

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Харківський національний медичний університет

Рикетсії

*Методичні вказівки
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»*

Затверджено
вченою радою ХНМУ.
Протокол № 12 від 20.10.2016.

**Харків
ХНМУ
2017**

Рикетсії : метод. вказ. з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія з мікробіологічною діагностикою» для студентів-бакалаврів II–IV курсу за спеціальністю «Лабораторна діагностика» / упоряд. В. В. Мінухін, Т. М. Замазій, Н. І. Коваленко. – Харків : ХНМУ, 2017. – 80 с.

Упорядники В. В. Мінухін,
 Т. М. Замазій,
 Н. І. Коваленко.

Тема: Лабораторна діагностика рикетсіозів

Кількість годин: 4.

Обґрунтування теми. Рикетсіози об'єднують велику групу антропонозних і зоонозних (з природною вогнищевістю) інфекцій, збудниками яких є внутрішньоклітинні мікроорганізми – рикетсії і близькородинні до них мікроорганізми (бартонели, ерліхії, коксіїли).

Трансмісія збудника цих захворювань здійснюється комахами і членистоногими. Це гострогарячкові захворювання різного ступеня важкості з наявністю, як правило, висипу на шкірі й ураженням ендотелію судин. При Ку та волинській (п'ятиденній) гарячках висип на шкірі у більшості хворих відсутній.

Термін «*rickettsia*» вперше застосував у 1916 р. основоположник вчення про рикетсії і рикетсіози бразильський учений да Роша-Ліма (1879–1956). Першого представника роду рикетсій – збудника лихоманки Скелястих гір – виявив у крові хворих і описав спільно з Wilder у 1909 р. американський дослідник-патолог Ріккетс, загиблий у м. Мехіко від висипного тифу при його вивченні в 1910 році. Роша-Ліма, який працював з 1914 р. разом з великим чеським мікробіологом Prowazek, що також загинув від висипного тифу при вивченні хвороби в Сербії, запропонував на його честь і видову назву для виявлених ним у 1913 р. в організмі і фекаліях вошей мікроорганізмів, ідентифікованих як збудник висипного тифу, – *Rickettsia prowazekii*. Надалі хвороби, що обумовлені рикетсіями, стали називати рикетсіозами.

Рикетсійні інфекції є серйозною загрозою для здоров'я людей. Небезпека виникнення цих захворювань, можливість локальних спалахів зумовлена наявністю потенційних джерел інфекції (рецидивні форми – хвороба Брилла) і значним розповсюдженням переносників збудників рикетсіозів.

Захворювання на волинську (п'ятиденну) гарячку останні роки в Україні не реєструються, однак, епідемічний процес цієї інфекції характеризується активним формуванням імунного прошарку серед населення, у тому числі серед дітей та молоді, виявленням збудника в переноснику та ретроспективною діагностикою спорадичних захворювань.

Широке розповсюдження Ку-рикетсійної інфекції в країні, наявність ензоотичних територій, неповна і несвочасна діагностика гострих захворювань, неадекватне лікування хворих зумовлюють зростання затяжних та хронічних форм гарячки Ку з важкими ураженнями органів кровообігу, сечостатевої системи, печінки та ін.

Мета:

Загальна: оволодіти мікробіологічною діагностикою хвороб, спричинених рикетсіями.

Конкретна:

а) знати:

– правила безпеки при роботі з біологічним матеріалом (Державні санітарні правила – ДСП 9.9.5.03599).

б) вміти:

1. Підготувати робоче місце лаборанта.
2. Дотримуватися правил роботи і техніки безпеки з інфікованим матеріалом, культурами мікроорганізмів, апаратурою.
3. Відбирати та транспортувати матеріал для дослідження при підозрі на інфекцію, обумовлену рикетсіями.
4. Готувати матеріал, який надійшов від хворого з підозрою на рикетсіоз.
5. Досліджувати матеріал за допомогою методів, призначених для виявлення рикетсій.
6. Давати оцінку результатам дослідження та заповнювати відповідну лабораторну документацію.

Матеріальне та методичне забезпечення теми: музейні мікропрепарати, бланки направлень, бікс, лабораторний посуд, рикетсійний антиген, фізіологічний розчин, аглютинаційні пробірки, гумові груші, піпетки, еритроцитарний діагностикум, імунна сироватка, нормальна сироватка, суспензія нормальних еритроцитів, сироватка крові хворого, комплемент, гемолітична сироватка, еритроцити барана, мікроскоп, імерсійне масло, дезінфікуючий розчин, сірники, маркер, штативи, бак. петлі, спиртівка, предметні скельця, таблиці, атлас.

Зміст заняття

Більшість видів рикетсій (близько 40) непатогенні. Вони мешкають у членистоногих і не викликають патології у ссавців. Патогенних рикетсій значно менше. Останні не тільки мешкають у членистоногих, але можуть проникати в організм людини та інших ссавців, викликаючи у них своєрідну патологію. Патогенні для людини і тварин рикетсії відносять до родини Rickettsiaceae (роди: Rickettsia, Orientia) та Anaplasmataceae (роди Ehrlichia, Anaplasma, Neoreickettsia, Wolbachia). Рід Coxiella виключений з родини Rickettsiaceae і віднесений до класу гамма-протеобактерій.

