

ОРД-ХИР-22

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

«Северо-Осетинская государственная медицинская академия»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)

Кафедра микробиологии

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

По- микробиологии

основной профессиональной образовательной программы высшего образования –
программы ординатуры по специальности 31.08.67 Хирургия,
утвержденной 30.03.2022 г.

Владикавказ, 2022

Методические материалы предназначены для обучения работы ординаторов по специальности 31.08.67 Хирургия
ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России
по дисциплине микробиология

Составитель:

Доцент каф. микробиологии ФГБОУ ВО СОГМА,
к.м.н. Чертокоева М.Г.

Рецензенты:

Л.В. Бибаева –д.м.н., профессор, зав. кафедрой биологии и гистологии ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России.

Ф.Т. Бекузарова – начальник отдела эпид. надзора Управления Роспотребнадзора по РСО-Алания.

ПЕРЕЧЕНЬ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ:

- 1.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для ординаторов по специальности 31.08.67 Хирургия.
- 2.Сборник методических разработок по микробиологии, вирусологии и иммунологии для преподавателей (по специальности 31.08.67 Хирургия).

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

МИКРОБИОЛОГИЯ

Учебно-методическое пособие для ординаторов по специальности: «Хирургия»

ВЛАДИКАВКАЗ

Занятие №1.

ТЕМА: ВИРУСЫ–ВОЗБУДИТЕЛИ КРОВЯНЫХ ИНФЕКЦИЙ

(возбудители гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, возбудители клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
2. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита, арбовирусных инфекций.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г,ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
5. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

- 1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
- 2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
- 3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций (демонстрация).

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°С инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°С около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°С в течение 60 минут, прогревании при 60°С в течение 10 часов.

Механизм передачи инфекции — парентеральный. Заражение происходит естественным (половой, вертикальный, бытовой) и искусственным (парентеральным) путями. Вирус присутствует в крови и различных биологических жидкостях — слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, менструальной крови и др. Контагиозность (заразность) вируса гепатита В превышает контагиозность ВИЧ в 100 раз.

Наибольшее значение раньше повсеместно имел именно парентеральный путь — заражение при лечебно-диагностических манипуляциях, сопровождающихся нарушением целостности кожного или слизистого покрова через медицинский, стоматологический, маникюрный и прочий инструментарий, трансфузии крови и её препаратов.

Патогенез. Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.

Инкубационный период (время с момента заражения до появления симптомов) гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идет скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности. Некоторые исследователи полагают, что бессимптомное течение, безжелтушная форма и «желтушный» гепатит составляют равные по количеству пораженных лиц группы. То есть выявленные диагностированные случаи острого гепатита В составляют только одну треть всех случаев острого гепатита.

Вакцинация. Обязательная вакцинация. С недавнего времени вакцинация против гепатита В была включена в обязательный календарь прививок. Новорожденные наиболее чувствительны к вирусу гепатита В – в случае инфицирования в этом возрасте, риск приобретения хронической формы гепатита В составляет 100%. В то же время иммунитет, создаваемый вакциной в этот период жизни, наиболее стойкий. Рекомендовано прививать новорожденного еще в родильном доме, затем через 1 месяц после первой прививки, и через 6 месяцев после первой прививки (так называемая схема 0-1-6). При пропуске очередной инъекции следует помнить о допустимых интервалах - 0-1(4)-6(4-18) месяцев. Однако если были пропущены допустимые интервалы, необходимо продолжать вакцинацию по схеме, как если бы пропуска не было. Если вакцинация проведена по стандартной схеме, повторная вакцинация обычно не требуется, поскольку иммунитет сохраняется по меньшей мере в течение 15 лет. Для определения, насколько долго сохраняется иммунитет в течение жизни, необходимы дальнейшие исследования – ведь вакцинация начала применяться относительно недавно. Только после проведения всего курса вакцинации, достигается почти 100%-ый иммунитет. Около 5% общей популяции не отвечает на вакцинацию, в этих случаях следует использовать другие виды вакцин против гепатита В.

Лабораторная диагностика ГВ - основана на выявлении специфических для ГВ антигенов и соответствующих антител в крови, а также вирусных нуклеиновых кислот, основными из которых являются:

HB sAg - анти-HB s
анти-HBc класса Ig M и IgG
HBe Ag - анти-HBe
ДНК ВГВ

Наиболее широко в диагностике ГВ используется определение HBsAg. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании (однако острая инфекция обычно подтверждается наличием высоких титров анти-HBc IgM). При остром ГВ поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистенция HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет

предположить хроническое носительство вируса. Элиминация HBsAg и появление антител к нему является неременным условием выздоровления. Серологическими маркерами репликации ВГВ являются - анти-HBc класса IgM, HBeAg, ДНК и ДНК-полимераза, которые обнаруживаются при остром ГВ с первых дней клинических проявлений и могут обнаруживаться при обострении хронического ГВ. Серологические маркеры репликации ВГВ определяют как в целях общей диагностики, так и для оценки эффективности применяемой терапии.

Вирус гепатита Д (HDV) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. HDV представляет собой сферическую частицу, в центре которой находится сферический антиген (HD-Ag), содержащий РНК. Наружная оболочка частицы образована поверхностным антигеном вируса гепатита В - HBs антигеном (HBsAg). HDV не может существовать без репликации HB- вируса, поэтому его называют вирусом - паразитом, или дефектным вирусом. Вирус гепатита В выполняет при этом хелперную функцию, то есть роль помощника для размножения HDV. Поэтому HDV - инфекция протекает всегда вместе с HBV- инфекцией. HDV располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. HDV- инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции HDV в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к HDV выделяются в различных регионах у 2-7 % больных, а при хронических гепатитах - у 9-50 % больных. На территории бывшего СССР среди “здоровых” носителей HBsAg наибольшая частота (10-20 %) обнаружения антител к HDV выявлена в Молдове, Казахстане, Средней Азии, Туве, то есть в районах, гиперэндемичных по ВГВ. В европейской части России частота выявления антител к HDV составляет 1,2-5,5 %.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим ВГД, вирусоносители, а также носители антиHDV, так как известно, что у лиц с антиHDV одновременно можно обнаружить РНК- HDV. Передача HDV происходит так же, как и при ВГВ (парентеральным, половым путем, от матери плоду). К дельта -инфекции восприимчивы лица, не болевшие ВГВ (то есть не имеющие антиHBs), а также носители HB- вируса (здоровые носители HBsAg и больные хроническим ВГВ). Дельта- инфекция возникает как спорадически, так и в виде вспышек.

Патогенез, клиника. Инфекционный процесс, обусловленный HDV, проявляется прежде всего появлением HD-Ag в крови. Дельта -антигемия может быть кратковременной или продолжительной в зависимости от того, как происходило инфицирование и имеется ли интегрирование HB- вируса в геном гепатоцита. Различают острое, затяжное и хроническое течение дельта- инфекции. Характер ее течения лимитируется продолжительностью HBs- антигемии: по мере ее истощения прекращается и синтез HDV, и завершается дельта- зависимый патологический процесс.

Дельта- инфекция развивается в виде коинфекции или суперинфекции. При коинфекции происходит одновременное заражение HBV + HDV у лиц, не болевших ранее HBV - инфекцией (не имеющих до инфицирования маркеров HBV - инфекции). В этом случае развивается острый ВГВ+ВГД- гепатит с появлением серологических маркеров сразу двух острых инфекций. При коинфекции репликация HBV чаще всего ВГВ+ВГД - гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции HDV - инфекция наслаивается на текущую HBV- инфекцию у здоровых носителей HBsAg, у реконвалесцентов основного ВГВ, у больных хроническим ВГВ. При этом развивается клиника острого вирусного гепатита дельта, сопровождающегося появлением антител к дельта- антигену.

Лабораторная диагностика гепатита Д (ГД) Вирус гепатита Д (ВГД) – это дефектный вирус, содержащий одно-спиральную РНК, которому для репликации необходимо помощь вируса ГВ для синтеза оболочечных белков, состоящих из HBsAg, который используется для инкапсуляции генома ВГД. ВГД не принадлежит ни к одному

из известных семейств вирусов животных, по своим свойствам ВГД наиболее близок к вироидам и сателлитным вирусам растений. Лабораторная диагностика осуществляется путем обнаружения серологических маркеров ВГД, включая наличие антигена, антител к нему и РНК ВГД. Обнаружение антигена ВГД и РНК ВГД в сыворотке крови или ткани печени свидетельствует о наличии активной ГД-инфекции, однако, следует отметить, что эти маркеры могут не обнаруживаться в сыворотке больных фульминантным ГД. Маркером активной репликации ВГД также является анти-ВГД класса IgM. Серологические маркеры инфекции ГД зависят от того, как был приобретен вирус – в виде коинфекции с ВГВ (у большинства больных заболевание имеет острое течение и заканчивается выздоровлением) или суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией (протекает тяжелее, чем коинфекция - в 10% развивается фульминантный гепатит). При суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией серологическая картина имеет следующие характерные особенности: – титр HBsAg снижается к моменту появления антигена ВГД в сыворотке; - антиген ВГД и РНК-ВГД продолжают определяться в сыворотке, так как обычно у большинства пациентов с суперинфекцией ГД (70-80%) развивается хроническая инфекция, в отличие от случаев коинфекции; - определяются высокие титры антител (анти-ВГД) как класса IgM, так и IgG, которые сохраняются неопределенное время. Серологические маркеры вируса ГД определяют методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа, а РНК-ВГД - методом полимеразной цепной реакции.

Гепатит С — антропонозное вирусное заболевание с парентеральным механизмом заражения, наиболее часто протекающее в виде посттранфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и склонное к хронизации.

Гепатит С называют «ласковым убийцей» из-за способности маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний.

Парентеральный вирусный гепатит С вызывается РНК-содержащим вирусом с размером вириона 30-60 нм, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирусные частицы HCV имеют оболочку, содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам вируса гепатита С. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и анти-HCV антителами, имеют диаметр 60-70 нм. При электронно-микроскопическом изучении на поверхности вириона выявлены хорошо выраженные выступы высотой 6-8 нм.

Источником инфекции являются больные с активным гепатитом С и латентные больные — носители вируса. HCV-инфекция является инфекцией с парентеральным механизмом заражения — через инфицированную кровь и её компоненты. Инфицирование возможно при парентеральных манипуляциях, в том числе в медицинских учреждениях, включая оказание стоматологических услуг, через инъекционное оборудование, при акупунктуре, пирсинге, нанесении татуировок, при оказании ряда услуг в парикмахерских, однако при половых контактах вероятность заболеть гепатитом С гораздо меньше, чем гепатитом В, и сводится к минимальным показателям.

Лабораторная диагностика гепатита С (ГС). Лабораторная диагностика ГС была решена при помощи современных методов молекулярной биологии, учитывая, что при ГС вирус находится в крайне низкой концентрации и его антигены не доступны выявлению с помощью современных методов индикации, усилия исследователей сосредоточены на выявлении антител к различным антигенным компонентам вируса, обнаружение которых может служить индикатором наличия вируса. В качестве антигенов использовали белки, кодированные структурной и неструктурной зоной РНК-ВГС, полученные при помощи рекомбинантной технологии или синтеза (полипептиды, используемые в современных иммунологических методах – С22-3; С33с, С100-3, С200, NS5, S-1-1). Лабораторная диагностика ГС основывается на обнаружении серологических маркеров ВГС: антител к вирусу ГС (анти-ВГС, анти-ВГС класса IgM, IgG) методом ИФА и РНК-ВГС методом

ПЦР. К настоящему времени разработаны 4 поколения тест-систем для выявления анти-ВГС в иммуноферментном методе, но ИФА первого поколения сейчас не используется из-за низкой чувствительности. РНК-ВГС является показателем активной репликации ВГС и самым ранним маркером инфекции, и может быть обнаружена методом полимеразной цепной реакции уже через 1-2 недели после инфицирования, незадолго до повышения уровня сывороточных трансаминаз. Анти-ВГС обнаруживаются к 5-6 неделе после начала гепатита в 80% случаев и к 12 неделе у 90% лиц методом иммуноферментного анализа. При определении анти-ВГС в некоторых случаях регистрируется ложноположительная реакция. Для разграничения ложноположительных образцов от образцов действительно содержащих антитела к ВГС, разработаны дополнительные тесты – рекомбинантный иммуноблоттинг, определение спектра белков анти-ВГС.

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека, вызывающий заболевание — ВИЧ-инфекцию, последняя стадия которой известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) — в отличие от врождённого иммунодефицита.

Распространение ВИЧ-инфекции связано, главным образом, с незащищенными половыми контактами, использованием зараженных вирусом шприцев, игл и других медицинских и парамедицинских инструментов, передачей вируса от инфицированной матери ребенку во время родов или при грудном вскармливании. В развитых странах обязательная проверка донорской крови в значительной степени сократила возможность передачи вируса при её использовании.

ВИЧ заражает прежде всего клетки иммунной системы (CD4+ Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки), а также некоторые другие типы клеток. Инфицированные ВИЧ CD4+ Т-лимфоциты постепенно гибнут.

Вирус иммунодефицита человека относят к семейству ретровирусов (Retroviridae), роду лентивирусов (Lentivirus). Название Lentivirus происходит от латинского слова lente — медленный. Такое название отражает одну из особенностей вирусов этой группы, а именно — медленную и неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме. Для лентивирусов также характерен длительный инкубационный период.

Диагностика. Течение ВИЧ-инфекции характеризуется длительным отсутствием существенных симптомов болезни. Диагноз ВИЧ-инфекции ставится на основании лабораторных данных: при выявлении в крови антител к ВИЧ. Антитела к ВИЧ в период острой фазы, как правило, не обнаруживают. В первые 3 мес. после заражения антитела к ВИЧ выявляются у 96-97 % пациентов, через 6 мес. — у остальных 2-3 %, а в более поздние сроки — только у 0,5-1 % (источник Centers for Disease Control and Prevention USA, 2009г). В стадии СПИД регистрируют существенное снижение содержания антител в крови. Первые недели после инфицирования представляют собой «период серонегативного окна», когда антитела к ВИЧ не выявляются. Поэтому отрицательный результат тестирования на ВИЧ в этот период не означает, что человек не инфицирован ВИЧ и не может заразить других.

Для диагностики поражения слизистой оболочки рта у ВИЧ-инфицированных больных принята рабочая классификация, утверждённая в Лондоне, в сентябре 1992 года. Все поражения разделены на 3 группы:

1 группа — поражения, чётко связанные с ВИЧ-инфекцией. В эту группу включены следующие нозологические формы:

- кандидозы (эритематозный, псевдомембранозный, гиперпластический, атрофический);
- волосистая лейкоплакия;
- маргинальный гингивит;
- язвенно-некротический гингивит;
- деструктивный пародонтит;
- саркома Капоши;
- неходжкинская лимфома.

