

ЛЕКЦИИ

© ТЮКАВКИНА С.Ю., ХАРСЕЕВА Г.Г., 2014

УДК 616.98:579.814.94]-036.22-078-084

Тюкавкина С.Ю., Харсеева Г.Г.

КОКЛЮШ: ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *BORDETELLA PERTUSSIS*, ПРИНЦИПЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ И СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ

ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, 344022, Ростов-на-Дону, 22, Нахичеванский пер., 29

*Проблема эпидемиологии, лабораторной диагностики и специфической профилактики коклюша остается актуальной, поскольку уровень заболеваемости этой "управляемой" вакцинацией инфекцией ежегодно растет, несмотря на широкий охват прививками детского населения. Знание особенностей распространения и течения коклюшной инфекции, циркуляции штаммов *Bordetella pertussis* в современных условиях, факторов патогенности возбудителя и механизмов патогенеза заболевания важно как для студентов медицинских вузов, так и для врачей различных специальностей – не только педиатров, но и терапевтов, пульмонологов, бактериологов, эпидемиологов и др. Целесообразными являются рассмотрение принципов лабораторной диагностики коклюша и трудностей, с которыми сталкивается лабораторная служба при этом, а также сравнительная характеристика традиционных и экспресс-методов диагностики коклюшной инфекции, возможных и регламентированных для проведения базовыми бактериологическими лабораториями на территории РФ. Основы вакцинопрофилактики коклюша как единственно эффективного средства предотвращения массовых вспышек этого заболевания также рассматриваются в рамках предлагаемой лекции.*

Ключевые слова: коклюш; эпидемиология коклюша; патогенез коклюша; лабораторная диагностика коклюша; вакцинопрофилактика коклюша.

Tyukavkina S. U., Kharseeva G. G.

WHOOPIING COUGH: EPIDEMIOLOGY, BIOLOGICAL FEATURES OF *BORDETELLA PERTUSSIS*, LABORATORY DIAGNOSTICS AND SPECIFIC PROPHYLAXIS

Rostov State Medical University, 29, Nahichevansky av., Rostov-on-Don, Russian Federation, 344022

*The problem of epidemiology, laboratory diagnosis and specific prophylaxis of pertussis remains to be relevant because the level of the morbidity rate of this infection "managed" by vaccination is rising, despite the wide coverage of immunization of the child population. Knowledge of the distribution and the course of pertussis infection, *Bordetella pertussis* strains circulating in modern conditions, factors of pathogenicity of the causative agent and mechanisms of pathogenesis of the disease is important as well for medical students as for physicians of various specialties – not only pediatricians, but also therapists, pulmonologists, microbiologists, epidemiologists and etc. It is worth to consider principles of laboratory diagnosis of pertussis and difficulties to which the laboratory service is faced at this as well as the comparative characteristics of traditional and express methods for diagnosing of pertussis infection – possible and regulated for implementation by basic bacteriological laboratories in the territory of Russian Federation. Fundamentals of pertussis vaccination as the only effective means for prevention of mass outbreaks of this disease are also considered in the framework of the proposed lecture.*

Key words: whooping cough; pertussis epidemiology; pathogenesis of pertussis; laboratory diagnosis of whooping cough; pertussis; vaccinal prevention.

В настоящее время проблема коклюша вновь актуальна для практического здравоохранения всех стран мира. Несмотря на проводимую более 50 лет вакцинопрофилактику этого заболевания, интенсивность эпидемического процесса и показатели заболеваемости начиная с конца 90-х годов XX века, неуклонно растут. При этом увеличение количества манифестных форм коклюша создает условия для вовлечения в эпидемический процесс детей первых месяцев жизни, что сопряжено с увеличением тяжести течения заболевания и летальности, а атипич-

ных, клинически не выраженных форм – к отсутствию настороженности клиницистов к этой инфекции с первых дней болезни, являющихся наиболее благоприятными для лабораторной диагностики.

Этиология коклюша

Коклюш – это острая воздушно-капельная инфекция, вызываемая микроорганизмами вида *Bordetella pertussis*, характеризующаяся поражением слизистой оболочки преимущественно гортани, трахеи, бронхов и развитием судорожного приступообразного кашля.

Бактерии – возбудители коклюша были впервые выделены от больного ребенка в 1906 г. двумя учеными – бельгийцем Жюлем Борде (в честь него назван род) и французом Октавом Жангу (в честь них

Для корреспонденции (correspondens to): Тюкавкина Светлана Юрьевна, канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии и вирусологии № 2, e-mail: svetlanava@mail.ru

обоих возбудитель коклюша также называют палочкой Борде–Жангу). Помимо описания микроба, они разработали питательную среду для его культивирования, которая широко используется по сей день и называется также в их честь средой Борде–Жангу.

В современной систематике бордетеллы относят к домену *Bacteria*, порядку *Burkholderiales*, семейству *Alcaligenaceae*, роду *Bordetella*. В пределах рода описано 9 видов, 3 из которых являются преимущественно патогенными для человека: наиболее часто заболевания вызывает *B. pertussis* – возбудитель коклюша, облигатный патоген человека; *B. parapertussis* – возбудитель паракоклюша (коклюшеподобного, клинически сходного с коклюшем заболевания), выделяется также от некоторых животных; *B. trematum* – возбудитель раневых и ушных инфекций, описанный сравнительно недавно. Существует еще 4 вида, являющиеся возбудителями заболеваний животных, но также потенциально патогенных для человека (вызывают инфекции в особо редких случаях, как правило, у иммунокомпрометированных пациентов): *B. bronchiseptica* – возбудитель бронхисептикоза (коклюшеподобного заболевания животных, у человека протекающего по типу ОРЗ); *B. ansorgii*, *B. avium*, *B. hinzii*. *B. holmesii* выделяются только от людей, как правило, при инвазивных инфекциях (менингитах, эндокардитах, бактериемии и др.), однако этиологическая роль этого вида в развитии инфекций не доказана. *B. pertussis* – единственный представитель рода, выделенный из окружающей среды и способный жить в анаэробных условиях, однако описана возможность его длительной персистенции у человека.

