

КОКЛЮШ

(Франц. петушиный крик)

Коклюш - инфекционное заболевание, передающееся воздушно-капельным путем. До настоящего времени коклюш и его возбудитель остаются серьезной проблемой не только для России, но и для всего мира. По данным ВОЗ, в мире ежегодно заболевает коклюшем около 60 млн человек, умирает около 1 млн детей, преимущественно в возрасте до одного года.



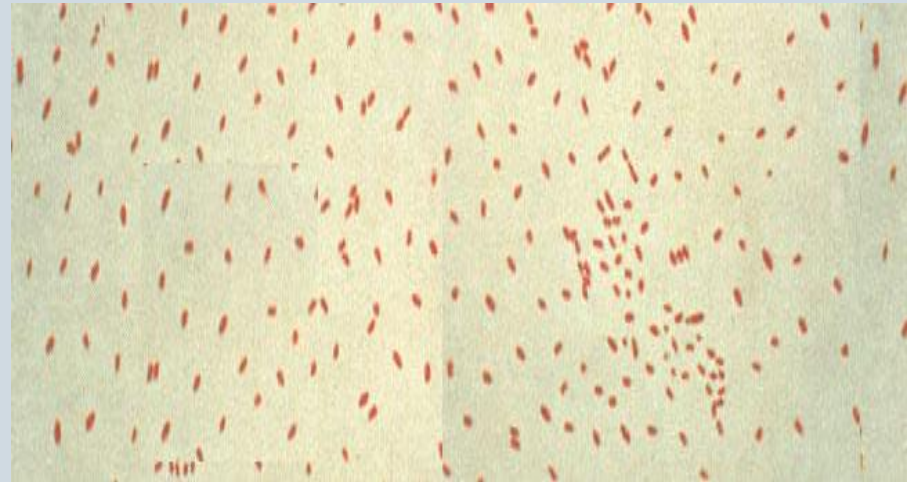
Внешний вид ребенка, больного **коклюшем**, во время спазматического приступа

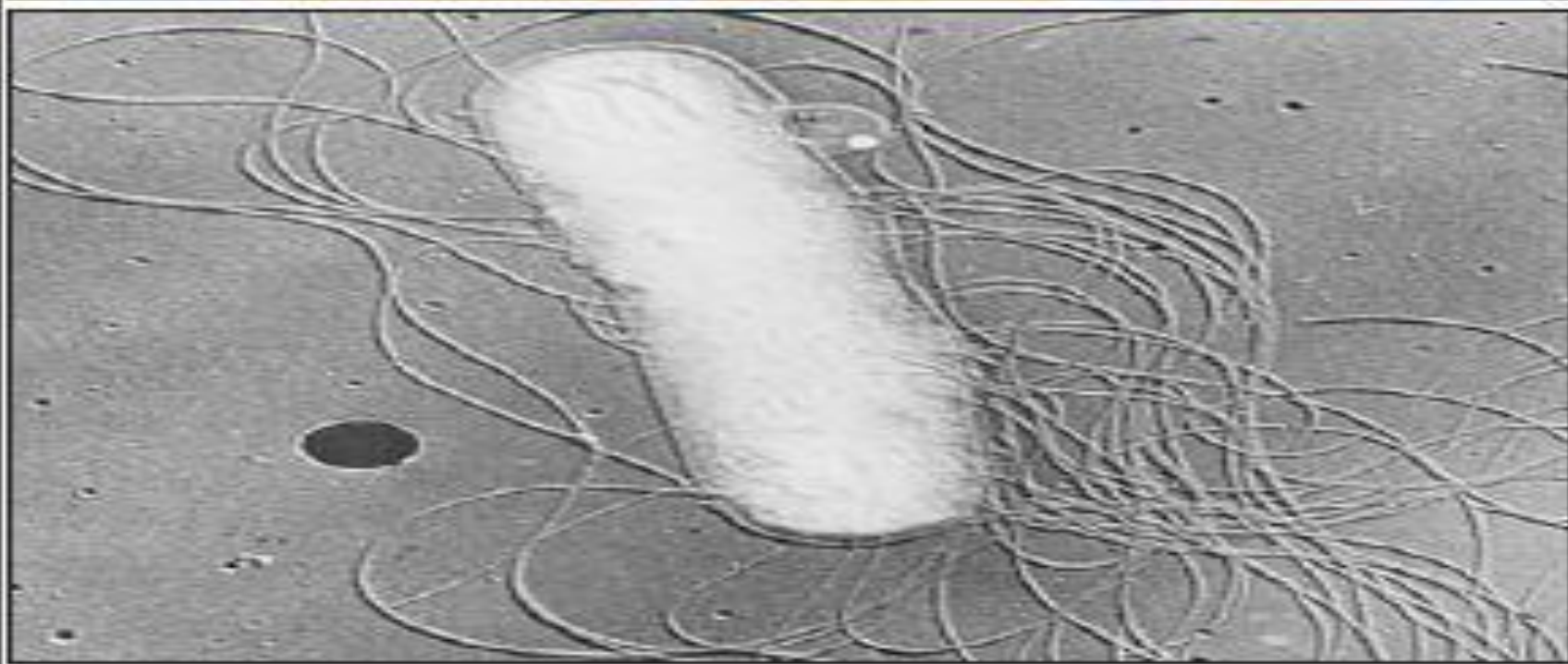
Род **BORDETELLA**

Вид **BORDETELLA PERTUSSIS**

Морфология

- *Мелкая, овоидная, грам- палочка с закругленными концами*
- *Неподвижны. Спор нет. Жгутиков нет. Образует капсулу, пили.*