2 группа — поражения, менее чётко связанные с ВИЧ-инфекцией:

бактериальные инфекции;
болезни слюнных желёз;
вирусные инфекции;
тромбоцитопеническая пурпура.

3 группа — поражения, которые могут быть при ВИЧ-инфекции, но не связанные с нею.

Клещевой энцефалит — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного (энцефалит) и/или оболочек головного и спинного мозга (менингит и менингоэнцефалит). Заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям и даже к смерти больного.

Вирус клещевого энцефалита — нейротропный, РНК-содержащий. Относится к роду *Flavivirus*. Входит в семейство тогавирусов экологической группы арбовирусов. Возбудитель способен длительно сохранять вирулентные свойства при низких температурах, но нестоек к высоким температурам (при кипячении погибает через 2-3 мин), дезинфицирующим средствам и ультрафиолетовому излучению. Основным резервуаром, поддерживающим существование возбудителя являются: иксодовые клещи — *Ixodes persulcatus* (преимущественно в азиатском регионе России) и *Ixodes ricinus* (преимущественно в европейском регионе). Традиционные районы распространения клещевого энцефалита — Сибирь, Урал, Дальний Восток. В то же время случаи заражения встречаются и в средней полосе России, Северо — Западном регионе, Поволжье. Естественным резервуаром вируса и его источником являются более 130 видов различных теплокровных диких и домашних животных и птиц: грызуны, зайцы, насекомоядные, хищники и копытные. Клещи заражаются от животных-носителей вируса и передают вирус человеку.

Для заболевания характерна строгая весенне-летняя сезонность заболевания, соответствующая активности клещей.

Пути передачи: трансмиссивный (присасывание клеща), редко — алиментарный (употребление в пищу сырого молока коз и коров).

Человек заражается при укусе инфицированных клещей. Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, на этих клетках происходит адсорбция вируса, рецепторный эндоцитоз, «раздевание» РНК. Затем в клетке начинается репликация РНК и белков капсида, формируется зрелый вирион. Путем почкования через модифицированные мембраны эндоплазматического ретикулума вирионы собираются в везикулы, которые транспортируются к наружной клеточной мембране и покидают клетку. Наступает период вирусемии, вторичная репродукция происходит в регионарных лимфоузлах, в клетках печени, селезенки и эндотелия сосудов, затем вирус попадает в двигательные нейроны передних рогов шейного отдела спинного мозга, клетки мозжечка и мягкой мозговой оболочки.

Серологический метод. Материалом являются парные сыворотки больного. Определение диагностического нарастания титра антител в реакциях РТГА (реакция торможения гемагглютинации) и ИФА (иммуноферментный анализ).

Молекулярно-биологический метод. Материалом является клещ. Клеща исследуют на наличие антигена вируса клещевого энцефалита, реже с помощью ПЦР (полимеразно-цепная реакция) выявляют вирусную РНК (клеща). Для исследований на наличие антигена используют живой материал, ПЦР диагностика возможна по фрагментам клеща.

Вирусологический метод. Выделение вируса из крови и спино-мозговой жидкости путем введения материала в мозг новорожденным белым мышам.

Арбовирусы (от англ. arthropod-borne viruses) — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК, двуцепочечную РНК (реовирусы) или двуцепочечную ДНК (в случае Asfarvirus) и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать

развитие таких заболеваний, как энцефалит, лихорадка Денге, лихорадка паппатачи и жёлтая лихорадка.

Арбовирусы широко распространены на земном шаре, встречаясь, однако, преимущественно в жарких странах.

Размеры их варьируют от 30—40 до 150—180 нм. Большинство изученных арбовирусов — сферической формы и построены по кубическому типу симметрии; некоторые (с винтовым типом симметрии) имеют форму палочки с одним концом закругленным, а другим плоским.

Арбовирусы разрушаются под действием эфира, хлороформа и дезоксихолата. При t° 56—60° инактивация происходит в течение 10—30 мин. Погибают при рН = 3,0. Протеолитические ферменты разрушают вирусы группы Б и совершенно не оказывают влияния на группу А.

Все арбовирусы патогенны для новорожденных мышей при заражении в мозг; многие из них патогенны для различных животных при разных путях введения. Патогенность для человека установлена уже более чем у 50 арбовирусов.

Размножаются в куриных эмбрионах, причем вирусы группы А часто вызывают их быструю гибель в течение 24—48 час. Культуры тканей многих видов животных, человека, птиц, комаров и клещей, а также культуры перевиваемых клеток способны поддерживать размножение арбовирусов *in vitro*; цитопатический эффект зависит от вида вируса и ткани; наиболее употребительны первичные культуры куриных фибробластов, почек хомячка и перевиваемые клетки HeLa. Подавляющее большинство арбовирусов обладает гемагглютинирующими свойствами. Гемагглютинины, устойчивые в щелочной среде (рН=8,0—9,0) и быстро погибающие в кислой (рН=6,0), выявляются в мозге, сыворотке крови зараженных мышей и в жидкой фазе тканевых культур после удаления ингибиторов. Для гемагглютинации используют 0,25% взвесь эритроцитов гусей или новорожденных цыплят. Гемагглютинация протекает в узкой, оптимальной для каждого вируса зоне рН. Лабораторная диагностика осуществляется выделением вирусов на 1—2-дневных мышках и тканевых культурах. Серологическая диагностика осуществляется при помощи РСК, реакций торможения гемагглютинации и нейтрализации с сыворотками реконвалесцентов.

Основанием для включения в группу арбовирусов новых членов служат: чувствительность к дезоксихолату, способность размножаться в комарах *Aedes aegypti* или наличие перекрестных серологических реакций с каким-нибудь представителем арбовирусов.

Занятие №2

ТЕМА: БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Учебная цель: обучить ординаторов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза, шигеллеза, брюшного тифа, холеры, ботулизма.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики кишечных заболеваний.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики кишечных заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).

1. Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
2. Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).
3. Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
4. Учет результатов посева на дифференциально-диагностической среде Плоскирева (макро- и микроскопическое исследования).
5. Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
6. Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
7. Учет результатов реакции Видаля.
8. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
9. Оформление протокола исследования.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№ П/П	Исследуемый материал	Результаты исследования	Графическое изображение

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В связи с трудностью дифференциации возбудителей кишечных заболеваний, вызывающих сходные клинические проявления, необходимо проведение комплексного микробиологического исследования, включающего одновременный поиск в исследуемом материале возбудителей эшерихиозов, шигеллезов, сальмонеллезов и холеры.

1. Исследуемый материал (испражнения больного) засевают на поверхность одной из дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителя кишечных заболеваний (среду Эндо) и 1 %щелочной агар для выделения возбудителя холеры.

Посев проводится штрихом на поверхности плотной питательной среды с целью механического разъединения микробов и получения изолированных колоний.

Чашки с 1 % щелочным агаром инкубируют при 37 град. 10-12 часов, чашки со средой Эндо - 18-24 часа.

2. После инкубации в термостате посевы на чашках со средами Эндо и 1 % щелочном агаре просматривают в проходящем и преломляющем свете. При отсутствии каких-либо признаков роста микробов на щелочном агаре, дается отрицательный ответ в отношении нахождения возбудителя холеры в исследуемом материале.

На среде Эндо через 18-24 ч. роста в термостате отмечается наличие колоний малиново-красных (ферментирующих лактозу, входящую в состав среды) и бесцветных (не ферментирующих лактозу).

3. Бесцветные ("подозрительные") колонии высевают на среду Ресселя. Состав среды Ресселя: МПА, 1 % лактозы, 0.1 % глюкозы и индикатор Андрее.

Посев производится следующим образом: снятую колонию осторожно, не задевая края пробирки, вносят в конденсационную жидкость, затем штрихами засевают всю скошенную поверхность среды и делают укол в глубину столбика. Пробирку с посевом на среде Ресселя ставят в термостат (37°C) на сутки (18-24 ч.).

Одновременно для изучения протеолитической активности культуры лактозонегативные колонии высевают в пробирку с МПБ с индикаторными бумажками, пропитанными ацетатом свинца и щавелевой кислотой для определения образования сероводорода и индола. Пробирку помещают в термостат (37°C, 18-24 ч.)

Эшерихиоз (кишечная колиинфекция) — острая кишечная инфекция, вызванная различными серологическими группами энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП), протекающая с симптомами общей интоксикации и синдромом поражения желудочно-кишечного тракта.

Этиология эшерихиоза.

Возбудители — энтеропатогенные кишечные палочки — принадлежат к виду *Escherichia*, роду *Escherichia*, семейству *Enterobacteriaceae*, представляют собой грамотрицательные палочки, устойчивые во внешней среде. Могут месяцами сохраняться в почве, воде, испражнениях. Хорошо растут на обычных питательных средах. Быстро погибают при кипячении и воздействии дезинфицирующих средств. Эшерихии имеют сложную антигенную структуру: соматический О-антиген (термостабильный), поверхностный (капсульный) К-антиген и жгутиковый Н-антиген (термолабильный). Кишечные инфекции, вызванные ЭПКП, встречаются чаще у детей раннего возраста

Классификация эшерихиозов:

- Энтеропатогенный (сальмонеллезоподобный).
- Энтеротоксический (холероподобный).
- Энтероинвазивный (дизентериеподобный).
- Энтерогеморрагический.

Диагноз эшерихиоза может быть установлен только при выделении возбудителя. Для бактериологического исследования отбирают фекалии, рвотные массы, промывные воды желудка, при генерализованных формах — кровь, СМЖ. Проводить исследование испражнений нужно сразу же, как только больной обратился за помощью к врачу, так как с течением времени вероятность выделения возбудителя быстро снижается. Сбор испражнений проводится после естественной дефекации или с помощью тампонов в пробирки с глицериновой смесью в количестве не более 1/3 объема консерванта, а рвотных масс и промывных вод желудка — в стеклянные баночки емкостью 200-250 мл. В лечебном учреждении должно быть проведено не менее трех диагностических исследований (первое — при поступлении больного до назначения ему антибиотиков, химиопрепаратов).

С целью выделения ЭПКП и ЭТКП следует отбирать пробы испражнений из последних порций, при исследовании ЭИКП — пробы с примесью слизи.

Отобранный материал в течение первых 2 ч доставляют в лабораторию, если это невозможно — помещают в холодильник и направляют в лабораторию не позднее 12 ч после забора.

При решении вопроса об этиологической роли возбудителя при возникновении

кишечной инфекции необходимо учитывать следующие критерии:

- выделение эшерихий определенных сероваров, относящихся к ЭПКП, ЭИКП, ЭТКП, ЭГКП или ЭАКП, в монокультуре в сочетании с непатогенными сероварами эшерихий; если эшерихия патогенна, диагноз может быть установлен по одному положительному бакпосеву;

- массивное выделение ЭТКП (106/г фекалий и более) и значительное их преобладание над представителями другой условно-патогенной флоры.

Определенное диагностическое значение имеют серологические методы исследований, хотя они и менее информативны, неубедительны, так как возможны ложноположительные результаты из-за антигенного сходства с другими энтеробактериями. Используются для ретроспективной диагностики, особенно во время вспышки. В настоящее время из серологических методов исследования используют РНГА (диагностический титр 1:200 – 1:400 для взрослых, 1:40 – 1:80 для детей); реакцию иммунофлуоресценции; реакцию иммунной сорбции антител, меченных ферментами; реакцию нейтрализации; реакцию агглютинации с аутокультурой при нарастании титра антител в 4 и более раз в динамике заболевания.

Перспективным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Чтобы доказать патогенность эшерихии, нужно убедиться, что она имеет рецепторы, обеспечивающие адгезивность, может продуцировать термолабильный и термостабильный токсины, содержит плазмидную ДНК, кодирующую токсинообразование (Протасов С.А., 2003).

Если выделяются непатогенные эшерихии, надо подходить к диагностике как к таковой при других ОКИ, вызванных условно-патогенной флорой: трехкратный массивный рост микроорганизма, отсутствие высева патогенных возбудителей.

Диагноз «эшерихиоз», как отмечалось, неправомерен без бактериологического, а также серологического подтверждения. Исключение составляет клинико-эпидемиологическое обоснование диагноза.

Инструментальные методы обследования (ректороманоскопия, колоноскопия) при эшерихиозах малоинформативны.

При оформлении заключительного диагноза указывается вид выделенного возбудителя, синдром поражения пищеварительного тракта, степень тяжести заболевания. При затяжном течении отмечается также характер течения болезни. Например: эшерихиоз (*E. coli* O111) в форме острого гастроэнтерита, средней степени тяжести.

Диагноз бактерионосительства может быть установлен только в тех случаях, когда клинические симптомы заболевания отсутствуют в настоящее время и не отмечались в предыдущие 1-1,5 мес. Бактерионосительство, как правило, кратковременное (1-2-кратное выделение возбудителя). В таких случаях при оформлении диагноза указывается только вид возбудителя. Например: бактерионоситель энтеропатогенных эшерихий O125.

Этиология. Возбудитель (*Yersinia enterocolica*) - грамотрицательная палочка, анаэроб, хорошо растет на обычных питательных средах при низких температурах. Известно 30 сероваров. Заболевание у человека чаще вызывают 3-й, 5-й, 8-й и 9-й серовары.

Кишечный иерсиниоз.

Эпидемиология. Источником инфекции являются человек и животные, больные и носители. Особенно часто возбудитель обнаруживается у мышевидных грызунов, крупного рогатого скота, свиней, собак, кошек, в молочных продуктах, мороженом. Заражение человека происходит через рот при употреблении инфицированной пищи, воды или контактным путем.

Заболевание встречается в течение всего года.

Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, вследствие чего

развивается энтероколит или гастроэнтероколит. В тяжелых случаях в области терминального отдела тонкой кишки возникает язвенный процесс с вовлечением мезентериальных лимфатических узлов. При проникновении возбудителя в кровь отмечаются бактериемия и генерализация процесса с развитием воспаления в органах.

Клиника. Инкубационный период — 2-3 дня. Клиническая симптоматика у больных практически не отличается от таковой при псевдотуберкулезе. Однако необходимо иметь в виду, что при кишечном иерсиниозе заболевание часто начинается с кишечных расстройств (обильный водянистый стул с примесью крови), а поражение внутренних органов возникает как бы вторично на высоте клинических проявлений и чаще в тяжелых случаях.

В диагностике кишечного иерсиниоза ведущую роль играют бак-териологический и серологический методы исследования. *Yersinia enterocolica* можно выделить из кала, крови, мочи, гноя, слизи из зева, лимфатического узла. Из методов серологической диагностики используют реакцию агглютинации и реакцию непрямой гемагглютинации. Диагностический титр 1:100 и выше. Более достоверно нарастание титра специфических антител в динамике заболевания.

Профилактика кишечного иерсиниоза проводится так же, как при других кишечных инфекциях. Специфическая профилактика не разработана.

