Реферат на тему:

**«Микробиологическая диагностика и прогноз брюшного тифа»**

Микробиологическая диагностика

Микробиологическая диагностика брюшного тифа основывается на выделении возбудителя из организма и обнаружении специфических антител. Для выделения возбудителя в начальном периоде болезни исследуются кровь и в некоторых случаях дуоденальное содержимое, костный мозг, содержимое розеол и др. материалы; в поздние сроки, кроме того,— испражнения, моча, спинномозговая жидкость, гной. В случае смерти исследуется секционный материал. Посев мокроты, пота, гноя, спинномозговой, плевральной и др. жидкостей применяется для выяснения природы осложнений.

Посев крови. Результаты исследования крови зависят от периода и тяжести болезни, количества взятой крови, качества питательной среды. Наиболее часто (до 100%) гемокультура брюшного тифа выделяется на 1-й неделе болезни, на 2—3-й неделе процент положительных находок снижается. Для повышения эффективности исследования некоторые авторы рекомендуют за 15 мин. до взятия крона «водить подкожно 1 *мл* адреналина в разведении 1:1000, под влиянием его, по мнению ряда авторов, возбудитель, находящийся в селезенке, поступает в кровь. Кровь для посева в течение первой недели болезни с соблюдением стерильности берется из локтевой вены в количестве не менее 10 мл. В более поздние сроки и во время рецидивов целесообразен посев крови в количестве 15—20 мл. У детей кровь в небольшом количестве берут из пятки, пальца, мочки уха. Кровь засевается в жидкую питательную среду в соотношении не менее чем 1: 10.

Из жидких питательных сред применяются: Рамотортл среда по 100, 150, 200 мл во флаконе: 10% желчный бульон по 100, 150, 200 мл во флаконе; бычья желчь по 5—10 мл в пробирке; мясопептонный бульон с 1% глюкозы во флаконах по 100, 150, 200 мл; стерильная дистиллированная или водопроводная вода в тех же объемах. Питательным субстратом в последнем случае служат продукты распада форменных элементов крови. Наилучшие результаты получаются при использовании первых двух сред. При невозможности посеять кровь у постели больного для предупреждения свертывания 10 млкрови выливают в пробирку с 2 л.« 5% стерильного раствора лимоннокислого натрия. В лаборатории нитратная кровь засевается в одну из вышеуказанных сред. Для уменьшения бактерицидных свойств крови при невозможности провести посев на месте некоторые авторы рекомендуют производить посев кровяного сгустка. Кровь из шприца выливается в стерильную пробирку. Образовавшийся сгусток после удаления стерильной пипеткой сыворотки размельчают стерильной стеклянной палочкой и засевают на одну из перечисленных сред. Посев крови помещается в термостат при 37° на 18—24 часа. В положительных случаях через этот срок (иногда позже) на средах с желчью отмечается помутнение среды или небольшой придонный осадок; среда Рапопорта при росте брюшнотифозных палочек мутнеет и краснеет (образование кислоты вследствие разложения глюкозы или маннита). Из флакона производят высев на чашку с твердой дифференциальной средой с лактозой (Эндо, Левина и др.). Высев на среду Плоскирева (бактоагар Ж) проводить не рекомендуется, поскольку из-за резкой смены условий питания брюшнотифозная палочка не растет или растет очень плохо. Одновременно готовят и изучают мазки, окрашенные по Граму, подвижность в висячей или раздавленной капле. В случаях роста чистой культуры производят посев на косой агар и среды Гисса. Все посевы ставят в термостат при 1°37° до следующего дня. При обнаружении чистой культуры подвижных, грамотрицательных палочек, покраснения среды Рапопорта без газообразования дается предварительное положительное заключение о выделении возбудителя брюшного тифа.