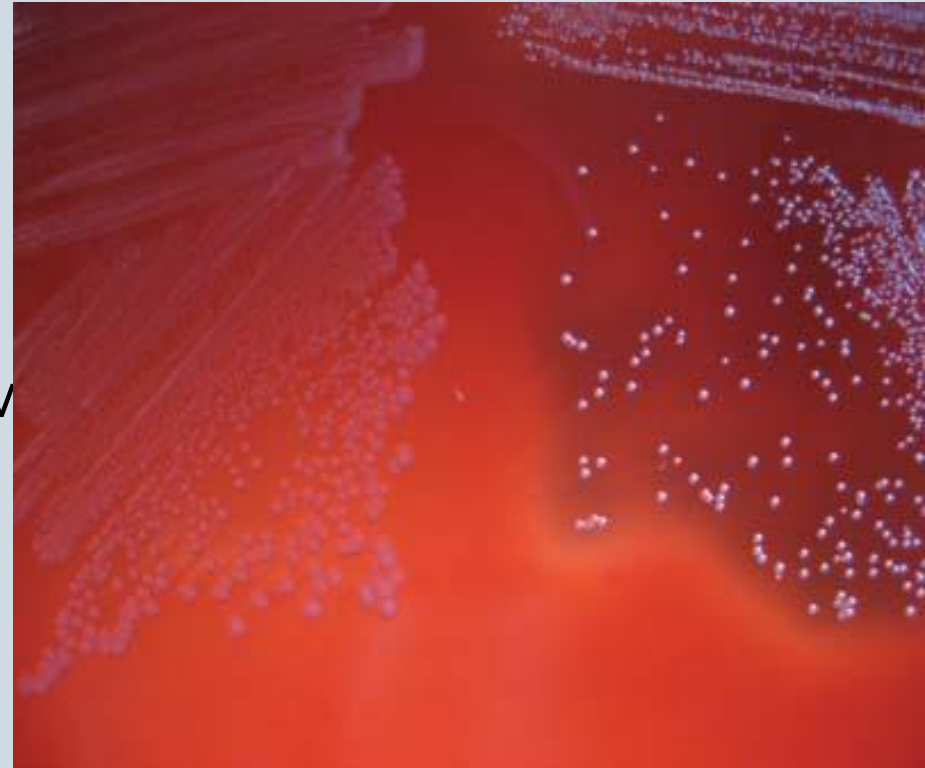




**Рис. 1. Бациллы *B. pertussis*
(электронная микроскопия)**

Культуральные свойства

- Оптимальная t культивирования 37°C при pH 7,2.
- Не растет на простых питательных средах, культивируется на картофельно-глицериновом агаре и на полусинтетическом казеиново-угольном агаре без добавления крови.



Рост **Bordetella pertussis** на агаре Борде-Жангу

■ На кровяных средах образует зону гемолиза. Колонии мелкие, круглые, с ровными краями, блестящие напоминающие капельки ртути или зерна жемчуга.

Тип дыхания

Строгие аэробы

Биохимические свойства:

- ❖ Хемоорганотрофы
- ❖ Метаболизм только окислительный
- ❖ Ферментативно малоактивны: не ферментируют углеводы, нет протеолитической активности, не восстанавливает нитраты

Резистентность.

Очень неустойчив во внешней среде.
Быстро разрушается под действием дезинфектантов, антисептиков, чувствительны к солнечному излучению. При 50-55°C погибают за 30 мин., при кипячении мгновенно.

Антигенные свойства.

→ О-Аг

→ К-Аг, состоящий из 14 компонентов (агглютиногены).

7 компонент - общий для всех бордетелл

Обязательными для *B. pertussis* являются 1 и 7 компоненты.