Брюшной тиф — острая циклически протекающая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями *Salmonella typhi* (*Salmonella enterica* серотип *typhi*), с алиментарным путем передачи (фекально-оральный), характеризующаяся лихорадкой, явлениями общей интоксикации с развитием тифозного статуса, розеолезными высыпаниями на коже, гепато- и спленомегалией и специфическим поражением лимфатической системы нижнего отдела тонкой кишки.

Возбудитель — *Salmonella typhi* из семейства *Enterobacteriaceae* рода *Salmonella*, подвижная грамотрицательная палочка с закругленными концами, хорошо окрашиваемая всеми анилиновыми красителями. Вырабатывает эндотоксин, патогенный только для человека. Не образует споры.

Бактерии брюшного тифа довольно устойчивы во внешней среде: в пресной воде водоемов они сохраняются до месяца, на овощах и фруктах — до 10 дней, а в молочных продуктах могут размножаться и накапливаться.

Под воздействием 3 % раствора хлорамина, 5 % раствора карболовой кислоты, сулемы (1:1000), 96 % этилового спирта они гибнут через несколько минут.

Сальмонеллы брюшного тифа имеют сложную антигенную структуру. Различные серовары содержат характерный набор антигенных факторов, которые складываются из сочетания О- и Н-антигенов.

Лабораторная диагностика прежде всего заключается в бактериологическом исследовании крови, кала, мочи, желчи. Метод гемокультуры можно использовать с первых дней заболевания и до конца лихорадочного периода, желательно до начала лечения. Для этого 5-10 мл крови из локтевой вены у постели больного засевают на 20 % желчный бульон или среду Рапопорта, мясопептонный бульон с 1 % глюкозы, либо даже в стерильную дистиллированную воду. Объем среды — 50-100 мл. Соотношение материала и среды должно быть 1:10. Кал, мочу, дуоденальное содержимое исследуют со 2-й недели от начала заболевания, засевая на среды Плоскирева, Левина, Мюллера и др. Предварительный результат этих исследований получают через 2 дня, окончательный — через 4 дня.

Для выявления брюшной тифозной палочки в фекалиях, моче, дуоденальном содержимом используют РИФ с мечеными сыворотками к О- и Vi-антигенам. Предварительный ответ может быть получен в течение 1 ч, окончательный — через 5-20 ч.

Из серологических методов используют РА (Видаля) и РПГА с цистеином. Реакцию Видаля ставят с Н- и О-антигенами с 7-9-го дня заболевания повторяют на 3-4-й

неделе для определения нарастания титра (от 1:200 до 1:400-1:800-1:1600). Последнее имеет значение для исключения положительного результата реакции, который может быть обусловлен предшествовавшей иммунизации против брюшного тифа. Ответ может быть получен через 18-20 ч. При постановке РПГА учет результатов проводят после инкубирования пластин при 37° С в течение 1,5-2 ч и повторно — через 24 ч нахождения при комнатной температуре. Положительный считается реакция в титре 1:40 и выше.

Сальмонеллёзы — острые кишечные инфекции животных и человека, вызываемые сальмонеллами. Острое инфекционное зооантропонозное заболевание, вызываемое сальмонеллами и характеризующееся, в общем случае, развитием интоксикации и поражением желудочно-кишечного тракта.

Сальмонеллёзы у человека рассматривают как определённое заболевание (нозологическую форму), отличая его от брюшного тифа и паратифов. Основным источником инфекции — пищевые продукты, реже — больное животное, в отдельных случаях источником заражения может быть человек (больной или бактерионоситель). Заражение происходит через инфицированные пищевые продукты, как правило, животного происхождения (мясо и мясные продукты, молоко, яйца, особенно утиные и гусиные), при вынужденном, неправильном убою животных, нарушении правил хранения и приготовления продуктов (соприкосновение готовой и сырой продукции, недостаточная термическая обработка продуктов перед употреблением и т. д.). Сальмонеллёзы развиваются в тех случаях, когда в организм попадают накопившиеся в продуктах живые сальмонеллы.

На территории РФ наиболее часто встречаются следующие серовары вида *Salmonella enterica* подвид *enterica*: *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Infantis*.

Клинические проявления сальмонеллёзов разнообразны — от бессимптомного носительства возбудителя инфекции до тяжёлых септических форм. Инкубационный период колеблется от 2—6 часов до 2—3 суток.

Различают несколько клинических форм сальмонеллёза:

1. Желудочно-кишечная форма
2. Тифоподобная форма
3. Септическая форма

В 15—17 % случаев сальмонеллёзов в периоде реконвалесценции наблюдается кратковременное бактерионосительство. Возможны «транзитное» носительство (однократное выделение сальмонелл без клинических проявлений) и хроническое бактерионосительство.

Диагностика сальмонеллёза осуществляется комплексно с учетом эпидемиологических данных, симптоматики и результатов лабораторных исследований, направленных на изоляцию и типирование возбудителя. Основным способом типирования сальмонелл является реакция агглютинации. Для ее проведения до недавнего времени пользовались гипериммунными сыворотками, но в настоящее время им на смену пришли моноклональные антитела к сальмонеллам.

Профилактика.

Ветеринарно-санитарный надзор за убоем скота и обработкой туш; выполнение санитарных правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов; обследование поступающих на работу на предприятия общественного питания и торговли, детские учреждения.

Шигеллёзы — сборная группа инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями рода шигелл (*Shigella*).

Дизентерия — шигеллёз, протекающий с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки.

Этиология.

Возбудители — грамотрицательные неподвижные (родовой признак) бактерии рода

Shigella семейства Enterobacteriaceae.

Эпидемиология.

Источник инфекции — больные лица и бактерионосители. Шигеллёз регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости в тёплый сезон.

Механизмы передачи — фекально-оральный и контактно-бытовой, через воду, пищевые продукты. Определённую роль в распространении инфекции играют насекомые-переносчики: мухи, тараканы.

Инфицирующая доза составляет 200—300 живых клеток, что обычно достаточно для развития заболевания.

Инкубационный период длится 1—7 дней.

Патогенез шигеллеза. Входными воротами инфекции является кишечник, где происходит размножение шигелл. Инвазия шигелл происходит преимущественно в энтероциты дистального отдела толстой кишки, что приводит к разрушению энтероцитов, развитию местных воспалительных изменений в виде отека, гиперемии, эрозии, поверхностных изъязвлений. Эндотоксины шигелл, попадая в кровь, вызывают общую интоксикацию, вплоть до развития эндотоксинового шока, нарушение всех видов обмена веществ — белкового, жирового, водно-солевого, с развитием эксикоза различной степени.

Лечение

Этиотропное (воздействие на возбудителя) лечение производится препаратами:

препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин),

хинолины (хлорхинальдон),

фторхинолоны (ципрофлоксацин).

Патогенетическое лечение состоит в дезинтоксикационной терапии изотоническими солевыми растворами (раствор Рингера), энтеросорбентами (энтеросорб, Активированный уголь, Полифепан, Смекта), а так же витаминотерапии. Проводят коррекцию дисбактериоза.

Лабораторная диагностика шигеллеза.

1. Общий анализ крови. Выявляют лейкоцитоз, нейтрофильный сдвиг влево, повышенную СОЭ; степень изменений обычно соответствует тяжести состояния.

2. Бактериологический метод. Материалом для исследования служат испражнения больного и рвотные массы. Используют дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Эндо или Левина).

3. Серологический метод. Исследуют парные сыворотки в РПГА с эритроцитарным антигеном для обнаружения антител и нарастания их титра.

Минимальным условно-диагностическим титром антител к антигену шигелл Флекснера для детей до 3-х лет считают реакцию в разведении 1:100, для остальных антигенов 1:200 или 4-х кратное нарастание титра антител в динамике болезни.

4. Применяют также иммунофлюоресцентный метод, позволяющий обнаружить антиген в фекалиях, моче, крови; реакцию нарастания титра фага (РНФ), реакцию нейтрализации антител (РНА), иммуноферментный метод (ИФА) и иммунорадиометрический анализ (ИРА).

5. Копроцитологическое исследование проводят с первых дней болезни. При микроскопическом исследовании учитывают повышенное количество лейкоцитов, эритроцитов, клеток кишечного эпителия, наличие крахмала, жира и продуктов его расщепления, цисты простейших, яйца глистов.

Холера (лат. cholera (греч. cholera, от cholē желчь + rheō течь, истекать)) — острая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями вида *Vibrio cholerae*. Характеризуется фекально-оральным механизмом заражения, поражением тонкого кишечника, водянистой диареей, рвотой, быстрой потерей организмом жидкости и электролитов с развитием различной степени обезвоживания вплоть до гиповолемического шока и смерти.

Этиология. Известно более 150 серогрупп *Vibrio cholerae*; их разделяют на

агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (*V. cholerae* O1) и на не агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (*V. cholerae* non O1).

«Классическая» холера вызывается холерным вибрионом серогруппы O1 (*Vibrio cholerae* O1). Различают два биовара (биотипа) этой серогруппы: классический (*Vibrio cholerae* biovar cholerae) и Эль-Тор (*Vibrio cholerae* biovar eltor).

По морфологическим, культуральным и серологическим характеристикам они сходны: короткие изогнутые подвижные палочки, имеющие жгутик, грамотрицательные аэробы, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, спор и капсул не образуют, растут на щелочных средах (pH 7,6-9,2) при температуре 10-40 °С. Холерные вибрионы Эль-Тор в отличие от классических способны гемолизировать эритроциты барана (не всегда).

Каждый из этих биотипов по О-антигену (соматическому) подразделяется на серотипы. Серотип Инаба (Inaba) содержит фракцию С, серотип Огава (Ogawa) — фракцию В и серотип Гикошима (правильнее Гикосима) (Hikojima) — фракции А, В и С. Н-антиген холерных вибрионов (жгутиковый) — общий для всех серотипов. Холерные вибрионы образуют холерный токсин — белковый энтеротоксин.

Vibrio cholerae non-O1 вызывают различной степени тяжести холероподобную диарею, которая также может закончиться летальным исходом

Как пример можно привести большую эпидемию, вызванную *Vibrio cholerae* серогруппы O139 Bengal. Она началась в октябре 1992 в порту Мадрас Южной Индии и, быстро распространяясь по побережью Бенгалии, достигла Бангладеш в декабре 1992, где только за первые 3 месяца 1993 вызвала более чем 100000 случаев заболевания.

Лабораторная диагностика. Цель диагностики: индикация *Vibrio cholerae* в испражнениях и/или рвотных массах, воде, определение агглютининов и вибриоцидных антител в парных сыворотках крови больных

Методика диагностики. Посев бактериологического материала (испражнения, рвотные массы, вода) на тиосульфат-цитрат-жёлчносолевой-сахарозный агар (англ. TCBS), а также на 1 % щелочную пептонную воду; последующий пересев на вторую пептонную воду и высев на чашки со щелочным агаром.

Выделение чистой культуры, идентификация.

Исследование биохимических свойств выделенной культуры — способность разлагать те или иные углеводы, т. н. «ряд сахаров» — сахарозу, арабинозу, маннит.

Реакция агглютинации со специфическими сыворотками

Профилактика. Предупреждение заноса инфекции из эндемических очагов

Соблюдение санитарно-гигиенических мер: обеззараживание воды, мытьё рук, термическая обработка пищи, обеззараживание мест общего пользования и т. д.

Раннее выявление, изоляция и лечение больных и вибрионосителей

Специфическая профилактика холерной вакциной и холероген-анатоксином. Холерная вакцина имеет короткий (3-6 мес.) период действия.

В настоящее время имеются следующие 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 приёма 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 ослабленных 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 приёма вакцины защита от *V. Cholerae* El Tor была на уровне 65 %.

Занятие №3

ТЕМА: БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ (возбудители дифтерии, коклюша, скарлатины).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша, скарлатины.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша, скарлатины.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, скарлатины.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики дифтерии, коклюша, скарлатины.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Приготовление мазка и окраска по методу Нейссера.
2. Приготовление мазка и окраска по методу Грама.
3. Определение токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Проведение проб на цистиназу и на уреазу дифтерийных и ложно-дифтерийных палочек.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Дифтерийная палочка (*Corynebacterium diphtheriae*) — грамположительные палочковидные бактерии рода *Corynebacterium*. Впервые возбудитель был обнаружен на срезах пленок, полученных из ротоглотки больных в 1883 г. Эдвином Клебсом (нем. Edwin Klebs, 1834—1913). Через год Фридрихом Лёффлером (нем. Friedrich August Johannes Löffler, 1852—1915) была выделена чистая культура. Дифтерийный токсин получили Э. Ру и А. Иерсен (1884—1888 гг.). Анатоксин обнаружил Рамон Гастон в 1923 г. и предложил использовать его для активной иммунизации. *Corynebacterium diphtheriae* — крупные (1—8 × 0,3—0,8 мкм) прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализуются метакроматические зёрна волютина, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. На микропрепаратах располагаются одиночно или вследствие особенностей деления клеток располагаются в форме латинской буквы V или Y. Спор и капсул не образуют.

Эпидемиология. Источником инфекции при дифтерии являются люди - больные или здоровые носители токсигенных дифтерийных микробов. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные дифтерией зева, носа и гортани, активно выделяющие возбудителей заболевания во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. Незначительное в этом отношении значение играют больные дифтерией глаз, кожи, раны и других локализаций, способные распространять инфекцию контактным путем (через руки, предметы быта).

Патогенез. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых) макроорганизма. Однако наиболее часто ими является слизистая оболочка ротоглотки, намного реже - гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. Токсигенные коринебактерии фиксируются на клетках тканей, размножаются и в процессе жизнедеятельности продуцируют экзотоксин, оказывающий местное и общее воздействие, обуславливающее

практически все проявления патологического процесса. Микробные клетки за пределы тканей, являющихся воротами инфекции, как правило, не распространяются и непосредственного участия в поражении макроорганизма не принимают.

Дифтерийный экзотоксин состоит из нескольких фракций, каждая из которых обладает самостоятельным биологическим действием. Одна из них - гиалуронидаза: разрушает гиалуроновую кислоту капилляр и повышает их проницаемость. Это ведет к выходу за пределы сосудов жидкой части крови, пропитыванию пораженных тканей плазмой, содержащей наряду с другими компонентами фибриноген. Вторая - некротоксин - вызывает некроз эпителия на месте ворот инфекции, сопровождающийся выделением из эпителиальных клеток тромбокиназы. Последняя способствует превращению фибриногена в фибрин и образованию на поверхности пораженных тканей фибриновой пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибриновая пленка проникает глубоко внутрь эпителиального покрова и плотно спаяна с тканями. Третья фракция дифтерийного токсина - истинный дифтерийный токсин (основной его компонент) способен вытеснять из клеточных структур цитохром Б и таким образом блокировать в них процессы клеточного дыхания и синтеза белковых молекул. Наиболее чувствительными к этим изменениям являются миокард, капилляры и нервные клетки. В кардиомиоцитах развиваются явления миокардиодистрофии с последующим их некрозом, миолизом и развитием инфекционно-токсического миокардита. Поражение капилляров при дифтерии сопровождается инфекционно-токсическим шоком. Повреждение нервных клеток сопровождается дистрофическими изменениями шванновских клеток и демиелинизацией нервных волокон. Наряду с отмеченным, общее действие дифтерийного токсина проявляется явлениями общей интоксикации.

