Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации Фармацевтический колледж

**ДИПЛОМНАЯ РАБОТА**

Тема: Диагностика стрептококковых инфекций

по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика

Красноярск 2022

Содержание

Введение

Инфекции, вызванные стрептококками, находиться в числе наиболее острых проблем здравоохранения во всем мире. Разные виды стрептококка относятся возбудителем широкого спектра инфекционных болезней человека.

Актуальность:

Известны случаи тяжелых инвазивных инфекций, вызванных стрептококками группы А, В, С, G. Наиболее значимые этиологические агенты при хирургических инфекциях мягких тканей —стрептококки группы А (СГА), которые могут вызывать тяжелые генерализованные состояния, сопровождающиеся высокой летальностью (некротический фасциит, синдром стрептококкового токсического шока, миозит, бактериемия, хирургическая раневая инфекция, септический артрит и т.д.).

Эпидемиологическая ситуация, связанная с распространением стрептококковой инфекции и постстрептококковых заболеваний в Красноярске, в последние десятилетия остается напряженной. По данным Всемирной организации здравоохранения, в мире ежегодно происходит свыше 616 млн случаев стрептококкового фарингита. Стрептококк группы А (СГА) является наиболее распространенной причиной заболеваемости и смертности при инфекционных заболеваниях и одним из основных патогенов человека. Распространенность тяжелых случаев СГА-инфекции во всем мире составила 18,1 млн человек. В то же время в последние годы в некоторых странах регистрируются вспышки скарлатины.

Цель: проведение диагностики стрептококковой инфекции.

Задачи:

1. Дать общую характеристику различным формам стрептококковой инфекции и методам диагностики по литературным данным.
2. Изучить эпидемиологические проявления различных форм стрептококковой инфекции на территории Красноярского края.
3. Провести диагностику биологического материала, выделенных от больных с различными серогруппами.
4. Сделать выводы о проделанной работе в соответствии с задачами.

Объект исследования: стрептококковые инфекции

Предмет исследования методы диагностики стрептококковой инфекции

Место исследования: ФМБА

Практическая значимость данной работы заключается в применении полученных результатов исследования в области диагностики инфекционных заболеваний при подготовке медицинских лабораторных техников.

 Структурно дипломная работа состоит из введения, двух глав, заключения.

Во введении раскрыты актуальность, цель и задачи дипломной работы.

В первой главе проведено изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств гонококка, его роль в инфекционном процессе.

Вторая глава представлена практической частью, в которой описана микробиологическая диагностика заболеваний, вызванных гонококком, в том числе и современные методы исследования, проведен анализ статистических данных по устойчивости гонококка к антибиотикам.

В заключении сформулированы основные выводы по дипломной работе.

**ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА СТРЕПТОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ**

Стрептококковые инфекции вызывают стрептококки, преимущественно β-гемолитические группы А.

Стрептококки группы А вызывают заболевания верхних дыхательных путей, такие как ангина, фарингит, скарлатина; так же могут вызывать местные воспалительные процессы с локализацией в различных органах и системах: менингит, отит, рожистое воспаление, гломерулонефрит, ревматизм, сепсис.

Стрептококки группы В вызывают септические инфекции у беременных женщин, часто становясь причиной менингита у новорождённых.

Стрептококки группы А включают в себя более 80 серологических типов. Один и тот же серотип стрептококка может вызывать как носительство, так и любое заболевание.

Отдельные штаммы стрептококков могут продуцировать ряд различных токсинов и ферментов агрессии. В зависимости от активности данных веществ изменяется вирулентность отдельных видов стрептококков.

Наиболее значимые токсины стрептококков:

а) токсин эритрогенин оказывает на организм наибольшее воздействие:

1. цитотоксическое,
2. пирогенное,

б) симпатикотропные свойства, вызывают у больных нарушение кровообращения, подавляет функции ретикулоэндотелиальной системы.

в) стрептолизин S оказывает на организм иммуносупрессорное (подавляющее) действие.

Стремительное распространение инфекции обусловлено устойчивостью стрептококков во внешней среде. Данные микроорганизмы хорошо переносят замораживание, в высохшем гное способны сохраняться неделями и месяцами. При этом быстро погибают под действием дезинфицирующих средств и антибиотиков.

Источником инфекции является человек, больной любой формой стрептококковой инфекции, а также носитель патогенных штаммов стрептококка.

Большую роль в распространении инфекции играют дети с поражением носа, ротоглотки и бронхов, особенно посещающие детские сады и школы, а также взрослые с атипичными формами стрептококковых заболеваний и носители стрептококка, имеющие хронические заболевания.