На второй день исследования изучают колонии на дифференциальной среде и прозрачные, бесцветные или цвета среды колонии пересевают на «короткий пестрый ряд» (жидкие или полужидкие среды с лактозой, глюкозой и косой агар) или на Ресселя средудля дальнейшего изучения. Использование полужидких сред Гисса позволяет определить подвижность микробов (на лактозе), не прибегая к высеву на среду Пешкова. Полученную на косом агаре чистую культуру исследуют в окрашенных по Граму мазках и определяют подвижность микроба. По обнаружении грамотрицательных, подвижных палочек производят посев: на «длинный пестрый ряд» (среды Гисса с лактозой, глюкозой, маннитом, мальтозой, сахарозой); на косой агар, на мясопептонный бульон с вложенными под пробку полосками фильтровальной бумаги, смоченными насыщенным раствором уксусно-кислого свинца (для определения сероводорода) и 12% раствором щавелевой кислоты (для определения индола). Одновременно на предметном стекле ставят ориентировочную реакцию агглютинации и при положительном результате для определения титра развернутую агглютинацию с соответствующими специфическими сыворотками.

Если после первого высева на дифференциальной среде рост отсутствует, то последующие высевы производят ежедневно в течение 7 суток. При отсутствии роста на 8 сутки дается отрицательный ответ. При слабо выраженной бактериемии рост возбудителя в ряде случаев обнаруживается на 2— 3 неделе выдерживания посевов в термостате. В сомнительных случаях поэтому рекомендуется делать высевы до 24-го дня с момента взятия материала, независимо от получения отрицательного результата на 8-е сутки исследования.

На третий день исследования регистрируется результат посева на «короткий пестрый ряд» или среду Ресселя, изучается морфология и чистота выделенных культур путем приготовления мазков и окраски их по Граму, определяется подвижность. Отобранные культуры пересевают на «длинный пестрый ряд», ставят ориентировочную, затем развернутую реакцию агглютинации. Регистрируют результаты посева культуры с косого агара на «длинном пестром ряду», учитывают титр реакции агглютинации и на основании совокупности полученных данных делают окончательное заключение. В случае инагглютинабильности выделенного штамма ставят реакцию агглютинации на стекле с Усывороткой, поскольку культуры, выделенные из организма больного, могут быть в у-форме*.* При отсутствии агглютинабпльностп с 1-сывороткой проводят 3—4 ежедневных пассажа на желчном 10% бульоне. При невозможности произвести реакцию агглютинации с У-сывороткой реакция агглютинации ставится с гретой (прогревание при 60° в течение 30 мин.) или кипяченой (кипятится при 100° 5 мин.) взвесью изучаемого штамма.

При наличии нечетких результатов относительно биохимической активности или агглютинабильности выделенной культуры окончательный ответ не выдается, а на четвертые сутки продолжают изучение чистых культур, полученных из колоний с дифференциальной среды.

Выделенная культура может быть типирована специфическими У1-фагами. При этом она должна быть в у-форме (содержать У1-антиген). Чистая у-форма агглютинируется У-сывороткой и не агглютинируется О-сывороткой; у\у-форма агглютинируется той и другой сывороткой; \»-форма агглютинируется только О-сывороткой. Культура, находящаяся в у\у-форме, для освобождения от \у-форм рассевается на чашку Петри, и затем отбираются колонии, не агглютинирующиеся О-сывороткой. От теформ можно также освободиться с помощью О-сыворотки или сыворотки Гертнеа. В центрифужную пробирку наливают млбульона и в нем разводят О-сыворотку 1: 20—1: 50. В разведенную сыворотку вносят петлю суточной агаровой культуры. Пробирки помещают в термостат на 10 мин. и затем центрифугируют при 3—5 тысячах оборотов в течение 10 мин. Пробирки снова помещают в термостат на 30 минут и центрифугируют 10 минут. Верхний слой жидкости рассевают на чашки с агаром.

После 18—20-часовой инкубации при 37° выделяют колонии под контролем О-сывороток.