Основу лабораторной диагностики составляют бактериологические исследования: выделение возбудителя из очага воспаления, определение его типа и токсигенности. Материал отбирают стерильными ватными тампонами, сухими или смоченными (до стерилизации!) 5% раствором глицерина. При хранении и транспортировке тампоны предохраняют от охлаждения и высыхания. Материал должен быть посеян не позднее 2-4 ч после взятия. У больных ангиной, бывших в контакте с больными дифтерией, а также у лиц с типичными клиническими проявлениями дифтерии диагноз ставят даже при отрицательном результате бактериологического исследования.

Вспомогательное значение имеет определение титров антитоксических антител в парных сыворотках при постановке РНГА. Токсинообразование выявляют, используя РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом. Для выявления дифтерийного токсина предложено использовать ПЦР.

Основным в лечении дифтерии считают введение антитоксической противодифтерийной сыворотки. Она нейтрализует токсин, циркулирующий в крови, следовательно, оказывает наибольший эффект при раннем применении

Профилактические мероприятия. Вакцинопрофилактика остаётся основным способом контроля дифтерии. Схема иммунизации детей предусматривает иммунизацию вакциной АКДС начиная с 3 мес жизни (вакцинируют 3-кратно с интервалом 30-40 дней). Ревакцинацию проводят через 9-12 мес после законченной вакцинации. Для ревакцинации в 6-7, 11-12 и 16-17 лет применяют АДС-М. В отдельных случаях, например при противопоказаниях к коклюшному компоненту АКДС, АДС-М применяют и для вакцинации.

Коклюш (whooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракоклюш - острые инфекционные болезни, клинически неотличимые друг от друга. Характеризуется острым катаром дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Возбудитель коклюша (*Bordetella pertussis*) представляет собой короткую палочку с закругленными концами (0,2-1,2 мкм), грамотрицательную, неподвижную, хорошо

окрашивающуюся анилиновыми красками. В антигенном отношении неоднородна. Антиген, который обуславливает образование агглютининов (агглютиноген), состоит из нескольких компонентов. Они названы факторами и обозначаются цифрами от 1 до 14. Фактор 7 является родовым, фактор 1 содержит *B. pertussis*, 14 - *B. parapertussis*, остальные встречаются в разных комбинациях; для возбудителя коклюша это факторы 2, 3, 4, 5, 6, для паракоклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракоклюша очень неустойчивы во внешней среде, поэтому посев нужно делать сразу же после взятия материала. Бактерии быстро погибают при высушивании, ультрафиолетовом облучении, под влиянием дезинфицирующих средств. Чувствительны к эритромицину, левомицетину, антибиотикам тетрациклиновой группы, стрептомицину.

Патогенез. Ворота инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Коклюшные микробы прикрепляются к клеткам мерцательного эпителия, где они размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. На месте внедрения возбудителя развивается воспалительный процесс, угнетается деятельность ресничного аппарата клеток эпителия и увеличивается секреция слизи. В дальнейшем происходит изъязвление эпителия дыхательных путей и очаговый некроз. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, менее выраженные изменения развиваются в трахее, гортани и носоглотке. Слизисто-гнойные пробочки закупоривают просвет мелких бронхов, развивается очаговый ателектаз, эмфизема. Наблюдается перибронхиальная инфильтрация. В генезе судорожных приступов имеет значение сенсibilизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обуславливает кашель и приводит к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты. Вследствие этого типичные приступы спазматического кашля могут быть вызваны и неспецифическими раздражителями. Из доминантного очага возбуждение может иррадиировать и на другие отделы нервной системы, например на сосудодвигательный (повышение АД, спазм сосудов). Иррадиацией возбуждения объясняется также появление судорожных сокращений мышц лица и туловища, рвоты и других симптомов коклюша. Перенесенный коклюш (как и противокклюшные прививки) не обеспечивает напряженного пожизненного иммунитета, поэтому возможны повторные заболевания коклюшем (около 5% случаев коклюша приходится на взрослых людей).

Достоверный диагноз в катаральном периоде может быть поставлен после получения результатов бактериологических исследований. Основанием для исследования в этих случаях обычно служат эпидемиологические данные (контакт с больными коклюшем, отсутствие данных о прививках и др.). В периоде спазматического кашля диагноз коклюша поставить значительно легче, так как появляются типичные приступы. Однако нужно учитывать, что иногда приступы кашля, сходные с коклюшными, могут быть обусловлены другими причинами (аденовирусная инфекция, вирусные пневмонии, сдавление дыхательных путей при злокачественных новообразованиях, инфекционном мононуклеозе и др.), с другой стороны, коклюш может протекать атипично без характерных приступов (у привитых детей, у взрослых). Основным методом лабораторного подтверждения диагноза является выделение возбудителя коклюша. Частота выделения зависит от сроков взятия материала; на 1-й неделе заболевания положительные результаты удается получить у 95% больных, на 4-й - лишь у 50%, а начиная с 5-й недели, микроб выделить уже не удастся. Материал из носоглотки берут сухим тампоном с немедленным посевом на чашки с селективной питательной средой. Используют также метод "кашлевых пластинок", при котором чашка Петри с питательной средой устанавливается перед ртом кашляющего ребенка (на расстоянии около 10 см), удерживается в таком положении несколько секунд, чтобы уловить 5-6 кашлевых толчков. Чашку с посевом быстро закрывают крышкой и помещают в термостат. При

транспортировке оберегают от охлаждения (заворачивают в бумагу, вату, в контейнер помещают грелку, заполненную горячей водой). Однако по частоте выделения возбудителей коклюша метод "кашлевых пластинок" значительно уступает взятию материала тампоном. Серологические методы можно использовать для ретроспективной диагностики, а также у больных с отрицательными результатами бактериологических исследований. Из старых методов можно использовать РСК, РПГА, реакцию агглютинации. Диагностическим считается нарастание титров антител в 4 раза и более, а также высокие титры антител (1:80 и выше).

В последнее время успешно используют иммуноферментный метод для обнаружения антител в сыворотке (иммуноглобулины класса М) и в носоглоточной слизи (иммуноглобулины класса А). Эти антитела появляются со 2-3-й недели болезни и сохраняются в течение 3 мес.

Скарлатина - острое инфекционное заболевание, проявляющееся мелкоточечной сыпью, лихорадкой, общей интоксикацией, ангиной. Возбудитель болезни – стрептококк группы А (*Streptococcus pyogenes*). Заражение происходит от больных воздушно-капельным путем (при кашле, чихании, разговоре), а также через предметы обихода (посуда, игрушки, белье). Особенно опасны больные как источники инфекции в первые дни болезни.

Источниками возбудителя инфекции являются больной скарлатиной или любой другой клинической формой стрептококковой инфекции и бактерионоситель. Чаще болеют дети 3—10 лет, посещающие детские дошкольные учреждения и школу. Появлению случаев скарлатины в детских учреждениях, как правило, предшествует повышенный уровень заболеваемости ангинами и острыми респираторными вирусными инфекциями. Дети первого года жизни (особенно первого полугодия) и взрослые скарлатиной болеют редко. Основной путь передачи возбудителя инфекции — воздушно-капельный.

Патогенез

Возбудитель проникает в организм человека через слизистые оболочки зева и носоглотки, в редких случаях возможно заражение через слизистые оболочки половых органов или поврежденную кожу. В месте адгезии бактерий формируется местный воспалительно-некротический очаг. Развитие инфекционно-токсического синдрома обусловлено в первую очередь поступлением в кровяной ток эритрогенного токсина стрептококков (токсина Дика), а также действием пептидогликана клеточной стенки. Токсинемия приводит к генерализованному расширению мелких сосудов во всех органах, в том числе в кожных покровах и слизистых оболочках, и появлению характерной сыпи. Синтез и накопление антитоксических антител в динамике инфекционного процесса, связывание ими токсинов в последующем обуславливают уменьшение и ликвидацию проявлений токсикоза и постепенное исчезновение сыпи. Одновременно развиваются умеренные явления периваскулярной инфильтрации и отека дермы. Эпидермис пропитывается экссудатом, его клетки подвергаются ороговению, что в дальнейшем приводит к шелушению кожи после угасания скарлатинозной сыпи. Сохранение прочной связи между ороговевшими клетками в толстых слоях эпидермиса на ладонях и подошвах объясняет крупнопластинчатый характер шелушения в этих местах.

Компоненты клеточной стенки стрептококка (групповой А-полисахарид, пептидогликан, белок М) и внеклеточные продукты (стрептолизины, гиалуронидаза, ДНК-аза и др.) обуславливают развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, аутоиммунных реакций, формирование и фиксацию иммунных комплексов, нарушения системы гемостаза. Во многих случаях их можно считать причиной развития гломерулонефрита, артериитов, эндокардитов и других осложнений иммунопатологического характера.

Скарлатину следует отличать от кори, краснухи, псевдотуберкулеза, лекарственных дерматитов. В редких случаях развития фибринозных налетов и особенно при их выходе за пределы миндалин заболевание необходимо дифференцировать от дифтерии.

Скарлатину отличают яркая разлитая гиперемия ротоглотки («пылающий зев»), резко ограниченная в месте перехода слизистой оболочки на твёрдое нёбо, ярко-красный язык с малиновым оттенком и гипертрофированными сосочками («малиновый язык»), мелкоточечные элементы сыпи на общем гиперемизированном фоне, сгущение сыпи в виде тёмно-красных полос на кожных складках в местах естественных сгибов, отчётливо выраженный белый дермографизм, бледный носогубной треугольник (симптом Филатова). При надавливании на кожу ладонью сыпь в этом месте временно исчезает («симптом ладони»), положительны эндотелиальные симптомы. После исчезновения экзантемы отмечают мелкочешуйчатое шелушение кожи (на ладонях и подошвах крупнопластинчатое).

Лабораторная диагностика

Диагноз скарлатины основывается на клинических (острое начало заболевания, лихорадка, интоксикация, острый катаральный или катарально-гнойный (при септической форме болезни - некротический), тонзиллит, обильная точечная сыпь, сгущающаяся в естественных складках кожи и лабораторных (нейтрофильный лейкоцитоз, повышенная СОЭ, обильный рост бетагемолитических стрептококков при посеве материала из очага инфекции на кровяной агар, нарастание титров антител к стрептококковым антигенам - М-протеину, А-полисахариду, стрептолизину-О и другим) данных.

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ

МИКРОБИОЛОГИЯ

**Учебно-методическое пособие для преподавателей по специальности: «Хирургия»
(ординатура)**

ВЛАДИКАВКАЗ

Занятие №1.

ТЕМА: ВИРУСЫ–ВОЗБУДИТЕЛИ КРОВЯНЫХ ИНФЕКЦИЙ

(возбудители гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, возбудители клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
2. Обучить студентов методам вирусологической диагностики и специфической профилактики клещевого энцефалита и других арбовирусных инфекций.

ПЛАН:

6. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита, арбовирусных инфекций.
7. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
8. Принципы микробиологической диагностики гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
9. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики гепатитов В,С,Д,Г,ВИЧ- инфекции, клещевого энцефалита.
10. Сдача модуля.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

- 1.Разбор постановки и учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции (демонстрация).
- 2.Разбор постановки и учет результатов реакции РПГА при гепатите В (демонстрация).
- 3.Разбор постановки и учет результатов РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций (демонстрация).

ОСНАЩЕНИЕ

- 1.Демонстрация: учет результатов реакции ИФА для серодиагностики и сероидентификации при гепатитов В,С,Д,Г, ВИЧ- инфекции.
- 2.Демонстрация: учет результатов реакции РПГА при гепатите В.
- 3.Демонстрация: РТГА и ИФА для серодиагностики при клещевом энцефалите и арбовирусных инфекций.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Гепатит В — вирусное заболевание, возбудителем которого является вирус гепатита В (в специальной литературе его могут обозначать «вирус ГВ», ВГВ или HBV) из семейства гепаднавирусов.

Вирус отличается чрезвычайно высокой устойчивостью к различным физическим и химическим факторам: низким и высоким температурам (в том числе кипячению), многократному замораживанию и оттаиванию, длительному воздействию кислой среды. Во внешней среде при комнатной температуре вирус гепатита В может сохраняться до нескольких недель: даже в засохшем и незаметном пятне крови, на лезвии бритвы, конце иглы. В сыворотке крови при температуре +30°С инфекционность вируса сохраняется в течение 6 месяцев, при -20°С около 15 лет. Инактивируется при автоклавировании в течение 30 минут, стерилизации сухим жаром при температуре 160°С в течение 60 минут, прогревании при 60°С в течение 10 часов.

Механизм передачи инфекции — парентеральный. Заражение происходит естественным (половой, вертикальный, бытовой) и искусственным (парентеральным) путями. Вирус присутствует в крови и различных биологических жидкостях — слюне, моче, сперме, влагалищном секрете, менструальной крови и др. Контагиозность (заразность) вируса гепатита В превышает контагиозность ВИЧ в 100 раз.

Наибольшее значение раньше повсеместно имел именно парентеральный путь — заражение при лечебно-диагностических манипуляциях, сопровождающихся нарушением целостности кожного или слизистого покрова через медицинский, стоматологический, маникюрный и прочий инструментарий, трансфузии крови и её препаратов.

Патогенез. Самый значимый патогенетический фактор при вирусном гепатите В — гибель зараженных гепатоцитов вследствие атаки собственными иммунными агентами. Массивная гибель гепатоцитов приводит к нарушению функций печени, прежде всего детоксикационной, в меньшей степени — синтетической.

Инкубационный период (время с момента заражения до появления симптомов) гепатита В составляет в среднем 12 недель, но может колебаться в пределах от 2 до 6 месяцев. Инфекционный процесс начинается с момента попадания вируса в кровь. После попадания вирусов в печень через кровь идет скрытая фаза размножения и накопления вирусных частиц. При достижении определенной концентрации вируса в печени развивается острый гепатит В. Иногда острый гепатит проходит для человека практически незаметно, и обнаруживается случайно, иногда протекает в легкой безжелтушной форме — проявляется только недомоганием и снижением работоспособности. Некоторые исследователи полагают, что бессимптомное течение, безжелтушная форма и «желтушный» гепатит составляют равные по количеству пораженных лиц группы. То есть выявленные диагностированные случаи острого гепатита В составляют только одну треть всех случаев острого гепатита.