Основной путь передачи стрептококковой инфекции – воздушно-капельный, при этом интенсивность распространения увеличивается при кашле и чихании.

Так же существует контактно-бытовой путь передачи у детей раннего возраста, через инфицированные игрушки и предметы ухода.

Для стрептококковой инфекции возможен и пищевой путь передачи. Так как стрептококки быстро размножаются в молочных продуктах, употребление их в пищу может вызывать вспышки стрептококковых заболеваний, с характерными чертами пищевых токсикоинфекций.

Восприимчивость организма человека к стрептококку высокая. В зависимости от возрастной группы чаще встречаются определённые клинические формы стрептококковой инфекции.

Так гнойно-воспалительные заболевания чаще встречаются у новорождённых и детей первых месяцев жизни. При этом скарлатина у них практически не наблюдается из-за приобретённого от матери антитоксического иммунитета. У детей более старших возрастных групп реже встречаются гнойно-воспалительные заболевания и наиболее чаще скарлатина. У взрослых же преобладают другие формы стрептококковых инфекций [3].

1.1 Классификация стрептококков

Стрептококки – это грамположительные аэробные микроорганизмы, имеют шаровидную или овальную форму. Располагаются попарно или в виде цепочек различной длины, это обусловлено делением их в одной плоскости. Стрептококки неподвижны, не имеют спор, иногда образуют капсулу.

Относятся к семейству Streptococcaceae, который содержит 7 родов. Род Streptococcus включает в себя 21 вид, в том числе патогенные для человека S. pyogenes, S. pneumoniae, S. agalactiae.

Классификация стрептококков по гемолитическим свойствам.

Все стрептококки дифференцируются на три различных группы в зависимости от характера зоны гемолиза при выращивании культуры на кровяном агаре:

1. Бета-гемолитические стрептококки образуют зоны прозрачного гемолиза вокруг каждой колонии. К ним относятся патогенные стрептококки, вызывающие гнойно-воспалительные заболевания, S. pyogenes, S. agalactiae.
2. Альфа-гемолитические стрептококки окружены зоной зеленоватой окраски, образующейся в результате частичного гемолиза, то есть преобразования гемоглобина крови в метгемоглобин. Это такие стрептококки как S. pneumonia и стрептококки группы viridans.
3. Гамма-гемолитические стрептококки не образуют зоны гемолиза вокруг колоний.

Классификация стрептококков по антигенной структуре клеточной стенки.

Стрептококки имеют сложное антигенное строение. Поэтому серологическая классификация получила большое практическое значение.

Классификация Ребекки Ленсфилд подразделяет стрептококки на 20 групп, которые обозначаются буквами A, B, C, D, F, G и так далее. Данная классификация основана на наличии или отсутствии антигена С на поверхности клеточной стенки бактерий.

Антиген С является общим для всего рода антигеном. При этом в клеточной стенке различных групп также имеются группоспецифические полисахаридные антигены, которые имеют особое значение для определения групповой принадлежности стрептококка и вызываемого им заболевания. Группоспецифические антигены определяются с помощью реакции преципитации с соответствующими антисыворотками.

Большинство видов патогенных стрептококков относятся к группам A, B и D, реже – к C, F и G. Стрептококки групп K – V классификации Лэнсфилд имеют ограниченную вирулентность, поэтому могут вызывать заболевания только у людей с ослабленным иммунитетом.

Существуют стрептококки, которые не имеют антигенов в структуре своей клеточной стенки, в том числе и антигена С. К ним относятся стрептококки группы viridans, которые формируют отдельную группу, так как плохо поддаются классификации.

Типоспецифическими антигенами стрептококков группы А являются белки М, Т и R. Белковый М антиген располагается на поверхности, в виде нитевидных образований, оплетающих бактериальную клетку. Антиген М является устойчивым в кислой среде, но разрушается под действием трипсина и пепсина. Белок М обнаруживается с помощью реакции преципитации после соляно-кислого гидролиза культуры. Т-антиген наоборот устойчив к воздействию трипсина и пепсина, а при нагревании в кислой среде разрушается. Белок Т определяют при помощи постановки реакции агглютинации. Антиген R присутствует у стрептококков не только группы А, но и серогрупп В, С и D. Белок R не чувствителен к трипсину, но восприимчив к пепсину, также разрушается при нагревании в присутствии кислоты, но устойчив при умеренном нагревании в слабом растворе щелочи.