Типированию подвергается 3—4-часовая бульонная культура. Она наносится на чашку с 1,1% прозрачным агаром платиновой петлей или пастеровской пипеткой в виде секторов по числу имеющихся типов фага. После этого чашка подсушивается в термостате в течение 30 мин. На высохшие капли микробной взвеси наносятся платиновой петлей одинаковые объемы типовых фагов в критическом тест-разведении (указывается на этикетке ампулы). Чашки помещают в термостат и на следующий день оценивается результат. Некоторые типы культур могут давать групповую реакцию с другими типами фагов. Около 15% культур из числа содержащих У1-антиген не типируются.

Для сокращения сроков исследования Московский институт вакцин и сывороток им. Мечникова и некоторые другие институты используют строго специфические и монорецепторные сыворотки. Посев и исследование на 2-е сутки при этом проводится, как описано выше. На 3-й день изучаются мазки, окрашенные по Грану, и в зависимости от биохимической активности на лактозе и глюкозе ставится реакция агглютинации на стекле с О- и потом Н-сыворотками. Н-сыворотка выбирается в зависимости от групповой принадлежности штамма (А, В, С, Б). По совокупности данных на 3-й день дается окончательный ответ. При наличии нечетных результатов культуры исследуются, как указано выше.

Для посева крови по методу Блинкина в плоских флаконах емкостью в 200 мл на одной стенке скашивается агар с 1% глюкозы и индикатором Андреде, на второй — с 1% лактозы с этим же индикатором. РЬ среды при заготовке устанавливается=7,6. Во флаконы вносят 50 мл 50% желчного бульона или 50% желчную воду и в эту среду засевают не менее 10 мл крови. Посев помещают в термостат при 37° на 12 часов. Потом, наклоняя флакон в одну, а затем в другую сторону, смачивают поверхности агара с глюкозой и лактозой. Результат посева рассматривается через сутки. При отсутствии роста смачивание агаровых пластинок повторяют, и посев повторно рассматривается через 12 часов.

Для суждения о степени бактериемии кровь в количестве от 0,5 до 2 мл смешивают с 8 мл растопленного и охлажденного до 45° питательного агара, и смесь выливают в стерильную чашку Петри. Через 24—48 часов подсчитывают выросшие колонии. С этой же целью определяется индекс бактериемии по методу Рапопорта. Кровь засевают в 20 пробирок с жидкой средой (бульон с глюкозой и кислым фуксином) в количествах от 0,1 до 2 мл. В зависимости от тяжести и времени, прошедшего от момента заболевания, рост может наблюдаться во всех пробирках (тяжелые случаи) или в части пробирок, засеянных большими объемами крови (случаи средней тяжести), или отсутствует (легкие случаи).

Посев испражнений производится с диагностической целью перед выпиской реконвалесцентов и при обследовании различных категорий населения на бациллоносительство.

Испражнения берут у больного чаще без предварительной подготовки, иногда после очистительной клизмы. Реконвалесцентам до обследования рекомендуется назначать желчегонные средства. С этой целью применяется настой бессмертника (столовая ложка сухого бессмертника на 200 *мл* кипяченой воды) по 2 столовых ложки 3 раза в день в течение 2 дней и другие средства. При обследовании на бациллоносительство для того, чтобы вызвать рефлекс желчного пузыря и повысить выделение микробов с желчью в кишечник, назначают 25—30 г сернокислой магнезии или сернокислого натрия. Испражнения собирают непосредственно в подкладное судно или горшок, промытые кипятком, или на помещенные в них бумажные тарелки или чистую бумагу. Деревянной лопаточкой 2—3 г испражнений переносят в стерильные баночки или стаканчики и направляют в лабораторию. Если посев может быть сделан не ранее, как через час от момента взятия испражнений, их помещают в одну из консервирующих жидкостей или толстым слоем засевают на плотную среду Шустовой. Для приготовления ее к 100 мл расплавленного и охлажденного до 50° агара добавляют 10 мл 50% водного раствора гипосульфита 2 ли раствора люголя (25 г йода. 20 йодистого калия на 100 мл дистиллированной воды), перемешивают, разжижают но чашкам Петри ж си—I и мим слоем в широкие пробирки. В консервирующей жидкости материал можно хранить не более 1—2 суток при t не выше 20°.