Ранее, до 30-х годов прошлого столетия, бордетеллы ошибочно относили к роду *Haemophilus* лишь на том основании, что в среды для их культивирования было необходимо вносить человеческую кровь. В большинстве сред и сейчас вносят дефибринированную кровь человека. Однако Breadford в более поздних исследованиях показал, что кровь не является для бордетелл фактором роста и обязательным компонентом при культивировании, а выполняет в большей степени роль адсорбента токсических продуктов метаболизма бактерий. По генотипу и фенотипическим свойствам бордетеллы также значительно отличаются от гемофилов, что доказал Lopes в 50-х годах XX века. Это позволило выделить их в самостоятельный род.

Эпидемиология коклюша

Необходимо отметить эпидемиологические особенности коклюша. Это строгий антропоноз, при котором основным источником инфекции является больной человек, бактерионосительство, как пока еще считается, не имеет эпидемиологического значения и в коллективах, свободных от коклюша, не зарегистрировано, а среди переболевших детей составляет не более 1–2%, с незначительной длительностью его (до 2 нед). Коклюш относят к “детским

инфекциям”: до 95% случаев выявляется именно у детей и лишь в 5% – у взрослых. Хотя реальная частота коклюша у взрослых в официальной статистике вряд ли может быть отражена в силу неполной регистрации всех случаев, во-первых, из-за предубеждения терапевтов о возрастной категории, подверженной этой инфекции – и потому малой настороженности в отношении нее, во-вторых, потому, что коклюш у взрослых часто протекает в атипичных формах и диагностируется как ОРЗ или ОРВИ. Механизм передачи заболевания аэрогенный, а путь – воздушно-капельный. Восприимчивость населения при отсутствии противокклюшного иммунитета очень высокая – до 90%. Но несмотря на это, а также массивность выделения возбудителя во внешнюю среду, передача возможна только при тесном длительном общении по следующим причинам: аэрозоль, который создается при кашле больного коклюшем, крупнодисперсный и быстро оседает на предметы окружающей среды, распространяясь не более чем в радиусе 2–2,5 м, а его проникающая способность в дыхательные пути мала, поскольку крупные частицы задерживаются в верхних отделах дыхательных путей. Кроме того, бордетеллы коклюша нестойки к действию природных факторов окружающей среды – к инсоляции (причем как к действию УФ-лучей, так и повышенных температур), и при 50°C погибают в течение 30 мин, к высыханию. Однако во влажной мокроте, попавшей на объекты внешней среды, могут сохраняться несколько дней.

Анализируя заболеваемость коклюшем, вспомним, что в допрививочный период, до 1959 г., в нашей стране она достигала 480 случаев на 100 тыс. населения при очень высокой летальности (0,25% в структуре общей смертности, или 6 на 100 тыс.); к 1975 г. в связи с успехами проводившейся массовой вакцинации АКДС-вакциной заболеваемость упала до 2,0 на 100 тыс., и это был рекордно низкий уровень, а смертность снизилась в несколько сотен раз и сейчас регистрируется в единичных случаях – не более 10 за год. К концу XX столетия и по настоящее время отмечается неуклонный ежегодный рост показателей заболеваемости коклюшем. Так, в 2012 г. по сравнению с 2011 г. она выросла почти в 1,5 раза и составила 4,43 и 3,34 случая на 100 тыс. населения соответственно. Традиционно заболеваемость выше в мегаполисах (первое место в РФ занимает в последние годы Санкт-Петербург).

Необходимо отметить, что фактическая заболеваемость коклюшем, по-видимому, еще выше статистических цифр. Это может быть связано с неполной регистрацией, обусловленной наличием большого количества “атипичных” форм коклюша, отсутствием надежных методов лабораторной диагностики, трудностью дифференцирования с паракоклюшем и т. п.

Особенностями коклюша современного периода является:

– “повзросление” – увеличение удельного веса больных детей в возрастной группе 5–10 лет (макси-

мум приходится на 7–8 лет), так как формирующий-ся поствакцинальный иммунитет недостаточно напряженный и длительный и к 7-летнему возрасту накапливается значительное число неиммунных к коклюшу детей (более 50%); в связи с этим появились очаги инфекции в основном в общеобразовательных школах с повторными случаями заболеваний в организованных коллективах;

– последние периодические подъемы возникают на фоне повышения охвата прививками детей раннего возраста (по вышеуказанной причине);

– возвращение высокотоксичного штамма 1, 2, 3 (этот серовариант циркулировал и преобладал в допрививочный период, в первые 10 лет вакцинопрофилактики произошла его смена на серовариант 1.0.3) и большого количества среднетяжелых и тяжелых форм коклюша; сейчас серовариант 1, 2, 3 встречается в 12,5% случаев, выделяется в основном от детей раннего возраста, непривитых, с тяжелой формой коклюша;

– доминирование сероварианта 1, 0, 3 (до 70% среди “расшифрованных случаев”), который выделяется в основном от привитых и больных с легкой формой;

– увеличение количества атипичных форм коклюша.

Биологические свойства возбудителя

Возбудители коклюша представляют собой граммотрицательные мелкие палочки, длина которых по размеру приближается к поперечнику, а потому напоминающие при микроскопии овальные кокки, называемые коккобактериями; имеют микрокапсулу, пили, неподвижны и не образуют спор. Они аэробны, лучше развиваются во влажной атмосфере при температуре 35–36°C, относятся к “прихотливым”, или “капризным” к условиям культивирования, бактериям со сложными питательными потребностями. В питательные среды, кроме питательной основы и факторов роста обязательно включают адсорбенты токсичных продуктов метаболизма бордетелл, активно выделяемых в процессе их жизнедеятельности. Существует 2 типа адсорбентов: 1) дефибринированная человеческая кровь, вносимая в количестве 20–30% в среду Борде–Жангу (картофельно-глицериновый агар) и являющаяся не только адсорбентом, но и дополнительным источником нативных белков, аминокислот; 2) активированный уголь, используемый в таких полусинтетических средах, как казеиново-угольный агар (КУА), бордетеллагар. Качество полусинтетических сред можно улучшить путем добавления 10–15% дефибринированной крови.