По антигену М стрептококки группы А подразделяются на большое количество серовариантов, определение которых имеет большое диагностическое значение. Также стрептококк группы А делятся на десятки серовариантов по антигену Т. Стрептококки группы В делятся на 8 серовариантов.

В клеточной стенке стрептококков также находятся перекрёстно реагирующие антигены, такие же антигены имеют клетки базального слоя эпителия кожи и эпителиальные клетки корковой и медуллярной зон тимуса, что возможно может вызывать некоторые аутоиммунные нарушения. Так же был обнаружен антиген клеточной стенки стрептококка, который обуславливает взаимодействие микробной клетки с Fc-фрагментом молекулы IgG [10].

1.2 Факторы вирулентности

Многие стрептококки вырабатывают факторы вирулентности, включая стрептолизины, ДНКазы и гиалуронидазу, которые способствуют разрушению ткани и распространению инфекции. Отдельные штаммы продуцируют экзотоксины, которые активируют определенные Т-клетки, вызывая высвобождение цитокинов, включая фактор некроза опухоли-альфа, интерлeйкины и другие иммуномодуляторы. Эти цитокины активизируют комплемент, коагуляцию и фибринолитические системы, что ведет к шоку, полиорганной недостаточности и смерти. [2]

Фибронектин-связывающие белки (F1, F2, Sfb1, Sfb2, SOF, PFBP, FbaA, FbaB) облегчают создание агрегатов и защищают микробные клетки от фагоцитоза. Каждый М-тип стрептококка продуцирует свой связывающий белок. Сразу несколько белков могут вырабатывать только М-типы, обладающие высокой вирулентностью.

ДНКаза (стрептодорназа) гидролизует ДНК, способствует инвазивности стрептококков, повышает мобильность возбудителя, снижая вязкость экссудата.

Стрептокиназа (фибринолизин) представляет собой фермент, помогающий растворять фибриновые сгустки и в результате этого увеличивает инвазивные свойства стрептококка.

Гиалуронидаза является фактором инвазии, разрушает гиалуроновую кислоту соединительной ткани хозяина, способствуя распространению возбудителя по организму.

Пептидаза (С5а-пептидаза) расщепляет С5а-компонент комплемента, мешает перемещению к месту воспаления нейтрофилов, угнетает подвижность фагоцитов.

Стрептолизин S – гемолизин, вызывает лизис эритроцитов, приводя к образованию зон гемолиза вокруг колоний на чашках с кровяным агаром. Синтезируется β-гемолитическими стрептококками группы А. Стрептолизин S связывается с фосфолипидами, в результате чего нарушается целостность мембран клеток различных органов.

Стрептолизин О – белок, относящийся к порообразующим цитотоксинам. Нарушает процессы окислительного фосфорилирования в митохондриях. Антитела к стрептолизину О блокируют гемолиз. Синтезируется βгемолитическими стрептококками групп А, С и G.

Стрептококковые пирогенные экзотоксины (эритрогенный токсин Дика, токсин сыпи, скарлатинозный токсин, эритрогенин) кодируются генами умеренных бактериофагов или хромосомными генами. У больных скарлатиной эритрогенный токсин вызывает появление ярко-красной сыпи на коже и слизистых оболочках. Скарлатину могут вызывать только те штаммы S. pyogenes, которые продуцируют эритрогенный токсин. Синтез эритрогенного токсина у возбудителя скарлатины связан с лизогенией: токсин синтезируют только те штаммы, которые заражены умеренным бактериофагом. Штаммы, не зараженные умеренным фагом, не продуцируют токсин. Эритрогенный токсин обладает некротическим действием на эндотелий сосудов.

Стрептококковые пирогенные токсины вызывают активацию Т-лимфоцитов и последующий выброс цитокинов, которые оказывают системный токсический эффект на организм (лихорадка, рвота, диарея, сыпь, боли в мышцах, снижение артериального давления).

Лейкоцидин разрушает лейкоциты, подавляет фагоцитоз.

Кардиогепатический токсин продуцируют некоторые штаммы стрептококков группы А. Этот токсин вызывает поражение миокарда и образование гранулем в печени.

Стрептоцины (бактериоцины) стрептококков относятся к группе медиаторов межмикробного взаимодействия. Они участвуют в колонизации стрептококками определенного биотопа организма, препятствуя размножению других бактерий. [9]

1.3 Болезни, вызываемые стрептококками

Наиболее значимым патогеном из группы стрептококков является S. pyogenes, который является бета-гемолитическим и по классификации Лэнсфилда относящийся к группе А, поэтому его относят к бета-гемолитическим стрептококкам группы А (БГСА).