При отсылке взятых от больного материалов в лабораторию в сопроводительном бланке пли списке указывается: фамилия, имя, отчество обследуемого; возраст, место работы, предполагаемый диагноз, время взятия материала и способ консервации, пель исследования. Кал перед посевом эмульгируется стерильным физиологическим раствором и отстаивается 20—60 мин. (лучше на холоде). 1—2 капли эмульсии из верхнего слое чашку с одной из дифференциальных сред, тщательно растирают стеклянным шпателем и этим же шпателем производят посев на второй, иногда третьей чашках с другими дифференциальными средами. Лучшие результаты дает использование на первой чашке среды Плоскирева и на второй — среды Левина. Часть отстоявшейся эмульсии засевают на среду обогащения (Мюллера, Кауфмана) и спустя 24—48 часов выращивания в термостате высевают на перечисленные дифференциальные среды. Идентификация выделенной культуры проводится по методике, описанной выше.

Исследование дуоденального содержимого проводится с диагностической целью и при обследовании на бациллоносительство. По данным Московского института вакцин и сывороток им. Мечникова возбудитель из желчи высевается в IV, раза чаще, чем из кала и мочи. Для получения дуоденального содержимого зонд вводят в двенадцатиперстную кишку и собирают порцию желчи «А». Затем через зонд вливают 30—40 мл 33% стерильного подогретого до температуры тела раствора сернокислой магнезии, зажимают пальцами свисающий изо рта конец зонда и приподнимают его на 5— 7 мин. По истечении указанного срока кончик зонда протирают спиртом и в стерильную пробирку собирают желчь порции «В» и, если удается, порцию «С».Полученный материал засевают на 10% желчный бульон в соотношении 1: 10, помещают в термостат при 37° на 18—24 часа. После этого производят высев па чашки Петри с дифференциальной средой и изучают выросшие колонии. Наиболее часто возбудитель высевается из порции «В» и «С».

Посев содержимого розеол имеет важное значение в случаях атипичного клинического течения брюшного тифа, когда напряженность бактериемии невысокая, в поздние сроки от начала болезни, в период реконвалесценции, при невозможности провести венепункцию (обследование детей и др.). Для получения содержимого розеолы кожа над ней обрабатывается спиртом и скарифицируется. На место скарификации наносят 1—2 капли желчного или простого бульона. Затем они переносятся платиновой петлей во флакон с 50 млжелчного или простого бульона. Посев помещают в термостат при 37° на 18—24 часа. В дальнейшем поступают так же, как при исследовании крови на гемокультуру. Некоторые авторы для сокращения сроков бактериологической диагностики рекомендуют содержимое розеол засевать непосредственно на среду Плоскирева.

По данным С.И. Ратнера, средняя частота высева возбудителя из розеол на высоте бактериемии приближается к средней высеваемости возбудителя из крови и оказывается выше высеваемости при посеве кала, мочи, мокроты и других материалов. По мнению А.С. Блажняя, метод розеолокультуры уступает только методу гемокультуры.

Посев мочи производится с конца второй недели от начала болезни для подтверждения диагноза перед выпиской из стационара реконвалесцентов и при обследовании на бациллоносительство. После обмывания стерильным физиологическим раствором наружного отверстия мочеиспускательного канала в стерильную посуду собирают 20—30 мл мочи. У женщин мочу лучше собирать катетером. Реконвалесцентам предварительно назначают уксуснокислый калий (20,0:200,0) по столовой ложке четыре раза в день, в течение двух дней до забора мочи.

Для посева на дифференциальные среды используется осадок, полученный после центрифугирования. Надосадочная жидкость засевается на 10% желчный бульон. Посевы помещают в термостат до следующего дня. После этого производят высев на чашки с дифференциальной средой, и выделенную культуру изучают по описанной выше методике.

