Реферат

на тему:

**«Полиомиелит: вирусологическая диагностика и лечение»**

**Вирусологическая диагностика**

Методы вирусологической (в том числе и серологической) диагностики полиомиелита применяются в зависимости от задач, которые возникают в каждом отдельном случае. При наличии ясной клинической характеристики в типичных паралитических случаях болезни следует определить иммунологический тип и генетические признаки вирусного штамма, вызвавшего данное заболевание. Но, конечно, в этих случаях клиницист не очень заинтересован в вирусологическом подтверждении диагноза и обычно удовлетворяется результатами обследования на антитела в парных пробах крови. Следует указать на возможность ошибочного клинического диагноза полиомиелита даже в паралитических случаях, т. к. описаны сходные с полиомиелитом заболевания, вызванные вирусами из группы Коксаки и ЕСНО (М.П. Чумаков, М.К. Ворошилова и др., 1959). Поэтому необходимо вирусологическое подтверждение даже в ясных для клинициста случаях.

В непаралитических и абортивных случаях полиомиелита, когда клиническая и клинико-лабораторная диагностика недостаточно обоснована, выделение из патологических субстратов и определение типа вируса в сочетании с результатами серологического обследования может подтвердить или отвергнуть предполагаемый диагноз полиомиелита, что имеет практическое значение (например, для организации противоэпидемических мероприятий).

Многие агенты могут вызывать синдром асептического менингита, который нельзя без лабораторного исследования отличить от непаралитической формы полиомиелит. Серозный менингит, не отличимый от непаралитической формы полиомиелита, могут вызывать следующие вирусы: возбудители свинки (паротита), лпмфоцитарного хориоменингита, ряд вирусов из групп ЕСНО и Коксаки, герпес простой, герпес зостер, вирусные энцефалиты, кроме того, лептоспиры и др. Чаще всего приходится проводить одновременное обследование материала на присутствие вируса полиомиелита и других энтеровирусов (Коксаки, ЕСНО, РЭО-групп). И, наконец, вирусологические, серологические методы исследования приобретают особое значение для контроля качества профилактических прививок пероральной полиомиелитной живой вакциной, напр. для определения частоты хорошей прививаемости живой вакцины по результатам выделения вакцинных штаммов из кишечного содержимого или из глоточного отделяемого у привитых и контактирующих с ними лиц, а также по динамике нарастания уровней антител в крови у вакцинированных людей. Периодически могут потребоваться выборочные обследования здорового населения на распределение уровней антител к разным типам полиовирусов, а также на частоту спонтанного носительства штаммов вируса полиомиелита и других энтеровирусов.

Материал для обследования. Полиовирус можно выделить заражением обезьяны или восприимчивых тканевых культур, в отдельных случаях также хлопковых крыс и новорожденных белых мышей (для штаммов II и IV типов). Вирусы ЕСНО и нескольких типов Коксаки могут быть выделены заражением культур, а большинство вирусов Коксаки группы А только заражением новорожденных белых мышей. Фекалии больного или здорового человека в очаге инфекции представляют наиболее богатый и регулярный источник для изоляции полиовируса и других энтеровирусов. Полиовирус в фекалиях может обнаруживаться в течение 2—3 недель, иногда 12 недель и больше после начала болезни или скрытой инфекции; максимальное количество полиовируса в фекалиях — до 10 инфекционных доз в 1 г.Выделение энтеровирусов возможно также из сточных вод канализации, из мух и других объектов внешней среды, которые могут быть загрязнены фекалиями. Полиовирус можно выделить также из носоглоточных смывов и тампонов из зева вскоре после начала заболевания или при скрытой инфекции (примерно в течение первой недели).

Исследование крови на присутствие вируса полиомиелита (например, вакцинного штамма) чрезвычайно трудоемкое, сложное и возможно только при решении экспериментальных задач в особых условиях. Исследование спинномозговой жидкости при полиомиелите нецелесообразно.

В секционных случаях следует получить асептично пробы из спинного (шейного и поясничного отделов) и продолговатого мозга по 2 см3 (способ сохранения при 1° 4° в 50% растворе нейтрального глицерина или в замороженном состоянии без глицерина); кроме того, следует в этих случаях обследовать на вирус содержимое кишечника (5—15 г)пли отмытую ткань кишечной стенки на разных уровнях. Все пробы должны пересылаться в лаборатории и сохраняться на холоду (при 1° от -(-40 до +8°) или в замороженном виде (от —20° до -70°).