Самыми распространенными острыми заболеваниями, вызванными GABHS (Group A beta-hemolytic streptococcal), являются:

1. Фарингит
2. Инфекции кожи

Кроме того, отдаленные негнойные осложнения

1. ревматизм;
2. острый гломерулонефрит;

наблюдаются спустя 2 недели после инфекции.

Бета-гемолитический стрептококк группы А может распространяться через поражённые ткани и вдоль лимфатических каналов (вызывая лимфангиты) к региональным лимфоузлам (вызывая лимфадениты). БГСА могут также вызывать местные гнойные осложнения, такие как перитонзиллярный абсцесс, средний отит, синусит и бактериемию. Нагноение зависит от тяжести инфекции и восприимчивости ткани.

Другие тяжелые инфекции БГСГА включают септицемию, послеродовый сепсис, эндокардит, пневмонию и эмпиему.

Заболевания, вызываемые другими штаммами стрептококков, менее распространены и обычно включают инфекцию мягких тканей или эндокардит (Таблица 1). Некоторые инфекции, вызываемые не β-гемолитическими стрептококками группы А, развиваются у определенных групп населения (например, стрептококки группы B вызывают заболевания у новорожденных и рожениц). [2.]

ГЛАВА 2. ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ СТРЕПТОКОККА ГРУППЫ В

Провести диагностику биологического материала, выделенных от больных с различными серогруппами.

2.1 Диагностика стрептококковых инфекций

Ведущую роль в диагностике стрептококковых инфекций играют лабораторные методы исследования. При подозрении на стрептококк больным назначают:

1. культуральные исследование
2. бактериологическое исследование биоматериалов (налета с миндалин, отделяемого из половых органов, содержимого пузырьков на коже, крови) – используется для выделения и определения типа возбудителя;
3. серологическая диагностика (иммуноферментный анализ, метод цепной полимеразной реакции) – применяется для обнаружения в крови антител к возбудителю, выделяемым им токсинам.
4. экспресс-диагностика на антиген или титры антител [1].

Стрептококки быстро идентифицируются посевом в питательной среде с бараньей кровью.

Существуют **тесты для быстрого выявления антигена**, которые могут обнаружить β-гемолитические стрептококки группы А непосредственно по мазку из ротоглотки (например, для диагностики на месте). Многие анализы основаны на иммуноферментном анализе, но в последнее время стали применяться анализы с использованием оптического иммунологического исследования. Эти быстрые тесты имеют высокую специфичность (>95%), но варьируют в значительной степени по чувствительности (от 55 до 80–90% у более современных оптических иммунологических анализов). Таким образом, положительные результаты могут установить диагноз, но отрицательные результаты, по крайней мере у детей, должны быть подтверждены культуральным исследованием. Поскольку стрептококковый фарингит реже встречается у взрослых, у которых маловероятны постстрептококковые осложнения, многие врачи не подтверждают отрицательный результат экспресс-скрининга методом культуры у взрослых, если только не рассматривается применение макролидов; в таких случаях следует провести посев культур с тестированием на чувствительность к антибактериальным препаратам для выявления устойчивости к макролидам.

Обнаружение **антистрептококковых антител** в сыворотке крови в период выздоровления дает лишь косвенные доказательства инфекции. Анализ на противострептококковые антитела не являются целесообразным при диагностике острой БГСА-инфекции, поскольку антитела впервые вырабатываются через несколько недель после начала болезни, а повышение одного титра антител, скорее всего, отражает длительную предшествующую инфекцию. Обнаружение антител является основным при диагностике постстрептококковых заболеваний, таких как ревматизм и гломерулонефрит.

Титры антистрептолизина O (АСЛ-О) и антидезоксирибонуклеазы В (анти-ДНКазы B) начинают расти примерно через 1 неделю после заражения БГСА и достигают максимума через 1-2 месяца после заражения. Оба титра могут оставаться повышенными в течение нескольких месяцев, даже после неосложненных инфекций. Титры измеряются в острой фазе и в фазе выздоровления, спустя 2-4 недели. Результат считают положительным при увеличении титра в 2 и больше раза. Повышение одного титра выше верхнего предела нормы, указывает на предшествующую стрептококковую инфекцию или высокую стрептококковую эндемичность в социальной среде. Титр АСO повышается только в 75–80% инфекций. Для окончательного подтверждения диагноза в трудных случаях может также использоваться любой из других анализов (антигиалуронидаза, антиникотинамид аденин динуклеотидаза, антистрептокиназа).