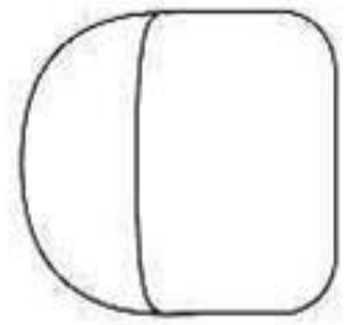
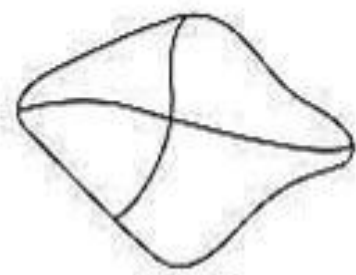
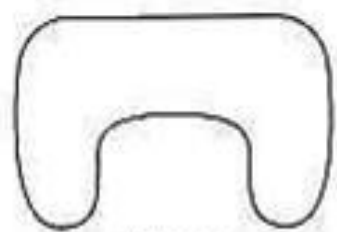
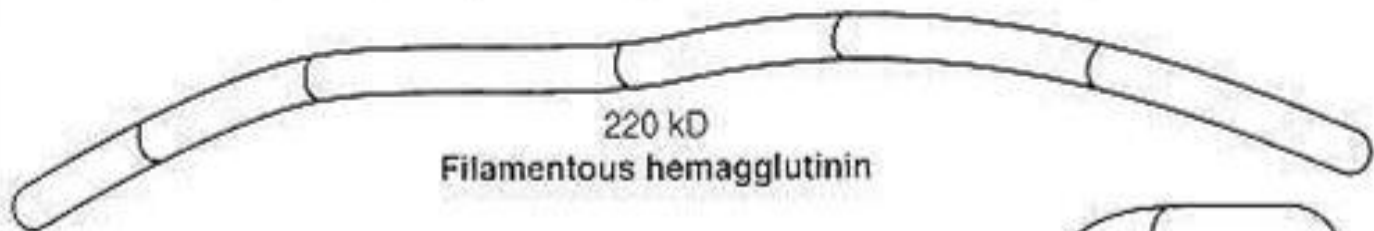
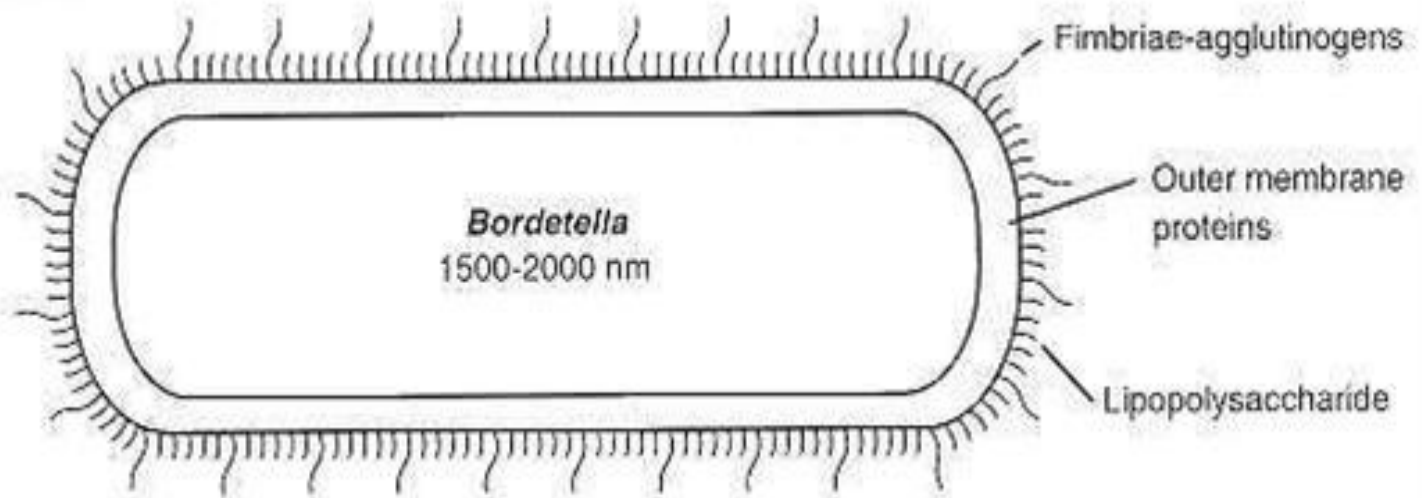
- Ведущими для *B. pertussis* являются 1, 2, 3.
- В зависимости от Ag сочетаний различают 6 сероваров возбудителя (1.2.0; 1.0.3; 1.2.3 , 1.0.0...).
- В последнее десятилетие преобладающими являются серовары **1.2.0** и **1.0.3**, выделяющиеся от привитых детей, имеющих легкие и атипичные формы заболевания. В то же время серовары **1.2.3** выделяются от непривитых детей прежде всего раннего возраста, у которых болезнь протекает чаще в тяжелой и реже — в среднетяжелой форме.

Факторы патогенности *B.pertussis*

| Бактериальные компоненты | функции | В составе ацеллюлярной вакцины |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|
| Филаментозный гемагглютинин | Адгезия, иммуносупрессивная активность | да |
| Пертактин | адгезия | да |
| Фимбрии | адгезия | да тип 2 и 3 |
| Коклюшный токсин | Катализирует АДФ-рибозилирование G -белка | да, анатоксин |

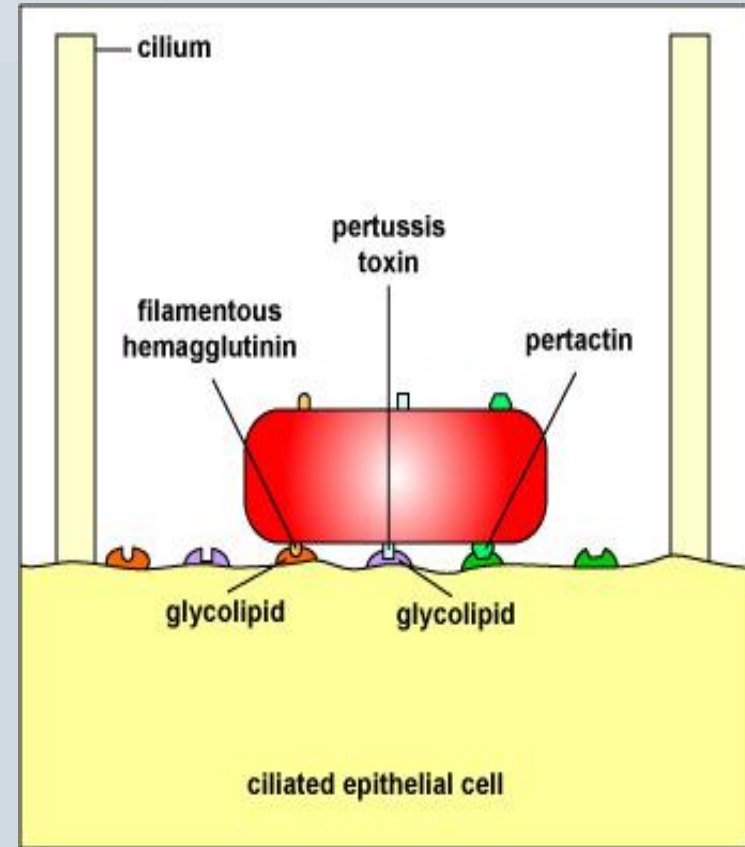
| | | |
|-----------------------------|---|-----|
| Аденилатциклаза | Цитотоксин (синтез цАМФ нарушает функционирование клетки. Противовоспалительный эффект за счет действия на клетки иммунной системы. | нет |
| Дерматонекротический токсин | Активирует ГТФ-связывающий белок Rho, что ведет к нарушению цитоскелета | Нет |

| | | |
|--------------------------------------|---|-----|
| Трахеальный фактор колонизации | Адгезия? | Нет |
| Трахеальный цитотоксин | Цитотоксин, участвует в повреждении респираторного эпителия | Нет |
| Липополисахарид (эндотоксин) | Провоспалительная активность, обеспечивает устойчивость к защитным механизмам | Нет |