Колонии коклюшного микроба мелкие (около 1–2 мм в диаметре), очень выпуклые, сферические, с гладкими краями, серого цвета с серебристым оттенком, напоминающие капельки ртути или жемчужины. Они обладают вязкой консистенцией и вырастают через 48–72 ч, иногда рост затягивается до

5 сут. Колонии паракокклюшного микроба схожи с коклюшными, но крупнее (до 2–4 мм), вокруг них может обнаруживаться потемнение среды, а на КУА – появляться кремовый и даже желто-коричневый оттенок, время формирования 24–48 ч. При изучении колоний бордетелл с помощью стереомикроскопа при боковом освещении виден так называемый хвост кометы, представляющий собой конусообразную тень колонии на поверхности среды, однако этот феномен наблюдается не всегда. *B.pertussis* в отличие от других представителей рода биохимически инертны и не разлагают мочевины, тирозин, углеводы, не утилизируют цитраты.

Антигенные и токсичные субстанции бордетелл достаточно многообразны и представлены следующими группами: поверхностными структурами (микрокапсула, фимбрии), структурами, локализованными в наружной мембране клеточной стенки (филаментозный гемагглютинин, пертактин) и токсинами, основным из которых, участвующих в патогенезе, является коклюшный токсин (КТ), состоящий из компонента А (S1-субъединица), обуславливающего токсичность, и В (S2-, S3-, S4-, S5 субъединиц), ответственного за прикрепление токсина к клеткам

Таблица 1

Факторы патогенности *Bordetella pertussis*

Название фактора	Роль в патогенезе
I. Поверхностные структуры	
1. Микрокапсула	обуславливает незавершенный характер фагоцитоза
2. Фимбрии (пили)	адгезия на клетках цилиарного эпителия
II. Структуры, локализованные в наружной мембране клеточной стенки	
1. Филаментозный гемагглютинин	адгезия и колонизация цилиарного эпителия
2. Пертактин	адгезия и инвазия возбудителя коклюша в клетки цилиарного эпителия и альвеолярные макрофаги
III. Токсичные субстанции	
1. Коклюшный токсин – ведущий фактор патогенности	адгезия и инвазия возбудителя в реснитчатый эпителий; индукция лимфоцитоза, гиперсекреции инсулина, сенсibilизации к гистамину, ГЗТ, токсическое действие на клетки различных органов и их гибель; обуславливает протективность
2. Эндотоксин	общетоксическое, пирогенное, адъювантное действие, индукция синтеза фактора некроза опухолей
3. Термолабильный токсин (дермонекротизин)	вызывает атрофию и некроз эпителия дыхательных путей, клеток печени, селезенки, лимфоузлов, спазм периферических сосудов, избирательно возбуждает нейроны кашлевого центра в продолговатом мозге
4. Трахеальный цилиотоксин	угнетает деятельность реснитчатого эпителия, участвует в развитии приступов спастического кашля
5. Аденилатциклаза	нарушает метаболизм клеток организма, обладает цитотоксическим действием, протективностью

реснитчатого эпителия. Немаловажную роль играют также эндотоксин, термолabile токсин, трахеальный цитотоксин, аденилатциклаза (табл. 1). Все вышеперечисленные факторы присутствуют у свежевыделенных штаммов коклюшного микроба.

Из антигенов бордетелл наибольший интерес представляют поверхностные, локализованные в фимбриях, так называемые агглютиногены, иначе называемые “факторами”. Это нетоксичные протеины с низкой молекулярной массой, имеющие значение в формировании защиты при коклюшной инфекции и выявляющиеся в реакциях агглютинации, что и послужило поводом для их названия.

Anderson и Eldering еще в 50-е годы прошлого века описали 14 агглютиногенов бордетелл, обозначив их арабскими цифрами (в настоящее время известно уже 16). Родовым, общим для всех бордетелл, является агглютиноген 7; видовым для *B.pertussis* – 1 (обязательный), внутривидовыми (штаммовыми) – 2–6, 13, 15, 16 (необязательные); для *B.parapertussis* – соответственно 14 и 8–10, для *B.bronchiseptica* – 12 и 8–11. Обнаружение их используют в лабораторной диагностике коклюша при дифференциации соответствующих видов и для разделения штаммов *B.pertussis* на серологические варианты.

Четыре существующих сероварианта *B.pertussis* устанавливают по сочетаниям факторов 1, 2, 3; 1, 0, 0; 1, 2, 0; 1, 0, 3; 1, 2, 3.

Патогенез коклюшной инфекции

Входными воротами инфекции является слизистая оболочка респираторного тракта. Палочки коклюша проявляют строгий тропизм к клеткам мерцательного эпителия, прикрепляются к ним и размножаются на поверхности слизистой оболочки, не проникая в кровоток. Размножение обычно происходит на протяжении 2–3 нед и сопровождается выделением ряда сильных экзотоксинов, основными из них являются КТ и аденилатциклаза. Через 2–3 нед возбудитель коклюша разрушается с высвобождением большого комплекса внутриклеточных факторов патогенности. В месте колонизации и инвазии