Пенициллин, который назначают в течение первых 5 дней при симптоматическом стрептококковом фарингите, может задержать появление и уменьшить интенсивность иммуного ответа на антистрептолизин.

Пациенты со стрептококковой пиодермией обычно не дают выраженного иммунного ответа на антистрептолизин, но могут дать реакцию на другие антигены (т.е. анти-ДНКаза, антигиалуронидаза).

Гемолитические стрептококки группы B – одна из частых причин гнойно-септических осложнений у женщин в послеродовом периоде, а также тяжелых состояний у новорожденных. [2.]

Для постановки этиологического диагноза и определения адекватной тактики антибиотикотерапии пробы материала немедленно доставляют в клинико-диагностические лаборатории больниц, диспансеров и в микробиологические лаборатории учреждений Роспотребнадзора, где определяют видовую принадлежность стрептококков и их чувствительность к антибиотикам. Если посев может быть выполнен не ранее, чем через 24 часа или при доставке проб в отдаленные лаборатории рекомендуют транспортные среды (например модифицированная среда Стюарта) или метод «полоски фильтровальной бумаги» Исследуемый материал высевают на агар с добавлением 5% дефибринированной крови барана, лошади или крупного рогатого скота и инкубируют чашки в атмосфере с 5- 7% содержанием углекислого газа при температуре 35-37°С в течение 1-2 суток. После этого отбирают колонии с β-гемолизом и характерной морфологией, затем определяют серогрупповую принадлежность с помощью соответствующих сывороток. Система группирования на основе группоспецифического антигена позволяет идентифицировать подавляющее большинство патогенных для человека β-гемолитических стрептококков. Группоспецифические поверхностные антигены являются либо полисахаридами клеточной стенки, как у выделяемых от людей стрептококков серогрупп А 17 (преимущественно S. pyogenes), B (S. agalactiae), С, F и G, либо тейхоевыми кислотами, как у стрептококков группы D. Определение серогруппы осуществляют с помощью группоспецифических антисывороток в реакциях преципитации, агглютинации, иммунофлюоресценции и ИФА с помощью широко представленных коммерческих тестсистем. Посев глоточной культуры признан наиболее надежным методом определения присутствия СГА в глотке. В качестве дополнительных диагностических исследований применяют иммунологические, молекулярно-биологические и экспрессные тест-системы (экспрессстрептотесты), зарегистрированные в Российской Федерации. Использование каждого из этих методов помогает врачу в выборе верного направления в диагностике и лечении СГА-заболеваний. Экспресс-идентификация СГА в пробах от больных с подозрением на скарлатину, острые воспалительные заболевания ЛОР органов и гнойничковыми поражениями кожи осуществляют с помощью коммерческих тест-систем, в основу которых положено определение группоспецифических антигенов СГА, экстрагируемых непосредственно с тампонов. При выделении с тампонов 10 и более колоний стрептококка чувствительность и специфичность экспресс-тестов составляют свыше 90% от соответствующих показателей культуральных методов, что позволяет с успехом использовать данные системы у лиц с выраженными микробными очагами, т.е. главным образом среди больных в первые дни (или в начале болезни). Этот метод диагностики применяют с целью назначения своевременной этиотропной терапии, выявления в организованных коллективах, в стационарах носителей S. pyogenes и обоснования решения о проведении экстренной профилактики вспышечной заболеваемости стрептококковой респираторной инфекции. При использовании экспресс-тестов следует учитывать, что их чувствительность не является фиксированной величиной и зависит от количества микроорганизмов в материале и выраженности клинической картины. К настоящему времени в мире выпускается более 180 экспресс-тест-систем. Все они основаны на выявлении антигена группового полисахарида СГА различными методами. Выделяют два поколения таких тестов. Первое поколение тестов выявляет антиген с помощью реакции агглютинации (коагглютинация или латекс-агглютинация) и отличается низкой чувствительностью и специфичностью (55% и 90% соответственно) относительно культуральных исследований. Экспресс-тесты второго поколения на основе методов иммуноферментного анализа, иммунохроматографии или оптического иммунного анализа имеют достаточно высокие показатели чувствительности и специфичности (>95%) относительно 18 микробиологических исследований, включены в стандарты диагностики ангины и фарингита и с успехом применяются уже длительное время во многих экономически развитых странах мира. Например, во Франции использование одного из таких экспрессстрептотестов рекомендовано и применяется на национальном уровне уже около десяти лет, в результате чего существенно уменьшилась доля необоснованных назначений антибиотиков при лечении тонзиллофарингитов. Именно эти тесты прошли сертификацию и успешные клинические испытания в ведущих клиниках России и стали доступны для отечественной медицины. Иммунохроматографический экспресс-тест представляет из себя твердофазный качественный диагностикум для выявления стрептококка группы А в экстрагирующем растворе, полученном из мазка, взятого из зева. Входящая в набор тест-полоска содержит мембрану. Над ней возникает иммунологическая реакция по «сэндвич»-принципу через хроматографическую систему. Экспресс-идентификация проводится в медицинском кабинете детского учреждения, кабинете врача поликлиники или у постели больного в соответствии с несложной инструкцией к использованию. Процедура выполняется в течении 5-10 минут. Экспресстесты 2 поколения могут быть рекомендованы к использованию как средство ранней диагностики при всех случаях тонзиллофарингитов при необходимости начать этиотропное лечение не дожидаясь результатов культуральных методов исследования, или при невозможности их выполнения, а также при расследовании вспышек ангин, фарингитов и скарлатины в организованных коллективах. Серодиагностика СГА инфекции основана на определении антител к экстрацеллюлярным антигенам. Истинные инфекции, вызванные стрептококком серогруппы А, всегда вызывают специфический иммунный ответ, что сопровождается значительным повышением титров антител к одному из внеклеточных стрептококковых антигенов – стрептолизину О, дезоксирибонуклеазе В, гиалуронидазе или никотинамидаденин-динуклеотидазе. При остром ревматизме и гломерулонефрите практически всегда происходит повышение титра антистрептококковых антител, что наблюдается в начале острой фазы заболевания и заканчивается в период реконвалесценции. Если определить антитела к трем различным антигенам, в 97% случаев титр хотя бы к одному из них будет повышен [ВОЗ, 1998]. Уровень антител к каждому из внеклеточных антигенов определяют с помощью классических иммунологических исследований (например, реакция нейтрализации, агглютинации, фотометрические методы исследования). Наиболее широко представлены на рынке тест-системы для определения антистрептолизина-О (АСЛ-О). Для качественного и полуколичественного определения этих антител в сыворотке крови существуют латексные экспресс-тесты и тест-системы на 19 основе ИФА. Наборы для количественного определения АСЛ-О также предлагаются многими производителями спектрофотометрических биохимических анализаторов. Диагностические тесты на основе определения антител к другим экстрацеллюлярным антигенам СГА в продаже практически не представлены, что не позволяет проводить серодиагностику СГА-инфекции в комплексе, и снижает ее практическую ценность. Следует также учитывать, что гуморальный иммунный ответ на антигены СГА развивается на 10-14 день от начала заболевания и его наличие и интенсивность может зависеть от некоторых факторов. Например, отдельные штаммы стрептококка группы А не продуцируют некоторые экстрацеллюлярные продукты, и, следовательно, инфицирование организма данными штаммами не приведет к образованию соответствующих антител. Кроме того, по некоторым данным, синтез экстрацеллюлярных продуктов блокируется антибиотиками. В силу этой причины у части больных с активной клиникой стрептококковой инфекции на фоне антибиотикотерапии не определяется повышения уровня антител к экстрацеллюлярным антигенам. Из молекулярно-биологических методов, используемых в составе комплексной диагностики СГА-инфекции, наиболее распространен метод полимеразной цепной реакции. Тест-системы, основанные на методе ПЦР, предназначены для качественного и количественного определения ДНК S. pyogenes путем амплификации специфического фрагмента ДНК данного микроорганизма. В настоящее время в России доступен широкий спектр сертифицированных ПЦР-тест-систем как отечественного, так и импортного производства. Материалом для проведения ПЦР служат пробы ДНК, выделенные из слюны, мазков из ротоглотки, смывов из бронхов, мокроты, плевральной жидкости, крови, биоптатов, синовиальной жидкости, раневого отделяемого, спинномозговой жидкости (ликвора), мочи. [4.]