Подготовка обследуемых материалов для заражения культур или животных предусматривает обязательное удаление бактериальных контаминантов путем обработки проб антибиотиками (смесью пенициллина от 500 до 10 000 ЕД в 1 мл,стрептомицина — 500—2000 [в 1 мли, возможно, других антибиотиков). Раньше для этих целей применялась обработка проб эфиром, но она уступает антибиотикам по эффективности. До обследования экстракты фекалий с антибиотиками (20 или 10% взвеси) следует освободить от грубых частиц путем центрифугирования.

Методика исследования. При первичном выделении вирусов из группы Коксаки заражаются в мозг и подкожно новорожденные белые мыши в возрасте не старше 24 час. Молодые белые мыши и хлопковые крысы могут быть заражены материалом, содержащим полиовирус II типа, в головной мозг или в спинной мозг и в брюшную полость, или внутримышечно. Для перевивки вируса от заболевших к свежим животным используется взвесь спинного и головного мозга.

Обезьяны макаки (любой вид), мартышки и др. могут быть заражены материалом, содержащим вирус полиомиелита, разными путями: в головной или в спинной мозг (по 1,0 или 0,2 млсоответственно), через нос под легким наркозом (можно 3—5 дней подряд), в брюшную полость и внутримышечно. В пассажах на обезьянах используется ткань спинного и продолговатого мозга заболевших животных.

Наиболее употребительны в наст, время культуральные пробирочные методы вирусологической и серологической диагностики как самые дешевые и доступные для обследования большого числа проб. Благодаря целой серии исследований Эндерса, Солка, Янгнера, Мельника, Дульбекко и многих других в 1949—1955 гг. были разработаны эффективные методики выделения, размножения и идентификации энтеровирусов в культурах клеток.

Выделение и размножение вируса полиомиелита для лабораторных целей возможно в первичных культурах нормальных тканей от человека (хирургические отходы и эмбрионы) или разных видов обезьян. Для этого чаще всего использовались фибробласты кожно-мышечной ткани, клетки почек, семенника, амниона и др. Кроме того, могут с успехом использоваться вторичные культуры или лабораторные линии непрерывно растущих клеток ракового происхождения (часто применялись лабораторные линии клеток человеческого рака: Не1а, НЕР-2, КВ, НЬ8, Детройт-6 и др.), а также непрерывные линии клеток, происходящих от нормальных тканей (напр., клетки амниона человека и клетки СОЦ— из сердца обезьяны циномольгус). Кроме того, оказалось, что в ряде случаев непрерывные лабораторные линии клеток, происходящие от животных (кроликов, свиней), не восприимчивых к полиомиелиту, могут становиться полностью восприимчивыми к заражению полиовирусом в результате происходящей трансформации (возможно ма-лигнизации ткани) в процессе длительных пассажей непрерывно растущих клеток.

Культуры клеток в подходящей жидкой среде для размножения полиовируса могут изготовляться асептично разными методами (взвесь фрагментов ткани, однослойная клеточная мембрана на стекле; фиксирование фрагментов в куриной плазме; покрытие агаром клеточного слоя на стекле и т. п.) в герметически закрытых стерильных сосудах. Добавление небольшого количества антибиотиков (100—200 ЕД пенициллина, 50 цг стрептомицина на 1 млсреды) надежно предохраняет большинство асептично приготовленных культур клеток от случайного прорастания ми-кробами-контаминантами из воздуха.

О присутствии активного полиовируса в растущей культуре клеток можно судить по наступающей дегенерации клеток в результате цитопатогенного действия вируса. При этом необходимо сравнение с контрольными незараженными клетками и последующая проверка специфичности цитопатогенного эффекта в опыте нейтрализации типовой иммунной сывороткой.

Кроме того, цитопатогенное действие полиовируса во взвеси клеток можно зарегистрировать с помощью наблюдений за изменениями цвета фенолрот или другого индикатора рН среды, а именно клетки во взвеси, не содержащей полиовируса, постепенно в течение нескольких дней сдвигают рН среды в кислую сторону и цвет фенолрот меняется из красного в желтый; в то же время в пробирках с активным вирусом полиомиелита клетки быстро дегенерируют, метаболизм прекращается, кислотность среды не изменяется, и исходный красный цвет среды (с индикатором фенолрот около 0,004%) сохраняется до конца наблюдения. На этой основе разработана методика так наз. цветной пробы (или рН-тест) для выделения и титрования вируса полиомиелита, а также для определения титра антител в сыворотке. В цветной пробе могут ставиться и опыты нейтрализации с целью определения иммунологического типа обследуемого вируса.