Вакцинация. Обязательная вакцинация. С недавнего времени вакцинация против гепатита В была включена в обязательный календарь прививок. Новорожденные наиболее чувствительны к вирусу гепатита В – в случае инфицирования в этом возрасте, риск приобретения хронической формы гепатита В составляет 100%. В то же время иммунитет, создаваемый вакциной в этот период жизни, наиболее стойкий. Рекомендовано прививать новорожденного еще в родильном доме, затем через 1 месяц после первой прививки, и через 6 месяцев после первой прививки (так называемая схема 0-1-6). При пропуске очередной инъекции следует помнить о допустимых интервалах - 0-1(4)-6(4-18) месяцев. Однако если были пропущены допустимые интервалы, необходимо продолжать вакцинацию по схеме, как если бы пропуска не было. Если вакцинация проведена по стандартной схеме, повторная вакцинация обычно не требуется, поскольку иммунитет сохраняется по меньшей мере в течение 15 лет. Для определения, насколько долго сохраняется иммунитет в течение жизни, необходимы дальнейшие исследования – ведь вакцинация начала применяться относительно недавно. Только после проведения всего курса вакцинации, достигается почти 100%-ый иммунитет. Около 5% общей популяции не отвечает на вакцинацию, в этих случаях следует использовать другие виды вакцин против гепатита В.

Лабораторная диагностика ГВ - основана на выявлении специфических для ГВ антигенов и соответствующих антител в крови, а также вирусных нуклеиновых кислот, основными из которых являются:

- HB sAg - анти-HB s
- анти-HBc класса Ig M и IgG
- HBе Ag - анти-HBе
- ДНК ВГВ

Наиболее широко в диагностике ГВ используется определение HBsAg. Данный антиген выявляется как при остром, так и при хроническом заболевании (однако острая инфекция обычно подтверждается наличием высоких титров анти-HBc IgM). При остром

ГВ поверхностный антиген вируса обнаруживается через 3-5 недель от момента инфицирования, то есть задолго до появления клинических признаков болезни и в этих случаях является единственным серологическим маркером. HBsAg постоянно выявляется в преджелтушном и желтушном периодах болезни. Персистирование HBsAg в течение 6 месяцев и более указывает на затяжное или хроническое течение болезни, и позволяет предположить хроническое носительство вируса. Элиминация HBsAg и появление антител к нему является неперенным условием выздоровления. Серологическими маркерами репликации ВГВ являются - анти-HBc класса IgM, HBeAg, ДНК и ДНК-полимераза, которые обнаруживаются при остром ГВ с первых дней клинических проявлений и могут обнаруживаться при обострении хронического ГВ. Серологические маркеры репликации ВГВ определяют как в целях общей диагностики, так и для оценки эффективности применяемой терапии.

Вирус гепатита Д (HDV) впервые был обнаружен в 1977 году. Он не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов. HDV представляет собой сферическую частицу, в центре которой находится сферический антиген (HD-Ag), содержащий РНК. Наружная оболочка частицы образована поверхностным антигеном вируса гепатита В - HBs антигеном (HBsAg). HDV не может существовать без репликации HB-вируса, поэтому его называют вирусом - паразитом, или дефектным вирусом. Вирус гепатита В выполняет при этом хелперную функцию, то есть роль помощника для размножения HDV. Поэтому HDV - инфекция протекает всегда вместе с HBV- инфекцией. HDV располагается в основном в ядрах гепатоцитов и изредка в цитоплазме.

Эпидемиология. HDV- инфекция широко распространена. Интенсивность циркуляции HDV в различных регионах мира значительно колеблется, но в целом повторяет ситуацию при ВГВ, хотя и не абсолютно точно. При острых гепатитах антитела к HDV выделяются в различных регионах у 2-7 % больных, а при хронических гепатитах - у 9-50 % больных. На территории бывшего СССР среди "здоровых" носителей HBsAg наибольшая частота (10-20 %) обнаружения антител к HDV выявлена в Молдове, Казахстане, Средней Азии, Туве, то есть в районах, гиперэндемичных по ВГВ. В европейской части России частота выявления антител к HDV составляет 1,2-5,5 %.

Источником инфекции являются больные острым и хроническим ВГД, вирусоносители, а также носители антиHDV, так как известно, что у лиц с антиHDV одновременно можно обнаружить РНК- HDV. Передача HDV происходит так же, как и при ВГВ (парентеральным, половым путем, от матери плоду). К дельта -инфекции восприимчивы лица, не болевшие ВГВ (то есть не имеющие антиHBs), а также носители HB- вируса (здоровые носители HBsAg и больные хроническим ВГВ). Дельта- инфекция возникает как спорадически, так и в виде вспышек.

Патогенез, клиника. Инфекционный процесс, обусловленный HDV, проявляется прежде всего появлением HD-Ag в крови. Дельта -антигемия может быть кратковременной или продолжительной в зависимости от того, как происходило инфицирование и имеется ли интегрирование HB- вируса в геном гепатоцита. Различают острое, затяжное и хроническое течение дельта- инфекции. Характер ее течения лимитируется продолжительностью HBs- антигемии: по мере ее истощения прекращается и синтез HDV, и завершается дельта- зависимый патологический процесс.

Дельта- инфекция развивается в виде коинфекции или суперинфекции. При коинфекции происходит одновременное заражение HBV + HDV у лиц, не болевших ранее HBV - инфекцией (не имеющих до инфицирования маркеров HBV - инфекции). В этом случае развивается острый ВГВ+ВГД- гепатит с появлением серологических маркеров сразу двух острых инфекций. При коинфекции репликация HBV чаще всего ВГВ+ВГД - гепатита обычно бывает острым и заканчивается выздоровлением.

При суперинфекции HDV - инфекция наслаивается на текущую HBV- инфекцию у здоровых носителей HBsAg, у реконвалесцентов основного ВГВ, у больных хроническим ВГВ. При этом развивается клиника острого вирусного гепатита дельта,

сопровождающегося появлением антител к дельта- антигену.

Лабораторная диагностика гепатита Д (ГД) Вирус гепатита Д (ВГД) – это дефектный вирус, содержащий одно-спиральную РНК, которому для репликации необходимо помощь вируса ГВ для синтеза оболочечных белков, состоящих из HBsAg, который используется для инкапсуляции генома ВГД. ВГД не принадлежит ни к одному из известных семейств вирусов животных, по своим свойствам ВГД наиболее близок к вириодам и сателлитным вирусам растений. Лабораторная диагностика осуществляется путем обнаружения серологических маркеров ВГД, включая наличие антигена, антител к нему и РНК ВГД. Обнаружение антигена ВГД и РНК ВГД в сыворотке крови или ткани печени свидетельствует о наличии активной ГД-инфекции, однако, следует отметить, что эти маркеры могут не обнаруживаться в сыворотке больных фульминантным ГД. Маркером активной репликации ВГД также является анти-ВГД класса IgM. Серологические маркеры инфекции ГД зависят от того, как был приобретен вирус – в виде коинфекции с ВГВ (у большинства больных заболевание имеет острое течение и заканчивается выздоровлением) или суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией (протекает тяжелее, чем коинфекция - в 10% развивается фульминантный гепатит). При суперинфекции у больных с хронической ГВ-инфекцией серологическая картина имеет следующие характерные особенности: – титр HBsAg снижается к моменту появления антигена ВГД в сыворотке; - антиген ВГД и РНК-ВГД продолжают определяться в сыворотке, так как обычно у большинства пациентов с суперинфекцией ГД (70-80%) развивается хроническая инфекция, в отличие от случаев коинфекции; - определяются высокие титры антител (анти-ВГД) как класса IgM, так и IgG, которые сохраняются неопределенное время. Серологические маркеры вируса ГД определяют методом иммуноферментного и радиоиммунного анализа, а РНК-ВГД - методом полимеразной цепной реакции.

Гепатит С — антропонозное вирусное заболевание с парентеральным механизмом заражения, наиболее часто протекающее в виде посттрансфузионного гепатита с преобладанием безжелтушных и склонное к хронизации.

Гепатит С называют «ласковым убийцей» из-за способности маскировать истинную причину под видом множества других заболеваний.

Парентеральный вирусный гепатит С вызывается РНК-содержащим вирусом с размером вириона 30-60 нм, относящимся к семейству Flaviviridae. Вирусные частицы HCV имеют оболочку, содержатся в крови в следовых количествах и ассоциированы с липопротеинами низкой плотности и антителами к белкам вируса гепатита С. Вирусы, выделенные из комплексов с липопротеинами и анти-HCV антителами, имеют диаметр 60-70 нм. При электронно-микроскопическом изучении на поверхности вириона выявлены хорошо выраженные выступы высотой 6-8 нм.

Источником инфекции являются больные с активным гепатитом С и латентные больные — носители вируса. HCV-инфекция является инфекцией с парентеральным механизмом заражения — через инфицированную кровь и её компоненты. Инфицирование возможно при парентеральных манипуляциях, в том числе в медицинских учреждениях, включая оказание стоматологических услуг, через инъекционное оборудование, при акупунктуре, пирсинге, нанесении татуировок, при оказании ряда услуг в парикмахерских, однако при половых контактах вероятность заболеть гепатитом С гораздо меньше, чем гепатитом В, и сводится к минимальным показателям.

Лабораторная диагностика гепатита С (ГС). Лабораторная диагностика ГС была решена при помощи современных методов молекулярной биологии, учитывая, что при ГС вирус находится в крайне низкой концентрации и его антигены не доступны выявлению с помощью современных методов индикации, усилия исследователей сосредоточены на выявлении антител к различным антигенным компонентам вируса, обнаружение которых может служить индикатором наличия вируса. В качестве антигенов использовали белки,

кодированные структурной и неструктурной зоной РНК-ВГС, полученные при помощи рекомбинантной технологии или синтеза (полипептиды, используемые в современных иммунологических методах – С22-3; С33с, С100-3, С200, NS5, S-1-1). Лабораторная диагностика ГС основывается на обнаружении серологических маркеров ВГС: антител к вирусу ГС (анти-ВГС, анти-ВГС класса IgM, IgG) методом ИФА и РНК-ВГС методом ПЦР. К настоящему времени разработаны 4 поколения тест-систем для выявления анти-ВГС в иммуноферментном методе, но ИФА первого поколения сейчас не используется из-за низкой чувствительности. РНК-ВГС является показателем активной репликации ВГС и самым ранним маркером инфекции, и может быть обнаружена методом полимеразной цепной реакции уже через 1-2 недели после инфицирования, незадолго до повышения уровня сывороточных трансаминаз. Анти-ВГС обнаруживаются к 5-6 неделе после начала гепатита в 80% случаев и к 12 неделе у 90% лиц методом иммуноферментного анализа. При определении анти-ВГС в некоторых случаях регистрируется ложноположительная реакция. Для разграничения ложноположительных образцов от образцов действительно содержащих антитела к ВГС, разработаны дополнительные тесты – рекомбинантный иммуноблоттинг, определение спектра белков анти-ВГС.

ВИЧ — вирус иммунодефицита человека, вызывающий заболевание — ВИЧ-инфекцию, последняя стадия которой известна как синдром приобретённого иммунодефицита (СПИД) — в отличие от врождённого иммунодефицита.

Распространение ВИЧ-инфекции связано, главным образом, с незащищенными половыми контактами, использованием зараженных вирусом шприцев, игл и других медицинских и парамедицинских инструментов, передачей вируса от инфицированной матери ребенку во время родов или при грудном вскармливании. В развитых странах обязательная проверка донорской крови в значительной степени сократила возможность передачи вируса при её использовании.

ВИЧ заражает прежде всего клетки иммунной системы (CD4+ Т-лимфоциты, макрофаги и дендритные клетки), а также некоторые другие типы клеток. Инфицированные ВИЧ CD4+ Т-лимфоциты постепенно гибнут.

Вирус иммунодефицита человека относят к семейству ретровирусов (Retroviridae), роду лентивирусов (Lentivirus). Название Lentivirus происходит от латинского слова lente — медленный. Такое название отражает одну из особенностей вирусов этой группы, а именно — медленную и неодинаковую скорость развития инфекционного процесса в макроорганизме. Для лентивирусов также характерен длительный инкубационный период.

Диагностика. Течение ВИЧ-инфекции характеризуется длительным отсутствием существенных симптомов болезни. Диагноз ВИЧ-инфекции ставится на основании лабораторных данных: при выявлении в крови антител к ВИЧ. Антитела к ВИЧ в период острой фазы, как правило, не обнаруживают. В первые 3 мес. после заражения антитела к ВИЧ выявляются у 96-97 % пациентов, через 6 мес. — у остальных 2-3 %, а в более поздние сроки — только у 0,5-1 % (источник Centers for Disease Control and Prevention USA, 2009г). В стадии СПИД регистрируют существенное снижение содержания антител в крови. Первые недели после инфицирования представляют собой «период серонегативного окна», когда антитела к ВИЧ не выявляются. Поэтому отрицательный результат тестирования на ВИЧ в этот период не означает, что человек не инфицирован ВИЧ и не может заразить других.

Для диагностики поражения слизистой оболочки рта у ВИЧ-инфицированных больных принята рабочая классификация, утверждённая в Лондоне, в сентябре 1992 года. Все поражения разделены на 3 группы:

1 группа — поражения, чётко связанные с ВИЧ-инфекцией. В эту группу включены следующие нозологические формы:

- кандидозы (эритематозный, псевдомембранозный, гиперпластический, атрофический);
- волосистая лейкоплакия;
- маргинальный гингивит;

язвенно-некротический гингивит;
деструктивный пародонтит;
саркома Капоши;
неходжкинская лимфома.

2 группа — поражения, менее чётко связанные с ВИЧ-инфекцией:

бактериальные инфекции;
болезни слюнных желёз;
вирусные инфекции;
тромбоцитопеническая пурпура.

3 группа — поражения, которые могут быть при ВИЧ-инфекции, но не связанные с ней.

Клещевой энцефалит — природно-очаговая вирусная инфекция, характеризующаяся лихорадкой, интоксикацией и поражением серого вещества головного (энцефалит) и/или оболочек головного и спинного мозга (менингит и менингоэнцефалит). Заболевание может привести к стойким неврологическим и психиатрическим осложнениям и даже к смерти больного.

Вирус клещевого энцефалита — нейротропный, РНК-содержащий. Относится к роду Flavivirus. Входит в семейство тогавирусов экологической группы арбовирусов. Возбудитель способен длительно сохранять вирулентные свойства при низких температурах, но нестойк к высоким температурам (при кипячении погибает через 2-3 мин), дезинфицирующим средствам и ультрафиолетовому излучению. Основным резервуаром, поддерживающим существование возбудителя являются: иксодовые клещи — Ixodes persulcatus (преимущественно в азиатском регионе России) и Ixodes ricinus (преимущественно в европейском регионе). Традиционные районы распространения клещевого энцефалита — Сибирь, Урал, Дальний Восток. В то же время случаи заражения встречаются и в средней полосе России, Северо — Западном регионе, Поволжье. Естественным резервуаром вируса и его источником являются более 130 видов различных теплокровных диких и домашних животных и птиц: грызуны, зайцы, насекомоядные, хищники и копытные. Клещи заражаются от животных-носителей вируса и передают вирус человеку.