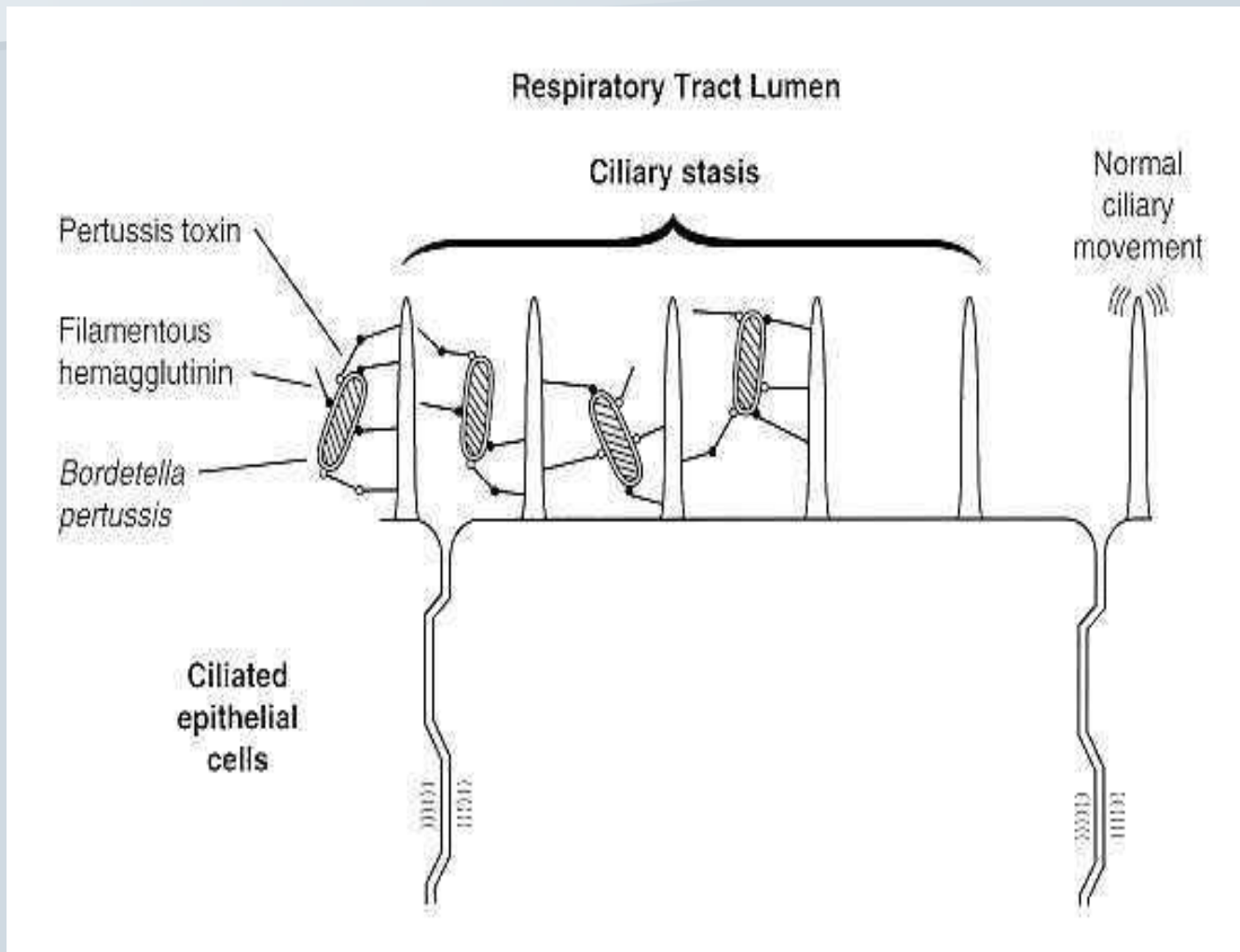
Адгезия

- ❖ **Филаментозный гемагглютинин** - крупный белок, образующий филаментозные структуры на поверхности бактериальной клетки
- ❖ Обеспечивает адгезию, связываясь с галактозными остатками сульфогликолипида на поверхности ресничного эпителия