Вирус полиомиелита можно обнаруживать и по образованию изолированных колоний, или бляшек, в культурах однослойных клеток, покрытых слоем питательного агара. Бляшкообразование в агаровых культурах растущих клеток с индикатором нейтральрот используется для точного определения титра полиовируса в материале или для дифференциации выделенных штаммов по чувствительности к снижению концентрации бикарбонатов и катионов.

Ход исследования материала в пробирочных культурах ткани на вирус полиомиелита включает следующие методики: предварительное выращивание в течение нескольких дней незараженных клеточных культур, внесение в хорошо развившиеся культуры исследуемого материала, предварительно обработанного антибиотиками и др., инкубирование зараженных культур при 1° 37° и наблюдение за состоянием клеток культуры примерно в течение 10 дней. Некоторые пробы фекалий токсичны для культур, что обычно выявляется через 24 часа, и в этих случаях следует перевить материал культуры на 5-й день. Специфическое действие вируса на клетки обычно выявляется на 3—5-й день, иногда на 6—8-й день после заражения; при отсутствии дегенерации в культурах первого заражения можно попытаться продолжить наблюдение за культурами после замены среды свежей питательной жидкостью. При обнаружении дегенерации клеток зараженных культур проводится перевивка жидкости из таких культур на свежие культуры и определение в серии культур титра выделенного цитопатогенного вируса, а затем опыт нейтрализации с включением специфических иммунных сывороток. Выделение и типирование вируса можно проводить одновременно, добавляя в питательную среду культур разные виды типоспецифических иммунных сывороток; при этом вирус будет подавляться в культурах с гомотиповои иммунной сывороткой и проявлять свое действие в культурах с гетеротиповыми иммунными сыворотками или без сыворотки.

Такая процедура все же часто не удается по ряду причин. В очень немногих случаях при лабораторном обследовании высоко инфекциозного материала от больного полиомиелитом можно получить ответ о типе возбудителя через 3—5 дней после начала анализа. В большинстве случаев процедуры выделения, титрования и типирования занимают от 10 до 40 дней; следовательно, действительно ранней, регулярно используемой вирусологической диагностики полиомиелита пока не существует.

Не могут ускорить этиологическую диагностику болезни и чисто серологические методы исследования, т. к. для установления диагноза требуется определить нарастание титров антител, при одновременном исследовании 2 или 3—4 проб сыворотки крови, взятых с интервалом в 7—14 дней или больше. Тем не менее обследование парных проб сывороток в реакции нейтрализации полиовируса в пробирочных культурах с учетом цитопатогенного эффекта или в цветной пробе (Солк и др., 1954) является важным звеном в методах лабораторной диагностики.

Для постановки раннего серологического диагноза явной или скрытой инфекции наиболее удобно исследование в реакции преципитации сывороток крови, взятой в первые 2—3 недели заболевания (М.С. Балаян, 1960). Серологическое подтверждение диагноза также возможно с помощью реакции связывания комплемента при использовании строго специфичных нативных антигенов [М.Я. Чумакова, 1958, 1959; Леннет, 1955].

Новую главу в учении о вариантах вируса полиомиелита представляют современные методы разграничения атенуированных (вакцинных) от полностью вирулентных для центральной нервной системы штаммов вируса полиомиелита с помощью так наз. маркеров. Атенуированные штаммы, селекционированные и очищенные с помощью метода изолированных колоний (бляшек) в клеточных культурах под слоем агара (по Дульбекко и Фогту), резко отличаются от диких штаммов отсутствием паралптогенной активности при внутримозговом заражении обезьян макак. Этот признак считается маркером невровирулентности. Кроме того, ате-нуированные штаммы, в отличие от диких штаммов полиовируса, очень плохо размножаются в культурах при t° 40° (разница в титрах вакцинного вируса при t° 36° и 40° может составлять от 10° до 10° инфекционных единиц, тогда как у дикого вируса эта разница обычно не превышает 102— 103 инфекционных единиц) — это так наз. маркер t° 40°. Атенуированные штаммы хуже, чем дикие штаммы, растут в культурах под слоем агара при низком содержании бикарбонатов (ниже 0,22%) и кислой реакции среды. Описаны и многие другие признаки, по которым можно отличать атенуированные штаммы от диких штаммов, в том числе по неодинаковому росту на перевиваемых линиях клеток от обезьяны, по титрам в опытах нейтрализации иммунными сыворотками, изготовленными для отдельных штаммов (вакцинных или диких); по разному отношению к некоторым дезинфицирующим агентам (хлору и др.). Все разнообразие маркирующих признаков полностью еще не изучено.