Для заболевания характерна строгая весенне-летняя сезонность заболевания, соответствующая активности клещей.

Пути передачи: трансмиссивный (присасывание клеща), редко — алиментарный (употребление в пищу сырого молока коз и коров).

Человек заражается при укусе инфицированных клещей. Первичная репродукция вируса происходит в макрофагах и гистиоцитах, на этих клетках происходит адсорбция вируса, рецепторный эндоцитоз, «раздевание» РНК. Затем в клетке начинается репликация РНК и белков капсида, формируется зрелый вирион. Путём почкования через модифицированные мембраны эндоплазматического ретикулума вирионы собираются в везикулы, которые транспортируются к наружной клеточной мембране и покидают клетку. Наступает период вирусемии, вторичная репродукция происходит в регионарных лимфоузлах, в клетках печени, селезенки и эндотелия сосудов, затем вирус попадает в двигательные нейроны передних рогов шейного отдела спинного мозга, клетки мозжечка и мягкой мозговой оболочки.

Серологический метод. Материалом являются парные сыворотки больного. Определение диагностического нарастания титра антител в реакциях РТГА (реакция торможения гемагглютинации) и ИФА (иммуноферментный анализ).

Молекулярно-биологический метод. Материалом является клещ. Клеща исследуют на наличие антигена вируса клещевого энцефалита, реже с помощью ПЦР (полимеразно-цепная реакция) выявляют вирусную РНК (клеща). Для исследований на наличие антигена используют живой материал, ПЦР диагностика возможна по фрагментам клеща.

Вирусологический метод. Выделение вируса из крови и спино-мозговой жидкости путем введения материала в мозг новорожденным белым мышам.

Арбовирусы (от англ. arthropod-borne viruses) — группа вирусов, переносчиками которых являются членистоногие. Арбовирусы имеют одноцепочечную геномную РНК, двуцепочечную РНК (реовирусы) или двуцепочечную ДНК (в случае Asfarvirus) и могут передаваться от животных человеку через насекомых и вызывать развитие таких заболеваний, как энцефалит, лихорадка Денге, лихорадка паппатачи и жёлтая лихорадка.

Арбовирусы широко распространены на земном шаре, встречаясь, однако, преимущественно в жарких странах.

Размеры их варьируют от 30—40 до 150—180 нм. Большинство изученных арбовирусов — сферической формы и построены по кубическому типу симметрии; некоторые (с винтовым типом симметрии) имеют форму палочки с одним концом закругленным, а другим плоским.

Арбовирусы разрушаются под действием эфира, хлороформа и дезоксихолата. При t° 56—60° инактивация происходит в течение 10—30 мин. Погибают при $pH = 3,0$. Протеолитические ферменты разрушают вирусы группы Б и совершенно не оказывают влияния на группу А.

Все арбовирусы патогенны для новорожденных мышей при заражении в мозг; многие из них патогенны для различных животных при разных путях введения. Патогенность для человека установлена уже более чем у 50 арбовирусов.

Размножаются в куриных эмбрионах, причем вирусы группы А часто вызывают их быструю гибель в течение 24—48 час. Культуры тканей многих видов животных, человека, птиц, комаров и клещей, а также культуры перевиваемых клеток способны поддерживать размножение арбовирусов *in vitro*; цитопатический эффект зависит от вида вируса и ткани; наиболее употребительны первичные культуры куриных фибробластов, почек хомячка и перевиваемые клетки HeLa. Подавляющее большинство арбовирусов обладает гемагглютинирующими свойствами. Гемагглютинины, устойчивые в щелочной среде ($pH=8,0—9,0$) и быстро погибающие в кислой ($pH=6,0$), выявляются в мозге, сыворотке крови зараженных мышей и в жидкой фазе тканевых культур после удаления ингибиторов. Для гемагглютинации используют 0,25% взвесь эритроцитов гусей или новорожденных цыплят. Гемагглютинация протекает в узкой, оптимальной для каждого вируса зоне pH . Лабораторная диагностика осуществляется выделением вирусов на 1—2-дневных мышках и тканевых культурах. Серологическая диагностика осуществляется при помощи РСК, реакций торможения гемагглютинации и нейтрализации с сыворотками реконвалесцентов.

Основанием для включения в группу арбовирусов новых членов служат: чувствительность к дезоксихолату, способность размножаться в комарах *Aedes aegypti* или наличие перекрестных серологических реакций с каким-нибудь представителем арбовирусов.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	80 мин.
2. Самостоятельная работа	90 мин.
3. Проверка протоколов	45 мин.
4. Уборка рабочего стола	45 мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом.	55 мин.

ТЕМА: БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Учебная цель: обучить ординаторов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики кишечных заболеваний.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей кишечного эшерихиоза и кишечного иерсиниоза, шигеллеза, брюшного тифа, холеры, ботулизма.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики кишечных заболеваний.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики кишечных заболеваний.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

Бактериологический метод исследования

Выделение чистой культуры из исследуемого материала (испражнения больного).

1. Посев исследуемого материала на дифференциально- диагностическую среду Эндо (демонстрация).
2. Учет результатов посева исследуемого материала на среду Эндо. Отбор "подозрительных" колоний и их изучение на среде Эндо, макроскопическая характеристика колоний (демонстрация).
3. Высев "подозрительных колоний" на среду Ресселя и МПБ.
4. Учет результатов посева на дифференциально-диагностической среде Плоскирева (макро- и микроскопическое исследования).
5. Учет результатов на среде Ресселя и МПБ.
6. Учет результатов на дифференциально-диагностическую среду Эндо, висмут-сульфитный агар (демонстрация).
7. Учет результатов реакции Видаля.
8. Учет результатов экспресс-диагностики холеры (демонстрация).
9. Оформление протокола исследования.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования
Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.
Лоток с подставкой – 8шт.
2. Микроскопы – 8шт.
3. Иммерсионное масло
4. Набор красок по Граму – 8шт.
5. Чашки со средой Эндо с ростом кишечной палочки -8шт.
6. Пробирки со средой Ресселя - 8шт.
7. Пробирки с МПБ - 8 шт.
8. Чашки Петри с индикаторными полосками на индол- 8 шт
9. Чашки Петри с индикаторными полосками на сероводород- 8 шт
10. Бак препараты
11. Таблицы.

ПРОТОКОЛ ИССЛЕДОВАНИЯ

№№	Исследуемый	Результаты	Графическое
----	-------------	------------	-------------

П/П	материал	исследования	изображение

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

В связи с трудностью дифференциации возбудителей кишечных заболеваний, вызывающих сходные клинические проявления, необходимо проведение комплексного микробиологического исследования, включающего одновременный поиск в исследуемом материале возбудителей эшерихиозов, шигеллезов, сальмонеллезов и холеры.

1. Исследуемый материал (испражнения больного) засевают на поверхность одной из дифференциально-диагностических сред для выделения возбудителя кишечных заболеваний (среда Эндо) и 1 % щелочной агар для выделения возбудителя холеры.

Посев проводится штрихом на поверхности плотной питательной среды с целью механического разъединения микробов и получения изолированных колоний.

Чашки с 1 % щелочным агаром инкубируют при 37 град. 10-12 часов, чашки со средой Эндо - 18-24 часа.

2. После инкубации в термостате посева на чашках со средами Эндо и 1 % щелочном агаре просматривают в проходящем и преломляющем свете. При отсутствии каких-либо признаков роста микробов на щелочном агаре, дается отрицательный ответ в отношении нахождения возбудителя холеры в исследуемом материале.

На среде Эндо через 18-24 ч. роста в термостате отмечается наличие колоний малиново-красных (ферментирующих лактозу, входящую в состав среды) и бесцветных (не ферментирующих лактозу).

3. Бесцветные ("подозрительные") колонии высевают на среду Ресселя. Состав среды Ресселя: МПА, 1 % лактозы, 0.1 % глюкозы и индикатор Андрее.

Посев производится следующим образом: снятую колонию осторожно, не задевая края пробирки, вносят в конденсационную жидкость, затем штрихами засевают всю скошенную поверхность среды и делают укол в глубину столбика. Пробирку с посевом на среде Ресселя ставят в термостат (37°C) на сутки (18-24 ч.).

Одновременно для изучения протеолитической активности культуры лактозонегативные колонии высевают в пробирку с МПБ с индикаторными бумажками, пропитанными ацетатом свинца и щавелевой кислотой для определения образования сероводорода и индола. Пробирку помещают в термостат (37°C, 18-24 ч.).

Эшерихиоз (кишечная колиинфекция) — острая кишечная инфекция, вызванная различными серологическими группами энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП), протекающая с симптомами общей интоксикации и синдромом поражения желудочно-кишечного тракта.

Этиология эшерихиоза.

Возбудители — энтеропатогенные кишечные палочки — принадлежат к виду *Escherichia*, роду *Escherichia*, семейству *Enterobacteriaceae*, представляют собой грамотрицательные палочки, устойчивые во внешней среде. Могут месяцами сохраняться в почве, воде, испражнениях. Хорошо растут на обычных питательных средах. Быстро погибают при кипячении и воздействии дезинфицирующих средств. Эшерихии имеют сложную антигенную структуру: соматический О-антиген (термостабильный), поверхностный (капсульный) К-антиген и жгутиковый Н-антиген (термолабильный). Кишечные инфекции, вызванные ЭПКП, встречаются чаще у детей раннего возраста

Классификация эшерихиозов:

- Энтеропатогенный (сальмонеллеподобный).
- Энтеротоксический (холероподобный).
- Энтероинвазивный (дизентериеподобный).
- Энтерогеморрагический.

Диагноз эшерихиоза может быть установлен только при выделении возбудителя. Для

бактериологического исследования отбирают фекалии, рвотные массы, промывные воды желудка, при генерализованных формах – кровь, СМЖ. Проводить исследование испражнений нужно сразу же, как только больной обратился за помощью к врачу, так как с течением времени вероятность выделения возбудителя быстро снижается. Сбор испражнений проводится после естественной дефекации или с помощью тампонов в пробирки с глицериновой смесью в количестве не более 1/3 объема консерванта, а рвотных масс и промывных вод желудка – в стеклянные баночки емкостью 200-250 мл. В лечебном учреждении должно быть проведено не менее трех диагностических исследований (первое – при поступлении больного до назначения ему антибиотиков, химиопрепаратов).

С целью выделения ЭПКП и ЭТКП следует отбирать пробы испражнений из последних порций, при исследовании ЭИКП – пробы с примесью слизи.

Отобранный материал в течение первых 2 ч доставляют в лабораторию, если это невозможно – помещают в холодильник и направляют в лабораторию не позднее 12 ч после забора.

При решении вопроса об этиологической роли возбудителя при возникновении кишечной инфекции необходимо учитывать следующие критерии:

- выделение эшерихий определенных сероваров, относящихся к ЭПКП, ЭИКП, ЭТКП, ЭГКП или ЭАКП, в монокультуре в сочетании с непатогенными сероварами эшерихий; если эшерихия патогенна, диагноз может быть установлен по одному положительному бакпосеву;
- массивное выделение ЭТКП (106/г фекалий и более) и значительное их преобладание над представителями другой условно-патогенной флоры.

Определенное диагностическое значение имеют серологические методы исследований, хотя они и менее информативны, неубедительны, так как возможны ложноположительные результаты из-за антигенного сходства с другими энтеробактериями. Используются для ретроспективной диагностики, особенно во время вспышки. В настоящее время из серологических методов исследования используют РНГА (диагностический титр 1:200 – 1:400 для взрослых, 1:40 – 1:80 для детей); реакцию иммунофлуоресценции; реакцию иммунной сорбции антител, меченных ферментами; реакцию нейтрализации; реакцию агглютинации с аутокультурой при нарастании титра антител в 4 и более раз в динамике заболевания.

Перспективным методом диагностики является полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Чтобы доказать патогенность эшерихии, нужно убедиться, что она имеет рецепторы, обеспечивающие адгезивность, может продуцировать термолабильный и термостабильный токсины, содержит плазмидную ДНК, кодирующую токсинообразование (Протасов С.А., 2003).

Если выделяются непатогенные эшерихии, надо подходить к диагностике как к таковой при других ОКИ, вызванных условно-патогенной флорой: трехкратный массивный рост микроорганизма, отсутствие высева патогенных возбудителей.

Диагноз «эшерихиоз», как отмечалось, неправомерен без бактериологического, а также серологического подтверждения. Исключение составляет клинико-эпидемиологическое обоснование диагноза.

Инструментальные методы обследования (ректороманоскопия, колоноскопия) при эшерихиозах малоинформативны.

При оформлении заключительного диагноза указывается вид выделенного возбудителя, синдром поражения пищеварительного тракта, степень тяжести заболевания. При затяжном течении отмечается также характер течения болезни. Например: эшерихиоз (*E. coli* O111) в форме острого гастроэнтерита, средней степени тяжести.

Диагноз бактерионосительства может быть установлен только в тех случаях, когда клинические симптомы заболевания отсутствуют в настоящее время и не отмечались в предыдущие 1-1,5 мес. Бактерионосительство, как правило, кратковременное (1-2-кратное

выделение возбудителя). В таких случаях при оформлении диагноза указывается только вид возбудителя. Например: бактерионоситель энтеропатогенных эшерихий O125.

Этиология. Возбудитель (*Yersinia enterocolica*) - грамотрицательная палочка, анаэроб, хорошо растет на обычных питательных средах при низких температурах. Известно 30 сероваров. Заболевание у человека чаще вызывают 3-й, 5-й, 8-й и 9-й серовары.

Кишечный иерсиниоз.

Эпидемиология. Источником инфекции являются человек и животные, больные и носители. Особенно часто возбудитель обнаруживается у мышевидных грызунов, крупного рогатого скота, свиней, собак, кошек, в молочных продуктах, мороженом. Заражение человека происходит через рот при употреблении инфицированной пищи, воды или контактным путем.

Заболевание встречается в течение всего года.

Патогенез. Возбудитель размножается в тонком кишечнике, вследствие чего развивается энтероколит или гастроэнтероколит. В тяжелых случаях в области терминального отдела тонкой кишки возникает язвенный процесс с вовлечением мезентериальных лимфатических узлов. При проникновении возбудителя в кровь отмечаются бактериемия и генерализация процесса с развитием воспаления в органах.

Клиника. Инкубационный период — 2-3 дня. Клиническая симптоматика у больных практически не отличается от таковой при псевдотуберкулезе. Однако необходимо иметь в виду, что при кишечном иерсиниозе заболевание часто начинается с кишечных расстройств (обильный водянистый стул с примесью крови), а поражение внутренних органов возникает как бы вторично на высоте клинических проявлений и чаще в тяжелых случаях.