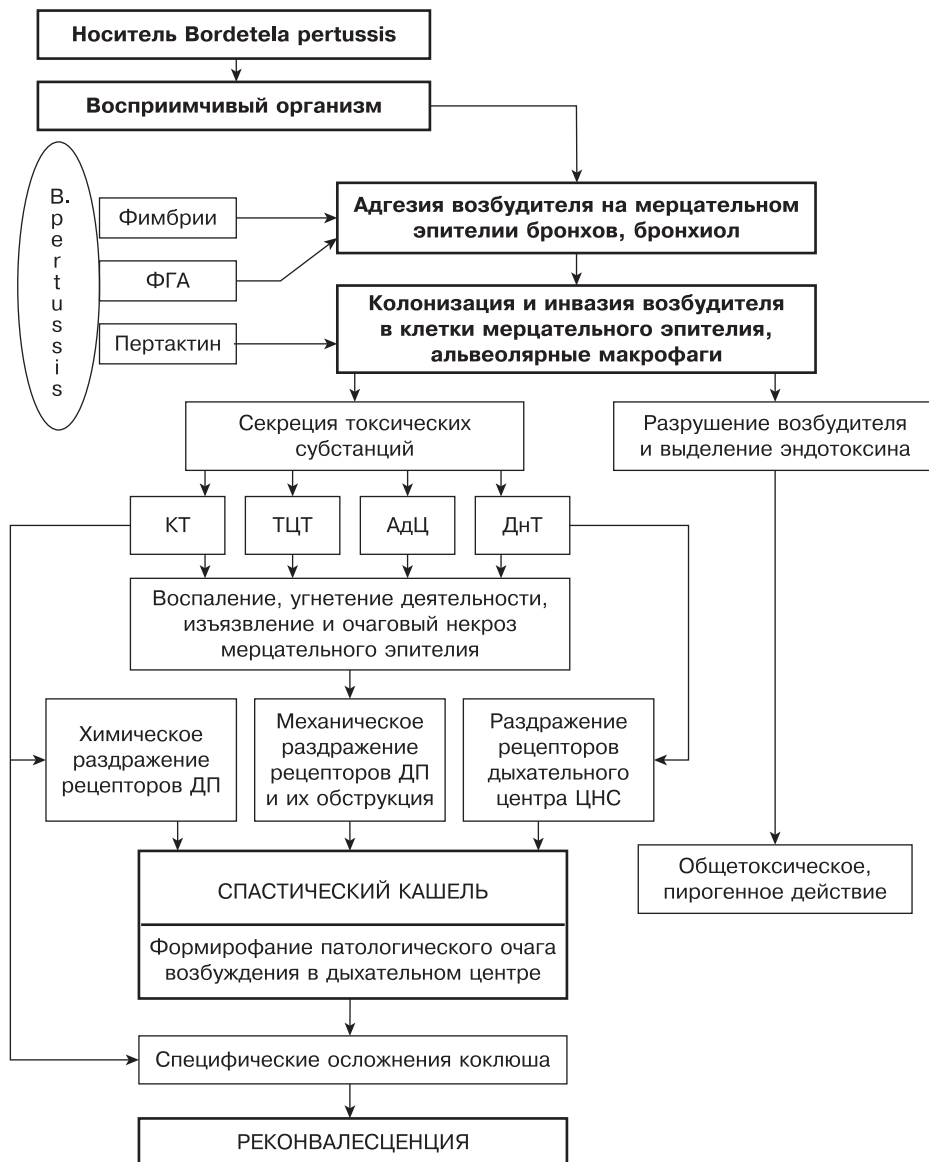


Рис. 1. Основные этапы патогенеза типичной формы коклюша.

ФГА – филаментозный гемагглютинин, КТ – коклюшный токсин, ТЦТ – трахеальный цитотоксин, АдЦ – аденилатциклаза, ДнТ – дермoneкротоксин, ДП – дыхательные пути.

возбудителя развивается воспаление, угнетается деятельность реснитчатого эпителия, увеличивается секреция слизи, появляются изъязвления эпителия дыхательных путей (ДП) и очаговый некроз. Патологический процесс наиболее выражен в бронхах и бронхиолах, менее – в трахее, гортани, носоглотке. Формирующиеся слизисто-гнойные пробки закупоривают просвет бронхов и приводят к очаговому ателектазу. Постоянное механическое раздражение рецепторов ДП, а также действие на них КТ, дермoneкротизина и продуктов жизнедеятельности *B. pertussis* обуславливают развитие приступов кашля и приводят к формированию в дыхательном центре очага возбуждения типа доминанты, вследствие чего развивается характерный спастический кашель. К этому моменту патологический процесс в бронхах самоподдерживается уже в отсутствие возбудителя.

И даже после полного исчезновения возбудителя из организма и воспалительных процессов в ДП кашель может сохраняться очень длительно (от 1 до 6 мес) за счет наличия доминантного очага в дыхательном центре (рис. 1). Возможна иррадиация возбуждения из ДП в другие отделы нервной системы, в результате чего возникают симптомы со стороны соответствующих систем: сокращение мышц лица, туловища, рвота, увеличение артериального давления и др.

Особенностями инфекционного процесса при коклюше являются отсутствие фазы бактериемии, первичного инфекционного токсикоза с выраженной температурной реакцией и катаральных явлений, а также медленное, постепенное развитие заболевания. Отсутствие выраженного первичного токсикоза объясняется тем, что *B. pertussis* при своем размножении и гибели образует малое количество КТ. Несмотря на это, КТ оказывает выраженное влияние на весь организм, и прежде всего на дыхательную, сосудистую и нервную системы, вызывая спазм бронхов, повышение проницаемости сосудистой стенки и тонуса периферических сосудов. Возникающий генерализованный судорожный спазм может приводить к развитию артериальной гипертензии, формированию венозного застоя в малом круге кровообращения.

Кроме того, возбудитель коклюша способен оказывать неблагоприятное влияние на желудочно-кишечный тракт, усиливая перистальтику кишечника и способствуя развитию диарейного синдрома, приводить к исчезновению облигатных представителей кишечной микрофлоры и как следствие к снижению колонизационной резистентности, размножению условно-патогенных энтеробактерий, кокков и грибов и развитию дисбактериоза кишечника. Эти эффекты обусловлены действием преимущественно КТ и аденилатциклазы.

Немаловажное значение в патогенезе коклюша по современным представлениям имеет апоптогенное действие токсинов *B. pertussis* на клетки иммунной системы организма. Возникающий вследствие этого вторичный иммунодефицит является predisposing фактором для развития неспецифических осложнений коклюша, таких как бронхиты и пневмонии, связанных чаще всего с активизацией собственной бактериальной флоры дыхательных путей или “наслоением” ОРВИ, хламидийных, микоплазменных инфекций, являясь прекрасным “проводни-