Лечение острого полиомиелита должно быть комплексным и проводиться с учетом стадии и формы болезни. При каждом подозрении на острый полиомиелит следует сразу установить строгий постельный режим. Доказано, что покой является главным методом профилактики параличей и что наилучший исход достигается у тех больных, которым он был обеспечен рано. Полный покой имеет важнейшее значение и в паралитической стадии. Больной должен лежать в удобном положении, его необходимо оберегать от всяких активных движений и утомительных исследований. В паралитической стадии правильное положение тела и парализованных конечностей приобретает особо большое значение. Ранний ортопедический режим предупреждает растяжение мышц, развитие деформаций и контрактур. Следует при этом избегать неизменного однообразного положения и менять его примерно каждые 2 часа.

В течение всего лихорадочного периода следует измерять температуру 3—4 раза в сутки, следить за пульсом, дыханием, кровяным давлением. Необходимо следить за функцией кишечника и мочевого пузыря, обеспечить уход за кожей и слизистыми оболочками. Питание должно быть высококачественным и вкусным. При выраженности болевого синдрома и повышенной раздражительности показано применение болеутоляющих и успокаивающих средств (бромиды, пирамидон, анальгин, аспирин и др.). Из физиотерапевтических процедур наилучший болеутоляющий эффект дают горячие укутывания. Из других тепловых процедур (соллюкс, парафин, озокерит и др.) лучший эффект дает озокерит*.*

Эффективность серотерапии сомнительна.

Введение гамма-глобулина даже в препаралитической стадии не оказывает заметного влияния на течение болезни.

Витаминотерапия. С первых дней болезни показано лечение витаминами. Аскорбиновую кислоту назначают в больших дозах (по 0,05—0,1 г на 1 кг веса больного в сутки, разделив на 4—5 приемов).

Лечение витамином В12 проводится в паралитической и восстановительной стадиях.

Медиаторы. В ранней восстановительной стадии на 3—4-й неделе болезни начинают лечение медиаторами и стимуляторами, которое с перерывами проводится очень длительно. Применяют прозерин, галантамин (нивалин), дибазол, секуринин и др. Курс лечения антихолинэстеразными препаратами 15—20 дней. Секуринин противопоказан при нарушениях дыхания, наклонности к повышению кровяного давления, при выраженных болях и наличии контрактур.

Аминокислоты. В восстановительной и резидуальной стадиях применяется елютаминовая кислота.

В комплексном лечении полиомиелита известное значение имеют физиотерапевт и ч е с к и е методы. Уже было указано на значение тепловых процедур для борьбы с болевым синдромом. После падения температуры, стабилизации параличей и улучшения общего состояния, что наступает обычно после 7—12 дней, назначают процедуры, которые рассчитаны на повышение обменных процессов, усиление иммунных защитных сил организма и понижение интоксикации (М.М. Аникин). Применяют водяные ванны (37—38°) и влажные укутывания. При нарушении дыхания при бульбарных формах эти процедуры противопоказаны. УВЧ назначают на область пораженных сегментов спинного мозга (10 сеансов с длительностью каждого 10—12 минут). На основании противовоспалительного и болеутоляющего влияния диатермии ее применяют при полиомиелите со строгим соблюдением общих правил. Курс лечения — 10—15 ежедневных сеансов.

Основное значение в лечении полиомиелита имеет правильно и длительно проводимая лечебная гимнастика. Применяются также активная электрическая гимнастика в виде ритмической фарадизации или ритмической гальванизации пораженных мышц и в последние годы электростимуляция мышц импульсным током. Лучший результат получается при сочетании методов электрической гимнастики с приемом медиаторных стимуляторов (М.М. Аникин).

В различные сроки восстановительной стадии, начиная с 4—6-го месяца от начала болезни, успешно применяется также лечение грязями. Имеются данные об успешности и более раннего (2—3 месяца) применения грязелечения. Грязевые аппликации накладываются на пораженный уровень позвоночника и парализованные конечности. В последнее время используются грязи низких температур (38—42°). Более низкие температуры грязи показаны в более раннем периоде болезни (Л.С. Петелин). Специализированные для лечения полиомиелита санатории имеются во многих республиках и областях Советского Союза, на ряде курортов (Евпатория, Одесса, Цхалтубо и др.). Лечение паралитического полиомиелита должно быть очень длительным, с учетом возможности улучшения функции даже в резидуальной стадии. Ортопедическая помощь важна с первых дней паралитической стадии, ее роль возрастает и методы меняются в восстановительной и резидуальной стадиях.