В диагностике кишечного иерсиниоза ведущую роль играют бактериологический и серологический методы исследования. *Yersinia enterocolica* можно выделить из кала, крови, мочи, гноя, слизи из зева, лимфатического узла. Из методов серологической диагностики используют реакцию агглютинации и реакцию непрямой гемагглютинации. Диагностический титр 1:100 и выше. Более достоверно нарастание титра специфических антител в динамике заболевания.

Профилактика кишечного иерсиниоза проводится так же, как при других кишечных инфекциях. Специфическая профилактика не разработана.

Брюшной тиф — острая циклически протекающая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями *Salmonella typhi* (*Salmonella enterica* серотип *typhi*), с алиментарным путем передачи (фекально-оральный), характеризующаяся лихорадкой, явлениями общей интоксикации с развитием тифозного статуса, розеолезными высыпаниями на коже, гепато- и спленомегалией и специфическим поражением лимфатической системы нижнего отдела тонкой кишки.

Возбудитель — *Salmonella typhi* из семейства *Enterobacteriaceae* рода *Salmonella*, подвижная грамотрицательная палочка с закругленными концами, хорошо окрашиваемая всеми анилиновыми красителями. Вырабатывает эндотоксин, патогенный только для человека. Не образует споры.

Бактерии брюшного тифа довольно устойчивы во внешней среде: в пресной воде водоемов они сохраняются до месяца, на овощах и фруктах — до 10 дней, а в молочных продуктах могут размножаться и накапливаться.

Под воздействием 3 % раствора хлорамина, 5 % раствора карболовой кислоты, сулемы (1:1000), 96 % этилового спирта они гибнут через несколько минут.

Сальмонеллы брюшного тифа имеют сложную антигенную структуру. Различные серовары содержат характерный набор антигенных факторов, которые складываются из сочетания O- и H-антигенов.

Лабораторная диагностика прежде всего заключается в бактериологическом исследовании крови, кала, мочи, желчи. Метод гемокультуры можно использовать с

первых дней заболевания и до конца лихорадочного периода, желательно до начала лечения. Для этого 5-10 мл крови из локтевой вены у постели больного засевают на 20 % желчный бульон или среду Рапопорта, мясопептонный бульон с 1 % глюкозы, либо даже в стерильную дистиллированную воду. Объем среды — 50-100 мл. Соотношение материала и среды должно быть 1:10. Кал, мочу, дуоденальное содержимое исследуют со 2-й недели от начала заболевания, засевая на среды Плоскирева, Левина, Мюллера и др. Предварительный результат этих исследований получают через 2 дня, окончательный — через 4 дня.

Для выявления брюшной тифозной палочки в фекалиях, моче, дуоденальном содержимом используют РИФ с мечеными сыворотками к О- и Vi-антигенам. Предварительный ответ может быть получен в течение 1 ч, окончательный — через 5-20 ч.

Из серологических методов используют РА (Видаля) и РПГА с цистеином. Реакцию Видаля ставят с Н- и О-антигенами с 7-9-го дня заболевания повторяют на 3-4-й неделе для определения нарастания титра (от 1:200 до 1:400-1:800-1:1600). Последнее имеет значение для исключения положительного результата реакции, который может быть обусловлен предшествовавшей иммунизации против брюшного тифа. Ответ может быть получен через 18-20 ч. При постановке РПГА учет результатов проводят после инкубирования пластин при 37° С в течение 1,5-2 ч и повторно — через 24 ч нахождения при комнатной температуре. Положительный считается реакция в титре 1:40 и выше.

Сальмонеллёзы — острые кишечные инфекции животных и человека, вызываемые сальмонеллами. Острое инфекционное зооантропонозное заболевание, вызываемое сальмонеллами и характеризующееся, в общем случае, развитием интоксикации и поражением желудочно-кишечного тракта.

Сальмонеллёзы у человека рассматривают как определённое заболевание (нозологическую форму), отличая его от брюшного тифа и паратифов. Основным источником инфекции — пищевые продукты, реже — больное животное, в отдельных случаях источником заражения может быть человек (больной или бактерионоситель). Заражение происходит через инфицированные пищевые продукты, как правило, животного происхождения (мясо и мясные продукты, молоко, яйца, особенно утиные и гусиные), при вынужденном, неправильном убою животных, нарушении правил хранения и приготовления продуктов (соприкосновение готовой и сырой продукции, недостаточная термическая обработка продуктов перед употреблением и т. д.). Сальмонеллёзы развиваются в тех случаях, когда в организм попадают накопившиеся в продуктах живые сальмонеллы.

На территории РФ наиболее часто встречаются следующие серовары вида *Salmonella enterica* подвид *enterica*: *Salmonella Enteritidis*, *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Infantis*.

Клинические проявления сальмонеллёзов разнообразны — от бессимптомного носительства возбудителя инфекции до тяжёлых септических форм. Инкубационный период колеблется от 2—6 часов до 2—3 суток.

Различают несколько клинических форм сальмонеллёза:

1. Желудочно-кишечная форма
2. Тифоподобная форма
3. Септическая форма

В 15—17 % случаев сальмонеллёзов в периоде реконвалесценции наблюдается кратковременное бактерионосительство. Возможны «транзиторное» носительство (однократное выделение сальмонелл без клинических проявлений) и хроническое бактерионосительство.

Диагностика сальмонеллёза осуществляется комплексно с учетом эпидемиологических данных, симптоматики и результатов лабораторных исследований, направленных на изоляцию и типирование возбудителя. Основным способом типирования

сальмонелл является реакция агглютинации. Для ее проведения до недавнего времени пользовались гипериммунными сыворотками, но в настоящее время им на смену пришли моноклональные антитела к сальмонеллам.

Профилактика.

Ветеринарно-санитарный надзор за убоем скота и обработкой туш; выполнение санитарных правил приготовления, хранения и реализации пищевых продуктов; обследование поступающих на работу на предприятия общественного питания и торговли, детские учреждения.

Шигеллёзы — сборная группа инфекционных заболеваний, вызываемых бактериями рода шигелл (*Shigella*).

Дизентерия — шигеллёз, протекающий с явлениями интоксикации и преимущественным поражением дистального отдела толстой кишки.

Этиология.

Возбудители — грамотрицательные неподвижные (родовой признак) бактерии рода *Shigella* семейства *Enterobacteriaceae*.

Эпидемиология.

Источник инфекции — больные лица и бактерионосители. Шигеллёз регистрируют в течение всего года с подъёмом заболеваемости в тёплый сезон.

Механизмы передачи — фекально-оральный и контактно-бытовой, через воду, пищевые продукты. Определённую роль в распространении инфекции играют насекомые-переносчики: мухи, тараканы.

Инфицирующая доза составляет 200—300 живых клеток, что обычно достаточно для развития заболевания.

Инкубационный период длится 1—7 дней.

Патогенез шигеллеза. Входными воротами инфекции является кишечник, где происходит размножение шигелл. Инвазия шигелл происходит преимущественно в энтероциты дистального отдела толстой кишки, что приводит к разрушению энтероцитов, развитию местных воспалительных изменений в виде отека, гиперемии, эрозии, поверхностных изъязвлений. Эндотоксины шигелл, попадая в кровь, вызывают общую интоксикацию, вплоть до развития эндотоксинового шока, нарушение всех видов обмена веществ — белкового, жирового, водно-солевого, с развитием эксикоза различной степени.

Лечение

Этиотропное (воздействие на возбудителя) лечение производится препаратами:

препараты нитрофуранового ряда (фуразолидон, фурадонин),

хинолины (хлорхинальдон),

фторхинолоны (ципрофлоксацин).

Патогенетическое лечение состоит в дезинтоксикационной терапии изотоническими солевыми растворами (раствор Рингера), энтеросорбентами (энтеросорб, Активированный уголь, Полифепан, Смекта), а так же витаминотерапии. Проводят коррекцию дисбактериоза.

Лабораторная диагностика шигеллеза.

1. Общий анализ крови. Выявляют лейкоцитоз, нейтрофильный сдвиг влево, повышенную СОЭ; степень изменений обычно соответствует тяжести состояния.

2. Бактериологический метод. Материалом для исследования служат испражнения больного и рвотные массы. Используют дифференциально-диагностические среды (Плоскирева, Эндо или Левина).

3. Серологический метод. Исследуют парные сыворотки в РПГА с эритроцитарным антигеном для обнаружения антител и нарастания их титра.

Минимальным условно-диагностическим титром антител к антигену шигелл Флекснера для детей до 3-х лет считают реакцию в разведении 1:100, для остальных антигенов 1:200 или 4-х кратное нарастание титра антител в динамике болезни.

4. Применяют также иммунофлюоресцентный метод, позволяющий обнаружить антиген в

фекалиях, моче, крови; реакцию нарастания титра фага (РНФ), реакцию нейтрализации антител (РНА), иммуноферментный метод (ИФА) и иммунорадиометрический анализ (ИРА).

5. Копроцитологическое исследование проводят с первых дней болезни. При микроскопическом исследовании учитывают повышенное количество лейкоцитов, эритроцитов, клеток кишечного эпителия, наличие крахмала, жира и продуктов его расщепления, цисты простейших, яйца глистов.

Холера (лат. cholera (греч. cholera, от cholē желчь + rheō течь, истекать)) — острая кишечная антропонозная инфекция, вызываемая бактериями вида *Vibrio cholerae*. Характеризуется фекально-оральным механизмом заражения, поражением тонкого кишечника, водянистой диареей, рвотой, быстрейшей потерей организмом жидкости и электролитов с развитием различной степени обезвоживания вплоть до гиповолемического шока и смерти.

Этиология. Известно более 150 серогрупп *Vibrio cholerae*; их разделяют на агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (*V. cholerae* O1) и на не агглютинирующиеся типовой холерной сывороткой O1 (*V. cholerae* non O1).

«Классическая» холера вызывается холерным вибрионом серогруппы O1 (*Vibrio cholerae* O1). Различают два биовара (биотипа) этой серогруппы: классический (*Vibrio cholerae* biovar cholerae) и Эль-Тор (*Vibrio cholerae* biovar eltor).

По морфологическим, культуральным и серологическим характеристикам они сходны: короткие изогнутые подвижные палочки, имеющие жгутик, грамотрицательные аэробы, хорошо окрашиваются анилиновыми красителями, спор и капсул не образуют, растут на щелочных средах (рН 7,6-9,2) при температуре 10-40 °С. Холерные вибрионы Эль-Тор в отличие от классических способны гемолизировать эритроциты барана (не всегда).

Каждый из этих биотипов по O-антигену (соматическому) подразделяется на серотипы. Серотип Инаба (Inaba) содержит фракцию С, серотип Огава (Ogawa) — фракцию В и серотип Гикошима (правильнее Гикосима) (Hikojima) — фракции А, В и С. H-антиген холерных вибрионов (жгутиковый) — общий для всех серотипов. Холерные вибрионы образуют холерный токсин — белковый энтеротоксин.

Vibrio cholerae non-O1 вызывают различной степени тяжести холероподобную диарею, которая также может закончиться летальным исходом

Как пример можно привести большую эпидемию, вызванную *Vibrio cholerae* серогруппы O139 Bengal. Она началась в октябре 1992 в порту Мадрас Южной Индии и, быстро распространяясь по побережью Бенгалии, достигла Бангладеш в декабре 1992, где только за первые 3 месяца 1993 вызвала более чем 100000 случаев заболевания.

Лабораторная диагностика. Цель диагностики: индикация *Vibrio cholerae* в испражнениях и/или рвотных массах, воде, определение агглютининов и вибриоцидных антител в парных сыворотках крови больных

Методика диагностики. Посев бактериологического материала (испражнения, рвотные массы, вода) на тиосульфат-цитрат-жёлчносолевой-сахарозный агар (англ. TCBS), а также на 1 % щелочную пептонную воду; последующий пересев на вторую пептонную воду и высев на чашки со щелочным агаром.

Выделение чистой культуры, идентификация.

Исследование биохимических свойств выделенной культуры — способность разлагать те или иные углеводы, т. н. «ряд сахаров» — сахарозу, арабинозу, маннит.

Реакция агглютинации со специфическими сыворотками

Профилактика. Предупреждение заноса инфекции из эндемических очагов

Соблюдение санитарно-гигиенических мер: обеззараживание воды, мытьё рук, термическая обработка пищи, обеззараживание мест общего пользования и т. д.

Раннее выявление, изоляция и лечение больных и вибрионосителей

Специфическая профилактика холерной вакциной и холероген-анатоксином. Холерная

вакцина имеет короткий (3-6 мес.) период действия.

В настоящее время имеются следующие 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 приёма 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 ослабленных 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 приёма вакцины защита от *V. Cholerae El Tor* была на уровне 65 %.

ХРОНОМЕТРАЖ

- | | |
|---|----------|
| 1. Определение исходного уровня знаний | 90 мин. |
| 2. Самостоятельная работа | 135 мин. |
| 3. Проверка протоколов | 45мин. |
| 4. Уборка рабочего стола | 45мин. |
| 5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом. | 45мин. |

Занятие №3

ТЕМА: БАКТЕРИЙ- ВОЗБУДИТЕЛИ РЕСПИРАТОРНЫХ ИНФЕКЦИЙ (возбудители дифтерии, коклюша, скарлатины).

Учебная цель:

1. Обучить ординаторов методам микробиологической диагностики и специфической профилактики дифтерии, коклюша, скарлатины.

ПЛАН:

1. Таксономия и основные биологические свойства возбудителей дифтерии, коклюша, скарлатины.
2. Эпидемиология, патогенез, иммунитет вызываемых заболеваний.
3. Принципы микробиологической диагностики дифтерии, коклюша, скарлатины.
4. Препараты для этиотропной терапии и специфической профилактики дифтерии, коклюша, скарлатины.

САМОСТОЯТЕЛЬНАЯ РАБОТА

1. Приготовление мазка и окраска по методу Нейссера.
2. Приготовление мазка и окраска по методу Грама.
3. Определение токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
4. Проведение проб на цистиназу и на уреазу дифтерийных и ложно-дифтерийных палочек.

ОСНАЩЕНИЕ

1. Набор для бактериологического исследования:
Штатив – 8шт.
Пинцет -8 шт.
Бактериологическая петля -8 шт.
Флакон с физ.р-ром – 8шт.
Спиртовка -8 шт.
Лоток с подставкой – 8шт.
2. Микроскопы – 8шт.
Иммерсионное масло
3. Набор красок по Граму – 8шт.
4. Набор красок по Нейссеру – 8шт.
5. Пробирки с дифтироидом – 8шт.
6. Демонстрация: токсигенности дифтерийных культур по Оухтерлони.
7. Демонстрация: микропрепарата возбудителя дифтерии, коклюша, стрептококка.
8. Демонстрация: среды Ру, кровяной-теллуритовый агар, КУА.
9. Демонстрация: проба Пизу, проба Закса.
10. Бак. препараты.
11. Таблицы.