Стрептококковые инфекции продолжают оставаться в числе наиболее острых проблем здравоохранения во всех странах мира. Бактерии рода Streptococcus классифицируют по антигенным свойствам (на основании имеющихся полисахаридов), выделяя серогруппы, изучают биохимические и гемолитические свойства. Наиболее патогенным для человека является Streptococcus pyogenes группы А, вызывающий у человека гнойно-воспалительные и инфекционно-аллергические заболевания. Диагностика стрептококковых инфекций включает использование бактериоскопического метода, определение стрептококковых антигенов в патологическом материале с помощью ИФА или латекс-агглютинации, бактериологического метода идентификации возбудителей инфекции и серологического метода по определению антител к стрептококкам группы А. В последнее время широко распространен метод ПЦР, позволяющий установить диагноз заболевания в 3 раза чаще по сравнению с классическими бактериологическими методами исследований. Эти данные свидетельствуют о необходимости совершенствования микробиологической диагностики стрептококковых инфекций. Стрептококки колонизируют кожные покровы, слизистые оболочки, носоглотку, желудочно-кишечный тракт и влагалище. Для возбудителей инфекции характерна множественность механизмов и факторов передачи, но наиболее характерен воздушно-капельный механизм передачи. У школьников в холодный сезон года носительство стрептококков в носоглотке достигает 25%.