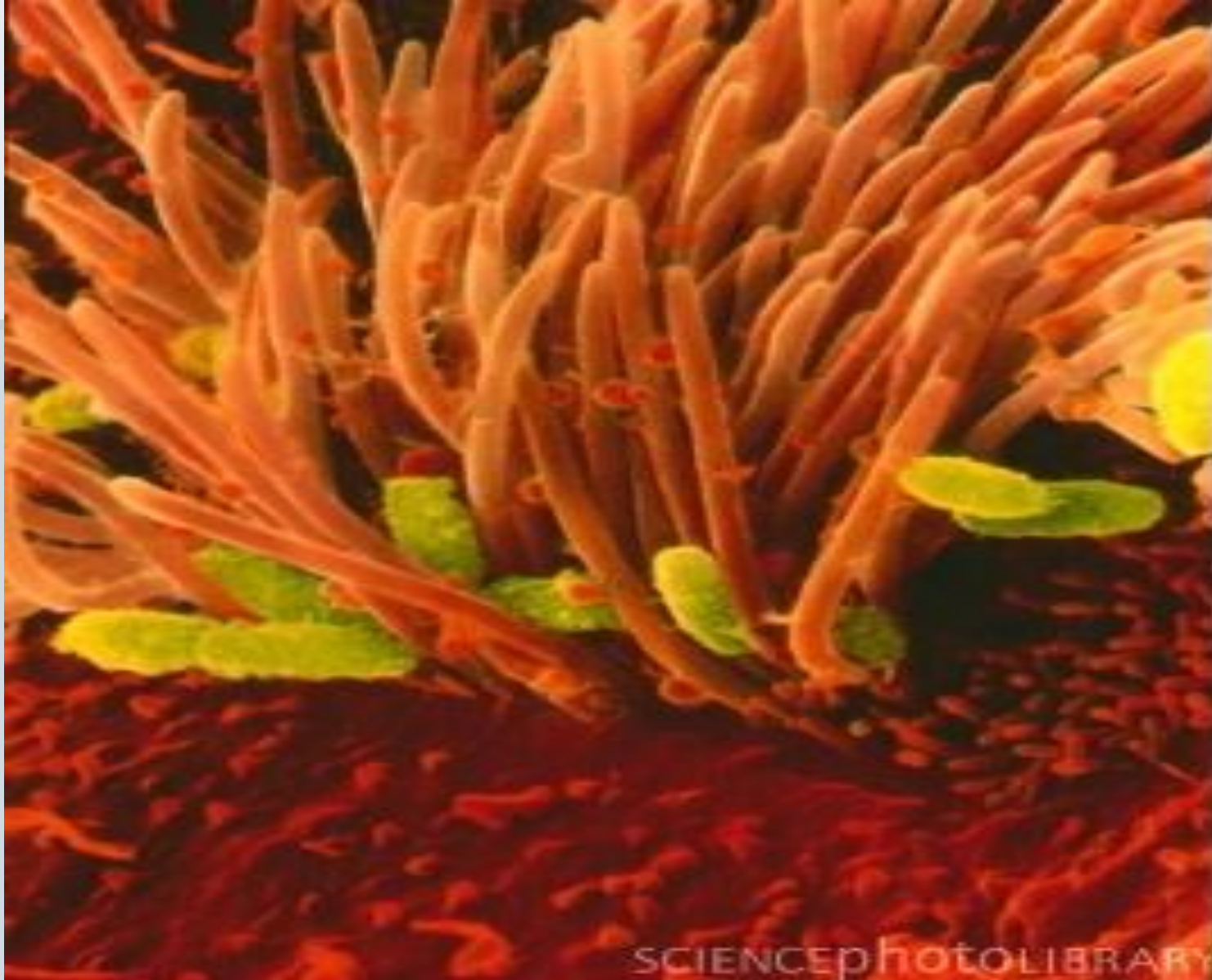
- ▶ Агглютиногены тесно связаны с *белками фимбрий*
- ▶ Иммунизация фимбриальными белками защищает от аэрозольного заражения
- ▶ Различия в структуре фимбриальных белков позволяют м/о избежать воздействия ат
- ▶ Пертактин и ряд других поверхностных белков участвуют в адгезии, взаимодействуя с белками-рецепторами из семейства интегринов на поверхности клеток человека
- ▶ Белок BrkA (*Bordetella resistance to killing*) участвует в адгезии, инвазии и обеспечивает устойчивость бактерии к классическому комплемент-зависимому пути элиминации антигенов

Синергизм филаментного гемагглютинина и коклюшного токсина в процессе адгезии на клетках реснитчатого эпителия (цилиарный стаз)



Колонизация

- Наиболее изучена роль гемагглютенина, показано, что мутации, меняющие его структуру, приводят к снижению способности бордетелл колонизировать эпителий дыхательного тракта
- Большая роль принадлежит коклюшному токсину, а против его компонентов также предотвращают колонизацию ресничного эпителия



- Колонизация эпителия трахеи *Bordetella pertussis* (клетки без ресничек свободны от бактерий)

Токсины Bordetella pertussis

- Аденилатциклаза – единый полипептид , который может быть связан с клеткой и выделяться в окружающую среду
- Состоит из двух субъединиц: отвечающей за ферментативную активность и за связывание с рецепторами клеток
- Впервые был обнаружен как гемолизин
- Активен только в клетках эукариот
- Накопление цАМФ нарушает структуру и физиологию клетки (аналогичен токсину B. anthracis)

- Приводит к накоплению нейтрофилов в жидкости и снижению количества альвеолярных макрофагов в результате их апоптоза
- Играет роль на начальном этапе развития инфекции
- Мутанты по аденилатциклазе могут колонизировать слизистую, но обладают сниженной вирулентностью

- **Дерматонекротический токсин**
- В пораженных клетках развивается ряд характерных явлений: складчатость мембраны, фокальная адгезия и напряженные актиновые волокна, а также ДНК-репликация без клеточного деления
- гомологичен цитотоксину *E.coli*
- Роль в патогенезе коклюша неясна

■ Трахеальный цитотоксин

■ - фрагмент пептидогликана клеточной стенки

■ Повреждает ресничный эпителий и вызывает цилиостаз – нарушается отток слизи и создаются условия для персистирования возбудителя

■ Стимулирует продукцию ИЛ-1, в ответ на который синтезируется оксид азота

■ Обладает таким свойством, как пирогенность

- **Липополисахарид**
- Отличается от ЛПС энтеробактерий
- липид определяет биологическую активность (пирогенность, токсичность, адъювантность, стимуляцию продукции ИЛ-1)
- В целом, ЛПС обладает иммуногенностью
- С ним связывают реактогенность цельноклеточной коклюшной вакцины
- вакцины