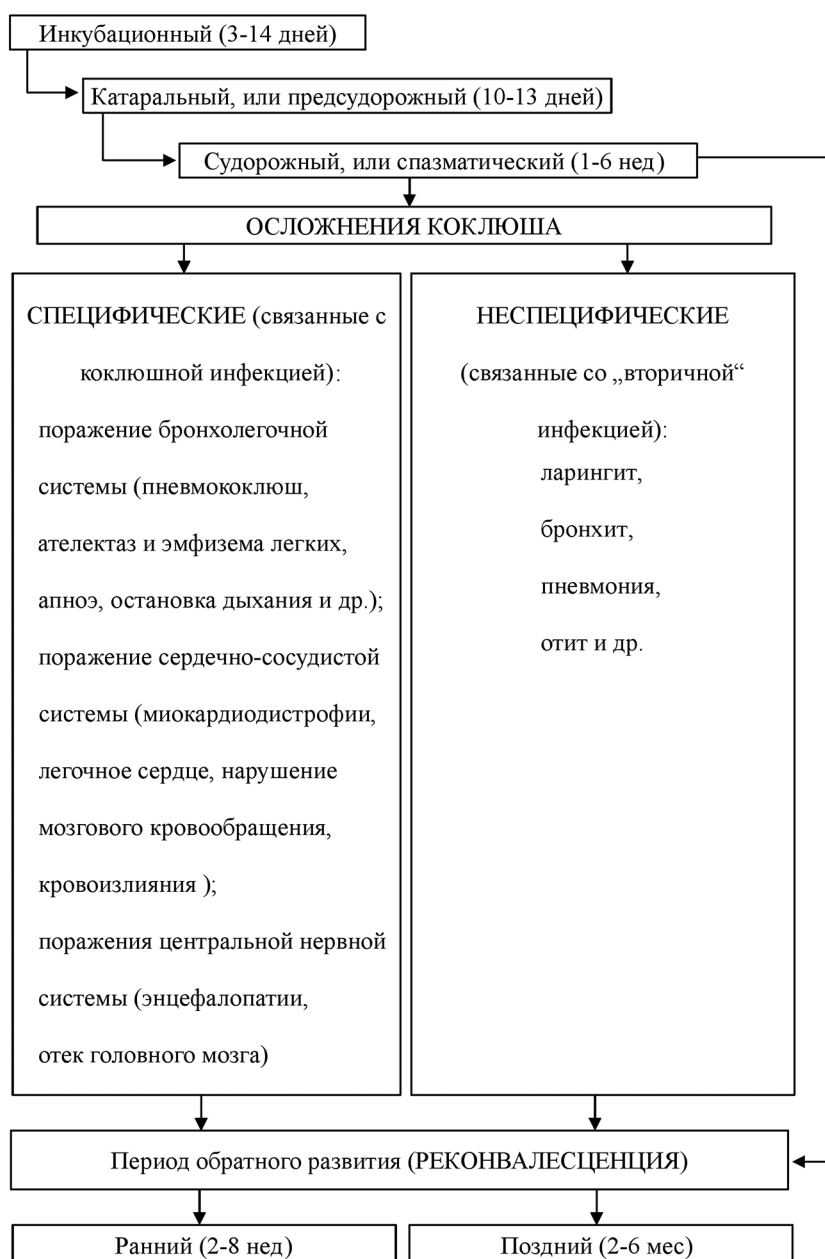


Рис. 2. Клинические периоды течения коклюша.

ком” для них. Подобные осложнения значительно увеличивают риск развития бронхообструкции и дыхательной недостаточности.

Клиническая картина коклюша

Коклюш в типичной манифестной форме (“стандартное определение” случая) характеризуется следующими симптомами: сухим кашлем с постепенным его усилением и приобретением характера приступообразного спазматического на 2–3-й неделе заболевания, особенно в ночное время суток или после физической и эмоциональной нагрузки; явлениями апноэ, гиперемией лица, цианозом, слезотечением, рвотой, лейко- и лимфоцитозом в периферической крови, развитием “коклюшного легкого”, жестким дыханием, отделением вязкой мокроты;

слабовыраженными катаральными явлениями и незначительным повышением температуры.

Коклюш относится к числу заболеваний с циклическим течением. Выделяют 4 последовательных периода: инкубационный, продолжительность которого в среднем составляет 3–14 дней; катаральный (предсудорожный) – 10–13 дней; судорожный, или спазматический, – 1–1,5 нед у иммунизированных детей и до 4–6 нед у непривитых; период обратного развития (реконвалесценции), в свою очередь подразделяющийся на ранний (развивающийся через 2–8 нед от начала клинических проявлений) и поздний (спустя 2–6 мес) (рис. 2).

Основным симптомом катарального периода является сухой кашель, изо дня в день усиливающийся, навязчивый. При легких и среднетяжелых формах температура остается нормальной или постепенно повышается до субфебрильных цифр. Катаральные явления со стороны слизистых оболочек носа и ротоглотки практически отсутствуют или весьма скудные. Общее самочувствие не слишком страдает. Длительность этого периода коррелирует с тяжестью дальнейшего течения: чем он короче, тем хуже прогноз.

В период судорожного кашля кашель приобретает приступообразный характер с рядом быстро следующих друг за другом выдыхательных толчков, сменяющихся свистящим вдохом – репризом. При этом нужно помнить, что репризы бывают лишь у половины больных. Приступы кашля могут сопровождаться цианозом лица и отделением вязкой прозрачной мокроты или рвотой в конце, у детей раннего возраста возможно апноэ. При частых приступах появляются одутловатость лица, век, геморрагические петехии на коже. Изменения в легких, как правило, ограничиваются симптомами вздутия легочной ткани, могут выслушиваться единичные сухие и влажные хрипы, которые исчезают после приступа кашля и вновь появляются спустя короткое время. С развитием спастического кашля заразительность больного уменьшается, однако и на 4-й неделе 5–15% пациентов продолжают быть источниками заболевания.

В период разрешения кашель теряет свой типичный характер, становится реже и легче.

Помимо типичных форм, возможно развитие атипичных форм коклюша – стертых, характеризующихся слабым покашливанием, отсутствием последовательной смены периодов болезни, с колебаниями длительности кашля от 7 до 50 дней; abortивных – с типичным началом болезни и исчезновением кашля через 1–2 нед; субклинические формы коклюша диагностируются, как правило, в очагах инфекции при проведении бактериологического, серологического обследования контактных детей.

По тяжести выделяют легкую, среднетяжелую и тяжелую формы, которые определяются длительностью катарального периода, а также наличием и выраженностью следующих симптомов: частотой приступов кашля, цианозом лица при кашле, апноэ,

дыхательной недостаточностью, нарушениями деятельности сердечно-сосудистой системы, энцефалитическими расстройствами.

Коклюш опасен своими частыми осложнениями, которые делят на специфические и неспецифические (см. рис. 2). Специфические связаны непосредственно с коклюшной инфекцией и обусловлены воздействием токсинов *B. pertussis* преимущественно на сердечно-сосудистую, дыхательную и нервную системы, к клеткам которых они обладают тропностью. Неспецифические осложнения развиваются как вторичная инфекция с наиболее частой локализацией в дыхательных путях. Этому способствуют, с одной стороны, местные воспалительные процессы, вызванные бордетеллами, приводящие к возникновению изъязвлений эпителия в бронхах и бронхиолах (реже – в трахее, гортани, носоглотке), очагового некроза и формированию слизисто-гнойных пробок, закупоривающих просвет бронхов; с другой – иммунодефицитные состояния, формирующиеся на фоне коклюшной инфекции. Ведущую роль среди причин смерти, связанных с неспецифическими осложнениями коклюша, играют пневмонии (до 92%), увеличивающие риск развития бронхообструкции и дыхательной недостаточности со специфическими осложнениями – энцефалопатиями.