В большинстве случаев возникновение стрептококковых инфекций связано с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Причинами роста заболеваемости гнойно-воспалительными стрептококковыми инфекциями являются селекция и формирование госпитальных штаммов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью, что требует совершенствования систем надзора и контроля за ИСМП.

Описан общепринятый способ получения чистой культуры стрептококков , который имеет следующие недостатки: изолированные колонии можно получить только на 3-й день микробиологического исследования, в процессе культивирования бактерий не удаляется посторонняя сопутствующая микрофлора слизистых оболочек зева и миндалин, на 2-й день пересева материала на кровяной мясопептонный агар (МПА) не всегда удается определить микробы, подозрительные на стрептококк, и поэтому приходится делать пересев на кровяной МПА бактерий, не относящихся к стрептококкам, что требует большего расхода питательных сред для выделения изолированной колонии стрептококков. Известно также, что гемолитические свойства стрептококков не являются диагностическим тестом для выявления патогенных стрептококков. Патогенные стрептококки под влиянием антибиотиков и факторов внешней среды могут утратить гемолитическую активность, что существенно затрудняет выделение стрептококков из исследуемого материала. [

Согласно Приказу Минздрава СССР от 22.04.1985 г. №535 «Об унификации микробиологических методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» изолированные колонии стрептококков получают по результатам посева исследуемого материала со слизистых оболочек носоглотки методом штриха с использованием тампона на чашки Петри с 5% кровяным МПА. Через 20 часов роста в условиях термостата при 37°С проводят учет выросших бактерий. Затем бактериологической петлей из разных точек питательной среды с ростом бактерий берут материал из колоний и делают пересев бактерий на сектора чашек Петри с 5% кровяным МПА методом штриха, а затем через 20 часов определяют наличие колоний стрептококка по культуральным свойствам. Основные недостатки предложенного способа: большой расход питательных сред, малая вероятность выделения стрептококков, что не позволяет установить роль стрептококков в возникновении внутрибольничной инфекции.

А.С. Лабинская [3] предложила способ получения изолированных колоний стрептококков по результатам выделения возбудителя со слизистых оболочек носоглотки при посеве на чашки Петри с 3% кровяным МПА с последующим изучением культуральных свойств и морфологических признаков стрептококков. Исследуемый материал вносили на чашки Петри с 3% кровяным МПА методом отпечатков, а затем шпателем распределяли микробные клетки по всей поверхности питательной среды. Через 18-20 часов роста в условиях термостата при температуре 37°С учитывали рост колоний. Идентифицировали штаммы стрептококков серологической группы А, образующие колонии трех видов: мукоидные, шероховатые и гладкие. Предложенный способ не обеспечивает 100% выделение стрептококков из исследуемого материала, так как методом отпечатков тампоном удается произвести посев лишь небольшого количества бактерий, находящихся на поверхности слизистых оболочек носоглотки; не удаляется выделенная со слизистых оболочках носоглотки сопутствующая микрофлора, обладающая антагонистическими свойствами, а также удается идентифицировать только штаммы стрептококков серологической группы А, а патогенные для человека штаммы стрептококков серогруппы С и G не определяются. Использование предложенных питательных сред и культивирование в аэробных условиях не позволяет выделять стрептококки с анаэробным типом дыхания.

**Материал и методы исследования**

В период с 1997 по 2011 г. обследовано 5300 больных. В содержимом из зева выделена сопутствующая микрофлора стрептококковой инфекции. Для определения чувствительности выделенной сопутствующей микрофлоры к антибиотикам использовали диско-диффузионный метод. В опытах использовано 16-20 часовых культур бактерий. Концентрацию бактерий доводили по стандарту мутности до 0,5 ед. по McFarland на физиологическом растворе хлорида натрия (рН 7,2-7,4). Приготовленную взвесь вносили на чашки Петри с 5% кровяным МПА в количестве 0,2 мл и равномерно распределяли на поверхности питательной среды. Через 15 минут на поверхность питательной среды наносили диски с антибиотиками. Посевы инкубировали при 37°С в течение 24 часов с последующим определением задержки роста бактерий вокруг дисков с антибиотиками. Использовали следующие диски с антибиотиками: стрептомицин, эритромицин, гентамицин, амикацин, линкомицин, бензилпенициллин, олеандомицин, цефаклор, цефуроксим, цефатоксим, цефалексин.