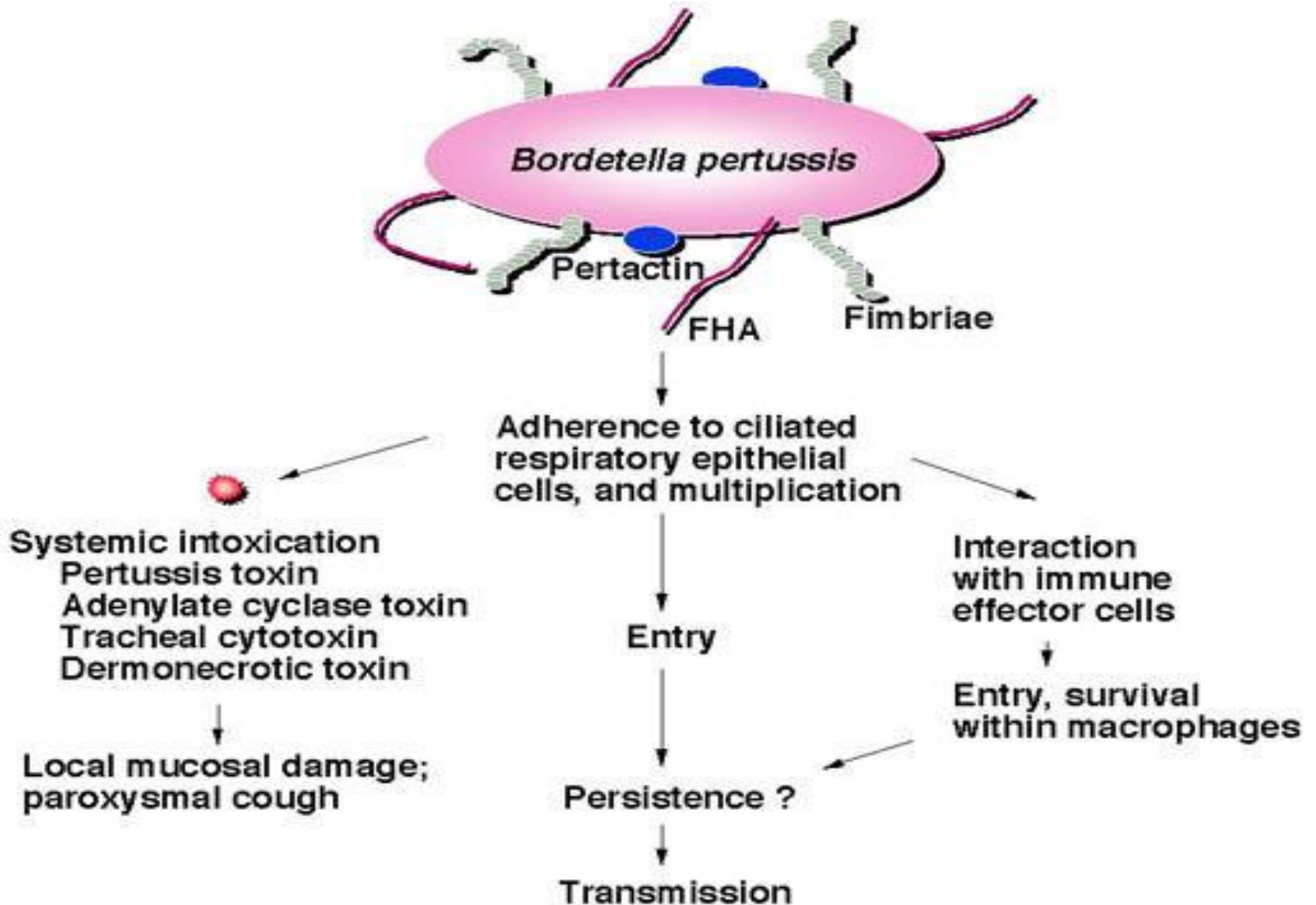
■ Коклюшный токсин

- Опосредует как стадию колонизации, так и токсемическую стадию
- - белок с АВ5 структурой:
 - Участок В – 5 субъединиц S2- S5, отвечает за связывание с рецепторами клеток-мишеней
 - участок А соответствует субъединице S1, обладает ферментативной активностью – осуществляет АДФ-рибозилирование G-белка, ингибирующего в норме аденилатциклазу

- Накопление цАМФ приводит к:
- ❖ Подавлению всех стадий фагоцитоза,
- ❖ Нарушению нормального расселения лимфоцитов («хоуминг-эффект»),
- ❖ Опустошению тимус-зависимых зон лимфоидной ткани,
- ❖ Действует на клетки поджелудочной железы, вызывая гиперпродукцию инсулина и как следствие-гипогликемию
- ❖ Усиливает чувствительность к гистамину (в результате увеличение проницаемости капилляров, гипотензия, шок