Методы лабораторной диагностики коклюша

Лабораторная диагностика коклюша приобретает особую значимость в связи с трудностью клинического распознавания коклюша и в настоящее время является важным звеном в системе противоэпидемических мероприятий. Кроме того, лишь на основании выделения возбудителя можно дифференцировать коклюш и паракоклюш.

Лабораторные исследования проводят с диагностической целью (детям, кашляющим в течение 7 дней и более или с подозрением на коклюш по клиническим данным, а также взрослым с подозрением на коклюш и коклюшеподобные заболевания, работающим в родильных домах, детских больницах, санаториях, детских образовательных учреждениях и школах) и по эпидемическим показаниям (лицам, бывшим в контакте с больным).

Лабораторная диагностика коклюшной инфекции проводится в двух направлениях (табл. 2): 1) прямое обнаружение возбудителя или его антигенов/генов в исследуемом материале от пациента; 2) выявление с помощью серологических реакций в биологических жидкостях (сыворотках крови, слюне, секретах носоглотки) специфических антител к коклюшной палочке или ее антигенам, количество которых обычно нарастает в динамике заболевания (непрямые методы).

К группе “прямых” методов относят бактериологический метод и экспресс-диагностику.

Бактериологический метод является золотым стандартом, позволяет выделить культуру возбудителя на питательной среде и идентифицировать ее

Методы лабораторной диагностики коклюша

	Прямые		Непрямые		
	Направление исследования	Традиционное выделение на питательных средах и идентификация возбудителя	Экспресс-индикация – поиск в клинических образцах генов <i>B. pertussis</i> антигенов <i>B. pertussis</i>		Выявление противокклюшных антител
Материал для исследования	Секрет задней стенки глотки, гортанно-глоточный и бронхоальвеолярный лаваж, мокрота	Слюна, гортанно-глоточные смывы, мокрота		«Парные» сыворотки крови обследуемого	Слюна
Название метода	Бактериологический*	Молекулярно-генетический**	Иммунологический	Серодиагностика*	Иммунологический
Методики	Посев на среды	ПЦР	ИФА	РА, РПГА, ИФА	РА, ИФА
Длительность исследования	5–7 дней	До 6 ч		2–6 ч, двукратно в динамике болезни	2–6 ч
Сроки проведения от начала болезни	1–30-й день	В разные сроки, при ретроспективной диагностике, возможно, на фоне приема антибиотиков		1-е исследование – со 2-й недели болезни; 2-е – с интервалом 7–10 дней	С 1-й по 9-ю неделю

Примечание. * – основной метод, ** – рекомендуемый метод в РФ.

до вида. Но успешен он только в ранние сроки заболевания – первые 2 нед, несмотря на то что его использование регламентировано до 30-х суток заболевания. Метод имеет чрезвычайно низкую чувствительность: с начала 2-й недели выделяемость возбудителя стремительно падает, в среднем подтверждаемость диагноза составляет 6–20%. Это обусловлено “прихотливостью”, медленным ростом *B. pertussis* на питательных средах, их недостаточным качеством, использованием в качестве селективного фактора, добавляемого в среды для первичного посева, антибиотиков, к которым резистентны не все штаммы возбудителя, а также поздними сроками обследования, особенно на фоне приема антибактериальных препаратов, неправильным забором материала и его контаминацией. Другим существенным недостатком метода является длительный срок проведения исследования – 5–7 сут до выдачи окончательного ответа. Бактериологическое выделение возбудителя коклюша проводят как с диагностической целью (при подозрении на коклюш, при наличии кашля неустановленной этиологии свыше 7 дней, но не более 30 сут), так и по эпидемиологическим показаниям (при наблюдении за контактными людьми).

Экспресс-методы направлены на обнаружение генов/антигенов *B. pertussis* непосредственно в исследуемом материале (слизи и гортанно-глоточных смывах с задней стенки глотки, слюне) соответственно с помощью молекулярно-генетического метода, в частности полимеразной цепной реакции (ПЦР), и иммунологических реакций (реакции непрямой иммунофлюоресценции, в иммуноферментном анализе – ИФА, микрлатексагглютинации).

ПЦР является высокочувствительным, специфичным и быстрым методом, позволяющим выдать ответ в течение 6 ч, который может быть использован в разные сроки заболевания даже на фоне приема антибиотиков, при выявлении атипичных и

стертых форм коклюша, также при ретроспективной диагностике. ПЦР для диагностики коклюша широко используется в зарубежной практике, а на территории РФ остается лишь рекомендуемым методом и доступна далеко не всем лабораториям, поскольку требует наличия дорогостоящего оборудования и расходных материалов, высококвалифицированного персонала, набора дополнительных помещений и площадей, и в настоящее время не может быть внедрена в практику базовых лабораторий в качестве регламентированного метода. Прямые методы, применяемые для экспресс-диагностики, могут быть также использованы при идентификации *B. pertussis* в чистых культурах, в том числе материала из изолированных колоний, в процессе бактериологического исследования.

К методам, направленным на выявление противокклюшных антител, относят серодиагностику, основанную на определении антител в сыворотках крови, и методики, позволяющие регистрировать специфические антитела в других биологических жидкостях (слюне, секретах носоглотки). Серодиагностика может быть применена на более поздних сроках, начиная со 2-й недели заболевания. При наличии типичных клинических проявлений коклюша она позволяет лишь подтвердить диагноз, в то время как при стертых и атипичных формах, количество которых на современном этапе резко возросло и когда результаты бактериологического метода, как правило, отрицательны, серодиагностика может оказаться решающей в выявлении заболевания. Проводимое лечение антибактериальными препаратами никак не влияет на результаты этого метода. Обязательным условием является исследование “парных” сывороток больных, взятых с интервалом не менее 2 нед. Диагностически значимой является выраженная сероконверсия, т.е. увеличение или уменьшение в 4 раза и более уровня специфических антител. Допускается однократное обнаружение специфических к

