Нарастание специфических антител указывает на наличие заболевания холерой. Однако кишечно-копрологическая диагностика холеры еще недостаточно разработана.

В слюне больных и вибрионосителей повышен уровень IgA и IgG. Одновременно появляются и специфические антитела (агглютинины), содержание которых у больных холерой выше, чем у вибрионосителей (30 АЕ и 14 АЕ соответственно). Диагностический титр

специфических агглютининов слюны может оказаться значительно ниже сывороточного.

Определению состояния повышенной чувствительности при холере в реакции ГЗТ посвящены единичные работы. Описаны положительные аллергические реакции у 89% переболевших холерой и вибрионосителей (при отсутствии их в контрольной группе) в ответ на внутрикожное введение аллергена из убитых холерных вибрионов. Однако имеющихся данных недостаточно, чтобы высказать суждение об аллергической перестройке организма при холере или о диагностической значимости применяемых тестов.

Иммунитет

После болезни у человека вырабатывается выраженный иммунитет, который сохраняется длительное время, поэтому случаи повторных заболеваний холерой крайне редки. Опыты на добровольцах показали, что в течение 3 лет (срок наблюдения) люди, переболевшие холерой в результате экспериментального заражения, оставались устойчивыми к повторному заражению холерными вибрионами [Levine M. et al., 1981].

Основная роль в иммунитете к холере принадлежит антителам, продуцируемым местно (в кишке), хотя определенный вклад в защиту вносят циркулирующие антитела при высоких их концентрациях, когда они проникают в просвет кишки из крови, что подтверждено экспериментами на животных. Более высокий уровень защиты наблюдается при синергическом действии антибактериальных и антитоксических антител в кишке. Основная роль антибактериальных SIgA состоит в том, чтобы препятствовать хемотаксису вибрионов к эпителию и прилипанию их к поверхности слизистой оболочки кишечника в результате блокирующего действия на структуры для прилипания (лиганды) на поверхности бактериальных клеток. Снижение колонизации и адгезии холерных вибрионов способствует более быстрому их выведению из кишечника при перистальтике и тем самым уменьшает возможность приживания возбудителя в кишечном тракте.

Действие кишечных IgA-антител против холерогена обусловлено главным образом блокадой его В-субъединицы, что препятствует связыванию токсина с ганглиозидом GM1 на поверхности эпителиоцитов. Антитела, блокирующие токсический сайт на А-субъединице холерогена, оказывают меньшее защитное действие.

Список использованной литературы

1. Л.Б. Хазенсон, Н.А. Чайка: Иммунологические основы диагностики и эпидемиологического анализа кишечных инфекций. «Медицина», 1987.
2. В.Д. Тимаков, В.С. Левашев, Л.Б. Борисов: Микробиология. «Медицина», 1983.
3. Лекция по теме.
4. Методическая разработка кафедры.