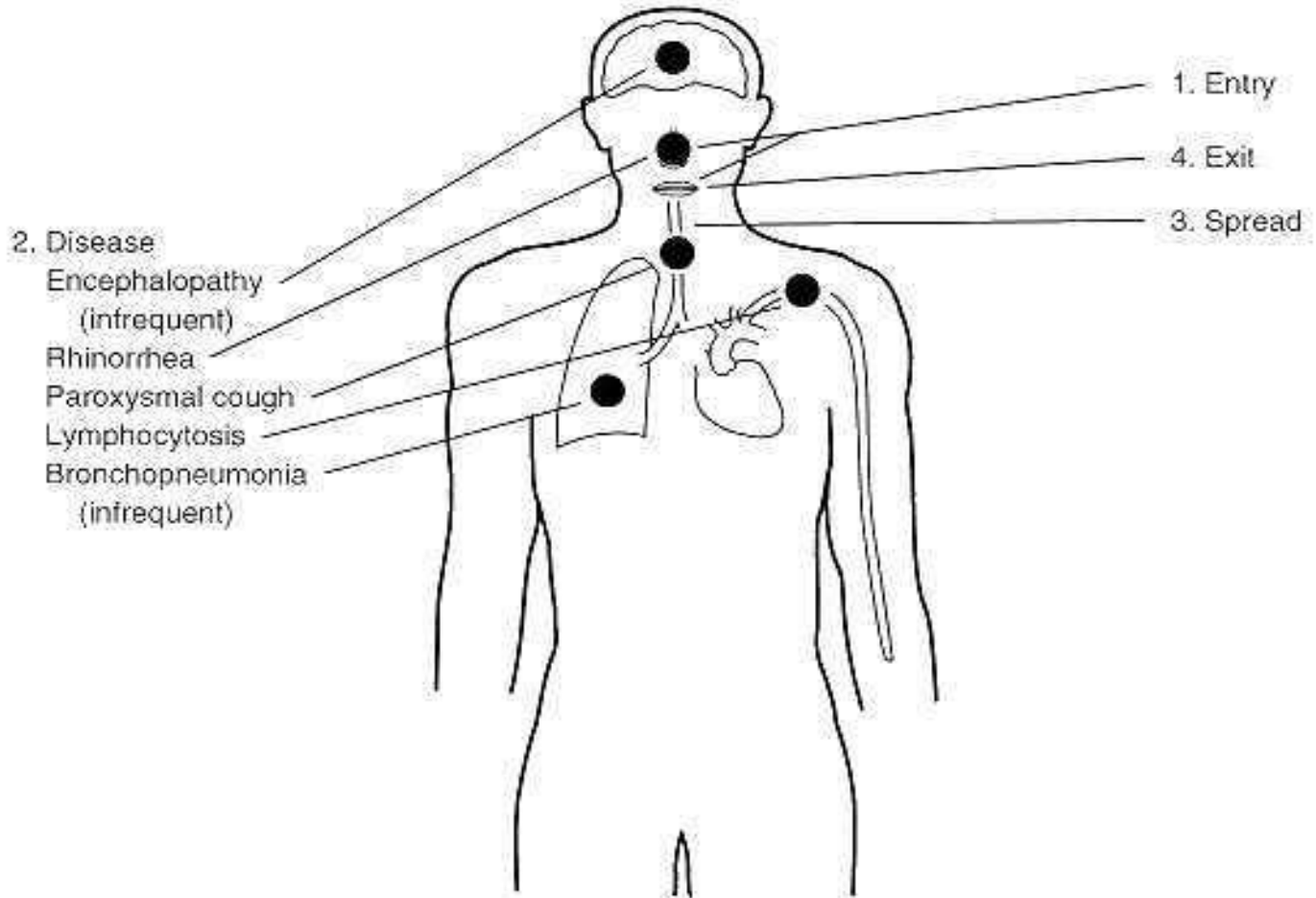
- У современных штаммов *B.pertussis* произошли существенные изменения в структуре *ptxA* гена, кодирующего S1 субъединицу коклюшного токсина, *prn* гена, кодирующего пертактин, и в фимбриальном *fim3* гене, кодирующем Fim3 белок.
- Штаммы *B.pertussis*, характеризующиеся новыми «невакцинными» аллелями генов патогенности, обладают высокой степенью вирулентности
- Эти штаммы полностью вытеснили "старые" штаммы.

Pathogenesis of *Bordetella pertussis*



Патогенез коклюша

контакт, внедрение, распространение. Заболевания - энцефалопатия, ринорея, пароксизмальный кашель, лимфоцитоз, бронхопневмония



Осложнения: пневмония, ателектаз, эмфизема, кровоизлияние в мозг

- Коклюш - высококонтагиозное заболевание, к которому очень восприимчивы дети (у взрослых вызывает затяжной бронхит)
- *Источник инфекции* – больной (заразен до **25-30**дн) или бактерионоситель
- *Путь передачи* - воздушно-капельный
- *Периоды заболевания:*
- инкубационный (**5-8**дн, до**14**)
- катаральный (**5-14**дней)
- Судорожный (пароксизмальный) (**2-8** недель)
- период разрешения (**2-4** недели)
- ЛЕЧЕНИЕ: симптоматическое; антибиотикотерапия показана до пароксизмального периода; Ig

Лабораторная диагностика коклюша



- Основные методы лабораторной диагностики коклюша

бактериологический
и серологический

Бактериологический метод


- **Клинический материал собирают**
 - сухим тампоном с задней стенки глотки и делают посев на питательные среды
 - методом кашлевых пластинок
- **Материал целесообразно получать до начала антимикробной терапии**
- **Необходимо соблюдение асептики,**
не следует допускать контаминации посторонней микрофлорой

Один из способов взятия клинического материала


INVITRO®

Процедура взятия биоматериала

Взятие мазка из зева









Взятие мазка из носовой полости



ЛИДЕР С 1995 ГОДА ■ ■ ■ ■

Бактериологический метод

Цель бактериологического исследования:

-  Выделение чистой культуры и идентификация возбудителя коклюша
-  Дифференциальный анализ культуральных свойств возбудителей коклюша (**B.pertussis**) и паракоклюша (**B.parapertussis**)
 - 1 этап:** Посев на следующие питательные среды:
 -  картофельно-глицериновый агар Борде,
 -  казеиновый-угольный агар, кровяной агар
 - 2 этап:**
 -  Палочки коклюша через **48-72**ч роста образуют мелкие блестящие колонии серого цвета
 -  Паракоклюшные палочки через **24-48**ч роста образуют колонии несколько крупнее