B. pertussis IgM, и/или IgA, и/или IgG в ИФА или антител в титре 1/80 и более в реакции агглютинации (РА) у непривитых и не болевших коклюшем детей не старше 1 года и у взрослых при обнаружении у них специфических IgM в ИФА или при обнаружении антител к *B. parapertussis* методом РА в титре не менее 1/80. В литературе описано 3 типа реакций, которые возможно использовать с этой целью: РА, реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), ИФА. Однако нужно иметь в виду, что для постановки РПГА не существует стандартных иммунологических тест-систем промышленного производства, а тест-системы на основе ИФА, позволяющие регистрировать количество сывороточных иммуноглобулинов классов G, M и секреторных A к отдельным антигенам *B. pertussis*, не выпускаются российской промышленностью, тест-системы зарубежного производства имеют высокую стоимость. РА, несмотря на сравнительно невысокую чувствительность, является единственно доступной реакцией для любых российских лабораторий, позволяющей получить стандартизованные результаты, поскольку для ее постановки российской промышленностью выпускаются коммерческие коклюшные (паракоклюшные) диагностикумы.

В связи с вышесказанным в современных условиях на территории РФ для медицинских учреждений, оказывающих диагностические услуги населению на бюджетной основе, приняты следующие методы диагностики коклюша, регламентированные нормативными документами: основные – бактериологический и серодиагностика и рекомендуемый – ПЦР.

Схема бактериологической диагностики коклюша включает 4 этапа

I этап (1-й день):

1. Забор материала (двукратно, ежедневно или через день): основной материал – слизь с задней стенки глотки, которая может быть отобрана двумя способами – “заднеглоточными” тампонами (последовательно сухим, затем смоченным физиологическим раствором по прописи Е.А. Кузнецова) и/или “носоглоточным” тампоном (метод тампонов используется как при диагностических исследованиях, так и исследованиях по эпидемиологическим показаниям), а также методом “кашлевых пластинок” (только при диагностических исследованиях);

дополнительный материал – гортанно-глоточные смывы с задней стенки глотки, промывные воды бронхов (если выполняется бронхоскопия), мокрота.

2. Посев на пластинки Борде–Жангу с 20–30% крови или КУА, бордетеллагар с добавлением селективного фактора цефалексина (40 мг на 1 л среды); термостатирование при 35–36°C, 2–5 сут с ежедневным просмотром.

II этап (2–3-и сутки):

1. Отбор характерных колоний и отсева на сектора пластинки КУА или бордетеллагара для накопления чистой культуры, термостатирование.

2. Изучение морфологических и тинкториальных свойств в мазке по Граму.

3. При наличии множества типичных колоний изучение антигенных свойств в слайд-агглютинации с поливалентной коклюшной и паракоклюшной сыворотками и выдача предварительного ответа.

III этап (4–5-е сутки):

1. Проверка чистоты накопленной культуры в мазках по Граму.

2. Изучение антигенных свойств в слайд-агглютинации с поливалентными коклюшной, паракоклюшной и адсорбированными факторными сыворотками 1 (2, 3) и 14, выдача предварительного ответа.

3. Изучение биохимических свойств (уреазной и тирозиназной активности, способности утилизировать цитрат натрия).

4. Изучение подвижности и способности расти на простых средах.

IV этап (5–6-е сутки):

учет дифференциальных тестов; выдача окончательного ответа по комплексу фенотипических и антигенных свойств.

В зависимости от наличия лабораторного подтверждения и других критериев существует следующая градация случаев коклюша: эпидемиологически связанным случаем считается случай острого заболевания, при котором имеются клинические признаки, отвечающие стандартному определению случая коклюша и эпидемиологическая связь с другими подозрительными или подтвержденным случаем коклюша; вероятный случай отвечает клиническому определению случая, лабораторно не подтвержден и не имеет эпидемиологической связи с лабораторно подтвержденным случаем; подтвержденный – отвечает клиническому определению случая, лабораторно подтвержден и/или имеет эпидемиологическую связь с лабораторно подтвержденным случаем. Лабораторным подтверждением считается положительный результат хотя бы в одном из перечисленных методов: бактериологическое выделение культуры возбудителя (*B. pertussis* или *B. parapertussis*), обнаружение специфических фрагментов геномов этих микроорганизмов методом ПЦР, выявление специфических антител при серодиагностике. Соответственно подтверждается диагноз: коклюш, вызванный *B. pertussis*, или коклюш, вызванный *B. parapertussis*. Лабораторно подтвержденный случай не обязательно должен отвечать стандартному клиническому определению случая (атипичные, стертые формы).

Принципы лечения коклюша

Основной принцип лечения коклюша – патогенетический, направленный прежде всего на устранение дыхательной недостаточности и последующей гипоксии (длительное пребывание на свежем воздухе, особенно вблизи водоемов, в тяжелых случаях – оксигенотерапия, гормонотерапия глюкокорти-

коидами) и улучшение бронхиальной проводимости (использование бронходилататоров, муколитиков), а также симптоматическая терапия специфических осложнений коклюша. Возможно проведение специфической иммунотерапии тяжелых форм с помощью противокклюшного иммуноглобулина.

Этиотропная антибактериальная терапия проводится при риске развития или развившихся неспецифических осложнениях, связанных со вторичной бактериальной флорой (при бронхитах, пневмониях и др.), при этом выбор антибактериальных препаратов должен быть сделан с учетом чувствительности к ним именно возбудителей «наслоившейся» инфекции.

Специфическая профилактика коклюшной инфекции

Коклюш – «управляемая инфекция», против которой ведется плановая вакцинация населения в соответствии с национальным календарем прививок.

Первая коклюшная вакцина появилась в США в 1941 г. В настоящее время вакцинацию против коклюша проводят все страны мира, а АКДС-вакцины входят в обязательный набор вакцин, рекомендуемых Всемирной организацией здравоохранения. Существует два принципиально разных типа вакцин, используемых для профилактики коклюша:

1. Адсорбированная коклюшно-дифтерийно-столбнячная вакцина (АКДС, международная аббревиатура – DTP), содержащая корпускулярный коклюшный компонент (10^9 убитых микробных клеток на одну дозу) и дифтерийный (15 Lf/доза), столбнячный (5 ЕС/доза) анатоксины, в настоящее время применяемая на территории РФ и некоторых других стран, а до конца 70-х годов – и во всем мире.