Для выделения стрептококков, обладающих анаэробными свойствами, проводили посев исследуемого материала на печеночный бульон Китта-Тароцци. Через 18‒20 часов роста бактерий при 37°С проводили пересев взвеси бактерий со среды Китта-Тароцци на 5% кровяной МПА. На поверхность кровяного МПА вносили 0,1 мл взвеси бактерий и шпателем равномерно распределяли их по поверхности плотной питательной среды. На поверхность посевов помещали диски с гентамицином в количестве 8-9 штук на чашку Петри и распределяли их на равном расстоянии друг от друга. Через 18-20 часов роста бактерий при температуре 37°С вокруг дисков с гентамицином отмечался рост изолированных колоний стрептококков, обладающих анаэробными свойствами.

Итак, сложность лабораторной диагностики и эпидемиологические предпосылки циркуляции стрептококков в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) дают основания для совершенствования методов лабораторной диагностики стрептококковых инфекций. [6.]

За время прохождения преддипломной практики были проведены исследования на выявления стрептококковой инфекции (кол)

Группы

Статистика по распространению

ПРИЛОЖЕНИЕ А.

Таблица 1. Классификация Лансфилд\*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Группа по Лэнсфилду** | **Виды** | **Гемолиз** | **Связанные заболевания** | **Лечение** |
| A | *Streptococcus pyogenes*Streptococcus pyogene | Бета | Фарингит, тонзиллит, инфекции ран и кожи, септицемия, скарлатина, пневмония, ревматическая лихорадка, гломерулонефрит, эндокардит (редко) | ПенициллинЭритромицин, клиндамицин (повышение резистентности в США) |
| Некротирующий фасциит | Незамедлительный хирургический контрольБета-лактамы (обычно широкий спектр, если этиология не выявлена; если выявлены бета-гемолитические стрептококки группы А, можно назначить пенициллин или цефазолин) плюс клиндамицин |
| В | *S. agalactiae* | Бета | Сепсис, послеродовой или неонатальный сепсис, менингит, инфекции кожи, эндокардит, септический артрит, инфекции мочевых путей | Пенициллин или ампициллин, цефалоспорины, ванкомицин |
| C и Г | *S. equi*, *S. canis* | Бета | Фарингит, пневмония, целлюлит, пиодермия, рожистое воспаление, импетиго, инфекции раны, послеродовой сепсис, неонатальный сепсис, эндокардит, септический артрит | Пенициллин, ванкомицин, цефалоспорины, макролиды (разной восприимчивости) |
| D | Энтерококковый: *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*Неэнтерококковый: *S. gallolyticus* (ранее *S. bovis*), *S. equinus* | Альфа или гамма | Эндокардит, инфекция мочевых путей, интраабдоминальная инфекция, флегмона, раневая инфекция, а также сопутствующая бактериемия | Пенициллин, ампициллин, ванкомицин (плюс аминогликозид при тяжёлой инфекции)Ванкомицин-резистентные энтерококки: стрептограмины (хинупристин/дальфопристин), оксазолидононы (линезолид), липопептиды |
| *S. gallolyticus* (ранее *S. bovis* биотип I) | Кишечные аденомы или карциномы, эндокардиты |
| Viridans† | *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. mitis* (ранее *S. mitior*), *S. anginosus* (ранее *S milleri*), *S. constellatus*, *S. intermedius* | Альфа или гамма | Эндокардит, бактериемия, менингит, локализованная инфекция, абсцессы (особенно *S. anginosus*) | Пенициллин, ампициллин, ванкомицин (плюс аминогликозид при тяжёлой инфекции), другие антибиотики, основываясь на in vitro чувствительности |
| *S. suis* | Менингит, иногда синдром токсического шока |
| *S. iniae* | Целлюлит, инвазивные инфекции, обусловленные рыбой | Пенициллин |
| \* В эту таблицу включены только наиболее клинически значимые из 20 групп по Лэнсфилду. |
| †Не соответствует определенным серогруппам Лэнсфилда. |
| GABHS = бета-гемолитические стрептококки группы А. |