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Дифтерийная палочка (*Corynebacterium diphtheriae*) — грамположительные палочковидные бактерии рода *Corynebacterium*. Впервые возбудитель был обнаружен на срезах пленок, полученных из ротоглотки больных в 1883 г. Эдвином Клебсом (нем. Edwin Klebs, 1834—1913). Через год Фридрихом Лёффлером (нем. Friedrich August Johannes Löffler, 1852—1915) была выделена чистая культура. Дифтерийный токсин получили Э. Ру и А. Иерсен (1884—1888 гг.). Анатоксин обнаружил Рамон Гастон в 1923 г. и предложил использовать его для активной иммунизации. *Corynebacterium diphtheriae*

— крупные (1—8 × 0,3—0,8 мкм) прямые, слегка изогнутые полиморфные палочковидные бактерии. На полюсах клеток локализируются метакроматические зёрна волютина, придавая клеткам характерную форму «булавы». Зёрна волютина окрашиваются метиленовым синим по Нейссеру. На микропрепаратах располагаются одиночно или вследствие особенностей деления клеток располагаются в форме латинской буквы V или Y. Спор и капсул не образуют.

Эпидемиология. Источником инфекции при дифтерии являются люди - больные или здоровые носители токсигенных дифтерийных микробов. Наибольшую эпидемическую опасность представляют больные дифтерией зева, носа и гортани, активно выделяющие возбудителей заболевания во внешнюю среду с выдыхаемым воздухом. Незначительное в этом отношении значение играют больные дифтерией глаз, кожи, раны и других локализаций, способные распространять инфекцию контактным путем (через руки, предметы быта).

Патогенез. Входными воротами возбудителей дифтерии могут быть практически все области покровов (кожи и слизистых) макроорганизма. Однако наиболее часто ими является слизистая оболочка ротоглотки, намного реже - гортани, носа, конъюнктив, половых органов, раневая поверхность, кожа и др. Токсигенные коринебактерии фиксируются на клетках тканей, размножаются и в процессе жизнедеятельности продуцируют экзотоксин, оказывающий местное и общее воздействие, обуславливающее практически все проявления патологического процесса. Микробные клетки за пределы тканей, являющихся воротами инфекции, как правило, не распространяются и непосредственного участия в поражении макроорганизма не принимают.

Дифтерийный экзотоксин состоит из нескольких фракций, каждая из которых обладает самостоятельным биологическим действием. Одна из них - гиалуронидаза: разрушает гиалуроновую кислоту капилляр и повышает их проницаемость. Это ведет к выходу за пределы сосудов жидкой части крови, пропитыванию пораженных тканей плазмой, содержащей наряду с другими компонентами фибриноген. Вторая - некротоксин - вызывает некроз эпителия на месте ворот инфекции, сопровождающийся выделением из эпителиальных клеток тромбокиназы. Последняя способствует превращению фибриногена в фибрин и образованию на поверхности пораженных тканей фибриновой пленки. Небные миндалины, в отличие от других органов, покрыты многорядным эпителием. В результате образующаяся при дифтерии фибриновая пленка проникает глубоко внутрь эпителиального покрова и плотно спаяна с тканями. Третья фракция дифтерийного токсина - истинный дифтерийный токсин (основной его компонент) способен вытеснять из клеточных структур цитохром B и таким образом блокировать в них процессы клеточного дыхания и синтеза белковых молекул. Наиболее чувствительными к этим изменениям являются миокард, капилляры и нервные клетки. В кардиомиоцитах развиваются явления миокардиодистрофии с последующим их некрозом, миолизом и развитием инфекционно-токсического миокардита. Поражение капилляров при дифтерии сопровождается инфекционно-токсическим шоком. Повреждение нервных клеток сопровождается дистрофическими изменениями швановских клеток и демиелинизацией нервных волокон. Наряду с отмеченным, общее действие дифтерийного токсина проявляется явлениями общей интоксикации.

Основу лабораторной диагностики составляют бактериологические исследования: выделение возбудителя из очага воспаления, определение его типа и токсигенности. Материал отбирают стерильными ватными тампонами, сухими или смоченными (до стерилизации!) 5% раствором глицерина. При хранении и транспортировке тампоны предохраняют от охлаждения и высыхания. Материал должен быть посеян не позднее 2-4 ч после взятия. У больных ангиной, бывших в контакте с больными дифтерией, а также у лиц с типичными клиническими проявлениями дифтерии диагноз ставят даже при отрицательном результате бактериологического исследования.

Вспомогательное значение имеет определение титров антитоксических антител в

парных сыворотках при постановке РНГА. Токсинообразование выявляют, используя РНГА с антительным эритроцитарным диагностикумом. Для выявления дифтерийного токсина предложено использовать ПЦР.

Основным в лечении дифтерии считают введение антитоксической противодифтерийной сыворотки. Она нейтрализует токсин, циркулирующий в крови, следовательно, оказывает наибольший эффект при раннем применении

Профилактические мероприятия. Вакцинопрофилактика остаётся основным способом контроля дифтерии. Схема иммунизации детей предусматривает иммунизацию вакциной АКДС начиная с 3 мес жизни (вакцинируют 3-кратно с интервалом 30-40 дней). Ревакцинацию проводят через 9-12 мес после законченной вакцинации. Для ревакцинации в 6-7, 11-12 и 16-17 лет применяют АДС-М. В отдельных случаях, например при противопоказаниях к коклюшному компоненту АКДС, АДС-М применяют и для вакцинации.

Коклюш (whooping-cough - англ.; Keuchhusten - нем; Coqueluche - франц.) и паракоклюш - острые инфекционные болезни, клинически неотличимые друг от друга. Характеризуется острым катаром дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Возбудитель коклюша (*Bordetella pertussis*) представляет собой короткую палочку с закругленными концами (0,2-1,2 мкм), грамтрицательную, неподвижную, хорошо окрашивающуюся анилиновыми красками. В антигенном отношении неоднородна. Антиген, который обуславливает образование агглютининов (агглютиноген), состоит из нескольких компонентов. Они названы факторами и обозначаются цифрами от 1 до 14. Фактор 7 является родовым, фактор 1 содержит *B. pertussis*, 14 - *B. parapertussis*, остальные встречаются в разных комбинациях; для возбудителя коклюша это факторы 2, 3, 4, 5, 6, для паракоклюша - 8, 9, 10. Реакция агглютинации с адсорбированными факторными сыворотками позволяет дифференцировать виды бордетелл и определять их антигенные варианты. Возбудители коклюша и паракоклюша очень неустойчивы во внешней среде, поэтому посев нужно делать сразу же после взятия материала. Бактерии быстро погибают при высушивании, ультрафиолетовом облучении, под влиянием дезинфицирующих средств. Чувствительны к эритромицину, левомицетину, антибиотикам тетрациклиновой группы, стрептомицину.

Патогенез. Ворота инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Коклюшные микробы прикрепляются к клеткам мерцательного эпителия, где они размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. На месте внедрения возбудителя развивается воспалительный процесс, угнетается деятельность ресничного аппарата клеток эпителия и увеличивается секреция слизи. В дальнейшем происходит изъязвление эпителия дыхательных путей и очаговый некроз. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, менее выраженные изменения развиваются в трахее, гортани и носоглотке. Слизисто-гнойные пробочки закупоривают просвет мелких бронхов, развивается очаговый ателектаз, эмфизема. Наблюдается перибронхиальная инфильтрация. В генезе судорожных приступов имеет значение сенсibilизация организма к токсинам коклюшной палочки. Постоянное раздражение рецепторов дыхательных путей обуславливает кашель и приводит к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты. Вследствие этого типичные приступы спазматического кашля могут быть вызваны и неспецифическими раздражителями. Из доминантного очага возбуждение может иррадиировать и на другие отделы нервной системы, например на сосудодвигательный (повышение АД, спазм сосудов). Иррадиацией возбуждения объясняется также появление судорожных сокращений мышц лица и туловища, рвоты и других симптомов коклюша. Перенесенный коклюш (как и противокклюшные прививки) не обеспечивает напряженного пожизненного иммунитета, поэтому возможны повторные заболевания коклюшем (около 5% случаев коклюша приходится на взрослых людей).

Достоверный диагноз в катаральном периоде может быть поставлен после получения результатов бактериологических исследований. Основанием для исследования в этих случаях обычно служат эпидемиологические данные (контакт с больными коклюшем, отсутствие данных о прививках и др.). В периоде спазматического кашля диагноз коклюша поставить значительно легче, так как появляются типичные приступы. Однако нужно учитывать, что иногда приступы кашля, сходные с коклюшными, могут быть обусловлены другими причинами (аденовирусная инфекция, вирусные пневмонии, сдавление дыхательных путей при злокачественных новообразованиях, инфекционном мононуклеозе и др.), с другой стороны, коклюш может протекать атипично без характерных приступов (у привитых детей, у взрослых). Основным методом лабораторного подтверждения диагноза является выделение возбудителя коклюша. Частота выделения зависит от сроков взятия материала; на 1-й неделе заболевания положительные результаты удается получить у 95% больных, на 4-й - лишь у 50%, а начиная с 5-й недели, микроб выделить уже не удастся. Материал из носоглотки берут сухим тампоном с немедленным посевом на чашки с селективной питательной средой. Используют также метод "кашлевых пластинок", при котором чашка Петри с питательной средой устанавливается перед ртом кашляющего ребенка (на расстоянии около 10 см), удерживается в таком положении несколько секунд, чтобы уловить 5-6 кашлевых толчков. Чашку с посевом быстро закрывают крышкой и помещают в термостат. При транспортировке оберегают от охлаждения (заворачивают в бумагу, вату, в контейнер помещают грелку, заполненную горячей водой). Однако по частоте выделения возбудителей коклюша метод "кашлевых пластинок" значительно уступает взятию материала тампоном. Серологические методы можно использовать для ретроспективной диагностики, а также у больных с отрицательными результатами бактериологических исследований. Из старых методов можно использовать РСК, РПГА, реакцию агглютинации. Диагностическим считается нарастание титров антител в 4 раза и более, а также высокие титры антител (1:80 и выше).

В последнее время успешно используют иммуноферментный метод для обнаружения антител в сыворотке (иммуноглобулины класса М) и в носоглоточной слизи (иммуноглобулины класса А). Эти антитела появляются со 2-3-й недели болезни и сохраняются в течение 3 мес.

Скарлатина - острое инфекционное заболевание, проявляющееся мелкоточечной сыпью, лихорадкой, общей интоксикацией, ангиной. Возбудитель болезни – стрептококк группы А (*Streptococcus pyogenes*). Заражение происходит от больных воздушно-капельным путем (при кашле, чихании, разговоре), а также через предметы обихода (посуда, игрушки, белье). Особенно опасны больные как источники инфекции в первые дни болезни.

Источниками возбудителя инфекции являются больной скарлатиной или любой другой клинической формой стрептококковой инфекции и бактерионоситель. Чаще болеют дети 3—10 лет, посещающие детские дошкольные учреждения и школу. Появлению случаев скарлатины в детских учреждениях, как правило, предшествует повышенный уровень заболеваемости ангинами и острыми респираторными вирусными инфекциями. Дети первого года жизни (особенно первого полугодия) и взрослые скарлатиной болеют редко. Основной путь передачи возбудителя инфекции — воздушно-капельный.

Патогенез

Возбудитель проникает в организм человека через слизистые оболочки зева и носоглотки, в редких случаях возможно заражение через слизистые оболочки половых органов или поврежденную кожу. В месте адгезии бактерий формируется местный воспалительно-некротический очаг. Развитие инфекционно-токсического синдрома обусловлено в первую очередь поступлением в кровяной ток эритрогенного токсина стрептококков (токсина Дика), а также действием пептидогликана клеточной стенки. Токсинемия приводит к генерализованному расширению мелких сосудов во всех органах,

в том числе в кожных покровах и слизистых оболочках, и появлению характерной сыпи. Синтез и накопление антитоксических антител в динамике инфекционного процесса, связывание ими токсинов в последующем обуславливают уменьшение и ликвидацию проявлений токсикоза и постепенное исчезновение сыпи. Одновременно развиваются умеренные явления периваскулярной инфильтрации и отёка дермы. Эпидермис пропитывается экссудатом, его клетки подвергаются ороговению, что в дальнейшем приводит к шелушению кожи после угасания скарлатинозной сыпи. Сохранение прочной связи между ороговевшими клетками в толстых слоях эпидермиса на ладонях и подошвах объясняет крупнопластинчатый характер шелушения в этих местах.

Компоненты клеточной стенки стрептококка (групповой А-полисахарид, пептидогликан, белок М) и внеклеточные продукты (стрептолизины, гиалуронидаза, ДНК-аза и др.) обуславливают развитие реакций гиперчувствительности замедленного типа, аутоиммунных реакций, формирование и фиксацию иммунных комплексов, нарушения системы гемостаза. Во многих случаях их можно считать причиной развития гломерулонефрита, артериитов, эндокардитов и других осложнений иммунопатологического характера.

Скарлатину следует отличать от кори, краснухи, псевдотуберкулёза, лекарственных дерматитов. В редких случаях развития фибринозных налётов и особенно при их выходе за пределы миндалин заболевание необходимо дифференцировать от дифтерии.

Скарлатину отличают яркая разлитая гиперемия ротоглотки («пылающий зев»), резко ограниченная в месте перехода слизистой оболочки на твёрдое нёбо, ярко-красный язык с малиновым оттенком и гипертрофированными сосочками («малиновый язык»), мелкоточечные элементы сыпи на общем гиперемированном фоне, сгущение сыпи в виде тёмно-красных полос на кожных складках в местах естественных сгибов, отчётливо выраженный белый дермографизм, бледный носогубной треугольник (симптом Филатова). При надавливании на кожу ладонью сыпь в этом месте временно исчезает («симптом ладони»), положительны эндотелиальные симптомы. После исчезновения экзантемы отмечают мелкочешуйчатое шелушение кожи (на ладонях и подошвах крупнопластинчатое).

Лабораторная диагностика

Диагноз скарлатины основывается на клинических (острое начало заболевания, лихорадка, интоксикация, острый катаральный или катарально-гнойный (при септической форме болезни - некротический), тонзиллит, обильная точечная сыпь, сгущающаяся в естественных складках кожи и лабораторных (нейтрофильный лейкоцитоз, повышенная СОЭ, обильный рост бетагемолитических стрептококков при посеве материала из очага инфекции на кровяной агар, нарастание титров антител к стрептококковым антигенам - М-протеину, А-полисахариду, стрептолизину-О и другим) данных.

ХРОНОМЕТРАЖ

1. Определение исходного уровня знаний	80 мин.
2. Самостоятельная работа	90мин.
3. Проверка протоколов	45мин.
4. Уборка рабочего стола	45мин.
5. Контроль конечного уровня знаний и задание на дом.	55 мин.