2. Бесклеточные вакцины АаКДС – содержат ацеллюлярный коклюшный компонент (на основе коклюшного анатоксина с различным сочетанием ряда протективных антигенов), лишены липополисахаридов бактериальной мембраны и других компонентов клетки, способных вызывать нежелательные реакции у вакцинированных; используются в США, Японии, большинстве европейских стран.

Считалось, что АКДС-вакцина является самой реактогенной за счет именно корпускулярного коклюшного компонента. В ряде случаев она вызывает следующие побочные реакции и осложнения у детей: местные (гиперемия, отечность и болезненность на месте введения) и общие – пронзительный крик, судороги и самое серьезное – поствакцинальный энцефалит, развитие которого связывают с присутствием в АКДС-вакцине недетоксицированного коклюшного токсина. Однако в настоящее время подобные случаи расшифровываются как имеющие другую этиологию.

В связи с этим в 80-е годы XX века ряд стран отказался от вакцинации АКДС. Первая версия бесклеточной вакцины на основе коклюшного токсина была разработана в Японии вслед за офици-

альным отказом Минздрава этой страны от использования цельноклеточных вакцин и последовавшей за этим эпидемией коклюша – закономерность, которая постигла и другие страны, отказавшиеся хотя бы на время от вакцинации. Позже были созданы многочисленные, более эффективные варианты ацеллюлярных вакцин, включающие различные сочетания от 2 до 5 компонентов *B.pertussis*, значимых в формировании эффективного иммунитета – модифицированный коклюшный токсин (анатоксин), филаментозный гемагглютинин (ФГА), пертактин и 2 агглютининогена фимбрий. Теперь они составляют основу календарей вакцинации против коклюша всех развитых стран мира, несмотря на их сравнительно высокую стоимость. Низкая реактогенность ацеллюлярных коклюшных вакцин позволяет вводить их в качестве второй ревакцинирующей дозы в возрасте 4–6 лет, что позволяет пролонгировать иммунитет. Подобной вакцины российского производства в настоящий момент пока еще не существует.

В РФ официально разрешено применение следующих АаКДС-вакцин, имеющих в своем составе коклюшный анатоксин, ФГА и пертактин: «Инфанрикс» и «Инфанрикс-Гекса» (ООО «СмитКляйн-Бичем-Биомед», Россия); «Тетраксим» и «Пентаксим» («Санофи Пастер», Франция). Помимо дифтерийного, столбнячного и коклюшного компонентов, они включают в себя инактивированный полиовирус и/или Хиб-компонент, и/или вакцину против гепатита В.

Схема вакцинации АКДС предусматривает введение трех доз в возрасте 3; 4,5 и 6 мес с ревакцинацией в 18 мес. Согласно календарю профилактических прививок России, проводятся 2-я и 3-я ревакцинация против дифтерии и столбняка препаратом АДС-М в 6–7 и 14 лет соответственно и далее ревакцинация взрослых каждые 10 лет. По желанию в коммерческих структурах в возрасте 4–6 лет можно провести ревакцинацию против коклюша вакциной АаКДС.

Для достижения удовлетворительного уровня коллективного иммунитета своевременное начало (в 3 мес) должно быть не менее чем у 75% детей, охват законченной вакцинацией (три прививки АКДС-вакциной) и ревакцинацией должен быть у 95% детей в возрасте 12 и 24 мес жизни соответственно, а к трем годам – не менее чем у 97–98%.

Важным способом оценки эффективности вакцинации населения является серологический мониторинг за уровнем коллективного противокклюшного иммунитета у привитых АКДС-вакциной в «индикаторных» группах детей в возрасте 3–4 лет, не переболевших коклюшем, с документированным вакцинальным анамнезом и сроком от последней прививки не более 3 мес. Защищенными от коклюша считаются лица, в сыворотках крови которых определяются агглютинины в титре 1:160 и выше, а критерием эпидемиологического благополучия –

выявление не более 10% лиц в обследуемой группе детей с уровнем антител менее 1:160.

Вопросы для самоконтроля:

1. Каковы эпидемиологические особенности развития коклюша?
2. Каковы биологические свойства, основные факторы патогенности возбудителя коклюша?
3. Каковы клинические периоды развития коклюша, формы течения и осложнения?
4. Какие методы диагностики возможно использовать при коклюше?
5. Как проводится специфическая профилактика коклюша?

ЛИТЕРАТУРА

1. Медуницын Н.В. Вакцинология. М.: Триада-Х; 2004.
2. Петрова М.С., Сигаева Л.А., Антонова Н.А. Коклюш (клиника, диагностика, лечение): Методические рекомендации. М.; 1993.
3. Сиземов А.Н., Комелева Е.В. Коклюш: клиника, диагностика, лечение. Лечащий врач. 2005; 7: 82–87.
4. Чуприна Р.П., Алексеева Н.А., Озеретковский Н.А. Профилактика коклюша: разработка и применение бесклеточной коклюшной вакцины. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2006; 1: 99–105.
5. Шинкарев А.С., Мерцалова Н.У., Мазурова И.К., Борисова

О.Ю., Захарова Н.С., Озеретковская М.Н. и др. Современные штаммы *B. pertussis*: иммунобиологические свойства и совершенствование вакцин. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2007; 4: 20–5.

REFERENCES:

1. Medunitsin N.V. Vaccinology. Moscow: Triada-X; 2004. (in Russian)
2. Petrova M.S., Sigaeva L.A., Antonova N.A. Pertussis (Symptoms, Diagnostics, Therapy): Methodology recommendations. Moscow: 1993. (in Russian)
3. Sizemov A.N., Komeleva E.V. Pertussis: symptoms, diagnostics, therapy. Lechashchiy vrach. 2005; 7: 82–87. (in Russian)
4. Chuprina R.P., Alekseeva N.A., Ozeretkovskiy N.A. Pertussis prevention: development and introduction of acellular pertussis vaccine. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2006; 1: 99–105. (in Russian)
5. Shinkarev A.S., Mertsalova N.U., Mazurova I.K., Borisova O. Yu., Zakharova N.S., Ozeretkovskaya M.N. et al. The modern strain *B. pertussis*: immunobiological properties and vaccine elaboration. Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii. 2007; 4: 20–5. (in Russian)

Поступила 11.05.14

Received 11.05.14

Сведения об авторах:

Харсеева Галина Георгиевна, доктор мед. наук, проф., зав. каф. микробиологии и вирусологии № 2.