Посев костного мозга дает лучшие результаты по сравнению с параллельным исследованием других материалов. Частота положительных миелокультур, по данным ряда авторов, не зависит от периода и тяжести болезни. Особую ценность этот метод имеет при диагностике атипично протекающих случаев брюшного тифа. Стернальную пункцию лучше проводить иглою Раскипа, которая имеет муфту, что позволяет вводить ее на определенную глубину. Кожу на месте прокола протирают спиртом; затем производят анестезию кожи, подкожной клетчатки и надкостницы 1% раствором новокаина.

Иглу вводят в рукоятку грудины, немного отступя от средней линии, на глубину в 10 мм. После прокола передней стенки грудной кости на иглу надевают шприц и извлекают от 0,5 до 0,75 мл пунктата. Полученный пунктат засевают на питательные среды, применяющиеся для посева крови. Посев ставят в термостат и на следуюпщй день делают высев на дифференциальную среду. В последующем исследование ведется так же, как для получения гемокультуры брюшного тифа.

Исследование спинномозговой жидкости производится у больных с менингеальными симптомами. При бактериоскопии жидкости в положительных случаях обнаруживаются грамотрицательные палочки. Бактериологическое исследование проводится так же, как и исследование крови для получения гемокультуры брюного тифа.

Исследование гноя проводится при наличии осложнений (отиты, флегмоны, паротиты и др.). Гной изучается бактериоскопически и исследуется по схеме, применяемой при посеве кала.

Посев молока может производиться у больных женщин в периоде лактации. Сосок и окружающую кожу очищают 40% спиртом, и молоко собирают в стерильную посуду. 5 млмолока засевают на среду Рапопорта и в дальнейшем поступают, как при исследовании для получения гемокультуры.

Исследование секционного материала. Кровь, желчь, кусочки селезенки, костного мозга и др. сразу же после извлечения с соблюдением стерильности помещают в пробирки с желчью или желчным бульоном. Материал, подозрительный на загрязнение вторичной микрофлорой, растирают в стерильной ступке в бульоне или физиологическом растворе, и взвесь в количестве 1—2—3 капель переносят на чашки Петри с дифференциальными средами.

Посевы секционного материала выдерживают в термостате сутки и в дальнейшем исследование производят по схемам, описанным выше.

Серологические исследования относятся к числу вспомогательных методов диагностики. Из их числа наибольшее применение нашла реакция агглютинации Видаля. Реакция преципитации находится еще в стадии изучения. По мнению ряда исследователей, с помощью ее специфические антитела в сыворотке крови обнаруживаются в более ранние сроки по сравнению с реакцией Видаля. Реакция преципитации технически проста, и при наличии готового полного антигена постановка ее занимает немного времени.

Реакция связывания комплемента из-за сложности постановки не нашла применения в широкой практике. Реакция гемаг-глютинации и гемолиза, по мнению ряда авторов, имеет относительно большее значение по сравнению с реакцией Видаля.

Прогноз

В каждом отдельном случае клинически выраженного брюшного тифа прогноз нельзя считать вполне благоприятным, т. к. даже в случаях, кажущихся легкими, могут развиться опасные осложнения (прободение кишечника). Тем не менее, при тщательном уходе даже в очень тяжелых случаях можно рассчитывать на выздоровление. Степень тяжести измеряется тифозным состоянием; чем последнее резче выражено, тем состояние тяжелее. Чем более выражены расстройства со стороны нервной системы, тем тяжелее течение. Неблагоприятными признаками являются: сухой язык, покрытый фулигинозным налетом, резкий метеоризм, затянувшаяся температура монотермпческого характера (с ничтожными утренними ремиссиями), учащение пульса, резко выраженная лейкопения и всевозможные осложнения, из которых наиболее грозными являются коллапсы и прободной перитонит. Раннее поражение нервной системы является также неблагоприятным признаком. Первое место среди непосредственных причин смерти занимают прободной перитонит и кишечные кровотечения; эти осложнения в последнее время стали более редкими. Наступление инвалидности после брюшного тифа встречается редко и зависит от длительного психического расстройства, тяжелых тромбофлебитов, поражения сердечной мышцы. Временная нетрудоспособность после выписки из стационара обычно 3—6 недель.