3 этап: Серологическая идентификация бордетелл

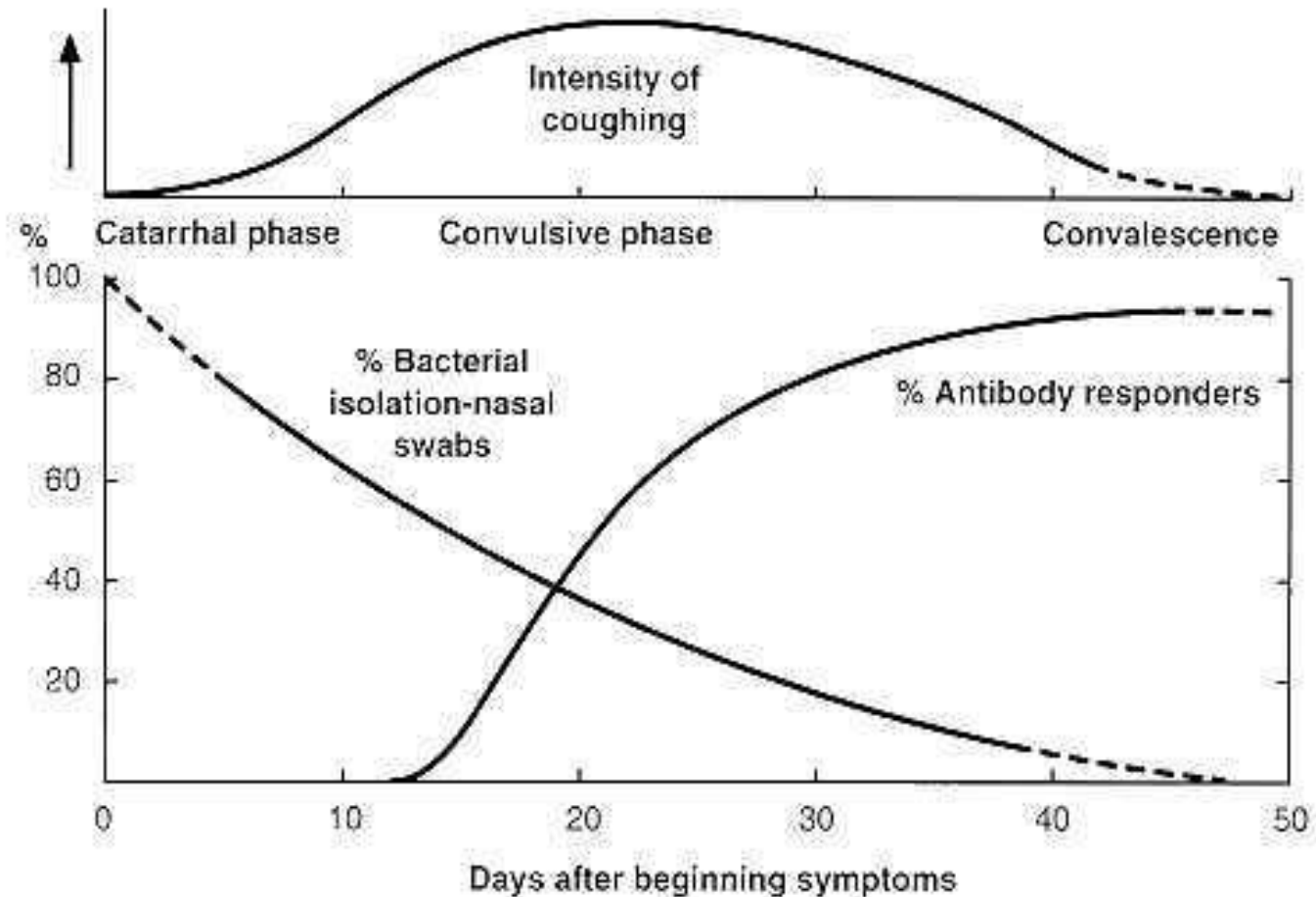
- Используют образцы антигенов - с **1** по **14**
- Антиген **7** определяет род **Bordetella**,
- Антиген **1** определяет **Bordetella pertussis**,
- Антиген **14** – **B.parapertussis**

В реакции агглютинации в пробирках

Серологический метод диагностики коклюша

- ИФА используют для определения **slgA** в носоглоточной слизи, начиная с **2-3** недели заболевания
- РНГА используют при анализе сывороток через **10-14** дней, диагностический титр **1:80**, у здоровых детей **1:20**
- РСК в парных сыворотках

Динамика образования антител при коклюше



Плановая профилактика коклюша

- Комбинированная вакцина АКДС (адсорбированная коклюшно –дифтерийно – столбнячная вакцина) включает дифтерийный и столбнячный анатоксины, а также убитые цельные микроорганизмы - возбудители коклюша

Ацеллюлярные вакцины

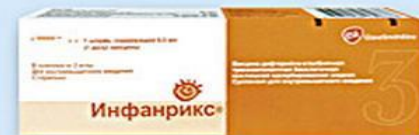
Компоненты *B.pertussis* :филаментозный
гемагглютинин, пертактин, фимбрии, анатоксин
коклюшного токсина

- Современная вакцина АКадС включает неклеточный коклюшный компонент

- **Инфаринкс** (Бельгия):

3 компонента (против коклюша, дифтерии,
столбняка) +

1 компонент (против Хиб-инфекции
«Хиберикс»)



- **Тетраксим** (Франция):

4 компонента (против коклюша, дифтерии, столбняка и полиомиелита) +
1 компонент (против Хиб-инфекции – «Акт-Хиб»)

- **Пентаксим** (Франция):

5 компонентов

(против коклюша, дифтерии, столбняка, полиомиелита и Хиб-инфекции)