До роду Rickettsia віднесені наступні види патогенних рикетсій:

- 1) Rickettsia prowazekii – збудник епідемічного висипного тифу та хвороби Брилла;
- 2) Rickettsia typhi – збудник ендемічного висипного тифу;
- 3) Rickettsia rickettsii – збудник плямистої лихоманки Скелястих гір і його різновид R. braziliensis, яка викликає злякисну форму плямистої лихоманки Скелястих гір;
- 4) Rickettsia conorii – збудник марсельської лихоманки;
- 5) Rickettsia australis – збудник австралійського кліщового рикетсіозу;
- 6) Rickettsia sibirica – збудник північноазіатського кліщового рикетсіозу;
- 7) Rickettsia acari – збудник везикулярного або віспоподібного рикетсіозу;
- 8) Rickettsia tsutsugamushi – збудник лихоманки цуцугамуши;
- 9) Rickettsia japonica – збудник японської плямистої лихоманки.

Рід Rickettsia поповнено новим видом збудника – R. felis, котрий проявляє вірулентність не тільки відносно кішок, але і людей, і є відпові-

дальним за виникнення у них хвороби «тифу котячих бліх». Не виключено, що саме цей вид рикетсій, близький за своїми антигенними і біологічним характеристикам до *R. prowazekii* *R. typhi*, був прабатьком висипно-тифозних рикетсій при розширенні своєї екологічної ніші за рахунок вошей людини. За своїми молекулярно-генетичними характеристиками *R. felis* відноситься до групи збудників висипного тифу, а не кліщових рикетсіозів.

У складі роду *Coxiella* є єдиний вид – *Coxiella burnetii*, що викликає у людей і тварин лихоманку Ку.

З роду *Rickettsia* виведена *Rochalimea quintana*, що викликає волінську або окопну лихоманку, разом зі збудником кошачих подряпин, що увійшли до родини *Bartonellaceae*.

Крім названих рикетсій з триби *Rickettsieae*, є ще кілька видів збудників з триби *Ehrlicheae*, які викликають хвороби у людини і у деяких видів домашніх тварин (велика, а також дрібна рогата худоба, собаки та ін.).

Морфологічні та тинкторіальні властивості. Рикетсії – мікроорганізми, які в еволюційно-біологічному аспекті займають проміжне положення між бактеріями і вірусами. Це стає очевидним при розгляді таких властивостей рикетсій, як морфологія, морфогенез, фізіологія, особливості їх розвитку і розмноження.

Найкраще зазначені властивості вивчені у рикетсій Провачека, Музера, цуцугамуши, коксіел Бернета.

Морфологічно рикетсії є нерухомими, за винятком деяких видів збудників кліщових рикетсіозів (*R. conorii*, *R. sibirica*), грамнегативними мікроорганізмами. Вони не утворюють спор, на відміну від бактерій погано фарбуються звичайними основними аніліновими барвниками, і тому для їх забарвлення використовують метод Романовського–Гімзи. Кокоподібні форми рикетсій набувають рожево-червоного кольору, а паличкоподібні фарбуються з блакитним відтінком.

Крім того, для забарвлення мікроорганізмів використовується метод Гіменеса і метод Макіавеллі, які широко застосовуються в зарубіжній практиці. У нашій країні частіше застосовується метод Макіавеллі в модифікації П. Ф. Здродовського, який у зв'язку з наявністю у складі рикетсій

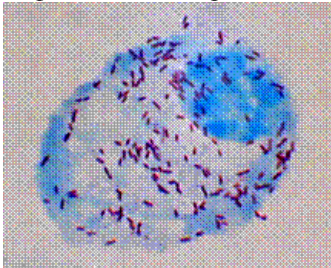


Рис. 1. Фарбування за П.Ф. Здродовським

великої кількості ліпоїдів рекомендує забарвлювати їх не фуксином Макіавеллі, а звичайним розведеним карболовим фуксином (основний фуксин – 1 г, фенол – 5 г, спирт – 10 мл, дистильована вода – 100 мл). При такому методі рикетсії фарбуються в яскраво-рожевий або рубіново-червоний колір, протоплазма клітин – у блакитний, а ядра – в синій (рис. 1). Їх добре видно при звичайній світловій мікроскопії при збільшенні в 1 000 разів.

Суспензії рикетсій з культур, а також з легень експериментально заражених тварин можна фарбувати за Морозовим (сріблення). У цьому випадку рикетсії під мікроскопом виглядають темно-коричневими або вугільно-чорними на світло-коричневому фоні.

Рикетсії – поліморфні мікроорганізми, які утворюють кокоподібні – до 0,1 мкм у діаметрі, короткі паличкоподібні – до 1–1,5 мкм завдовжки, довгі паличкоподібні, або бацилярні, – до 3–4 мкм завдовжки і ниткоподібні, або міцелярні, форми – до 10 і навіть 40 мкм завдовжки. Плеоморфізм рикетсій залежить від фази інфекційного процесу і його інтенсивності (рис. 2, 3). Наприклад, кокоподібні форми типові для всіх видів інтенсивного рикетсіозу, бацилярні – для початкового періоду розвитку інфекції і зараження малоактивною культурою. Ниткоподібні рикетсії зустрічаються в ранньому періоді помірною рикетсіозу, короткі паличкоподібні форми утворюються у випадках інтенсивного розмноження рикетсій у тканинах експериментальних тварин або в курячих ембріонах. Установлено, що ниткоподібні форми відповідають найбільш ранній фазі розвитку рикетсій, тоді як кокоподібні й короткі паличкоподібні форми представляють кінцеву стадію їх розподілу. Усі описані вище форми рикетсій є нормальними формами їх розвитку і мають однакову вірулентність.

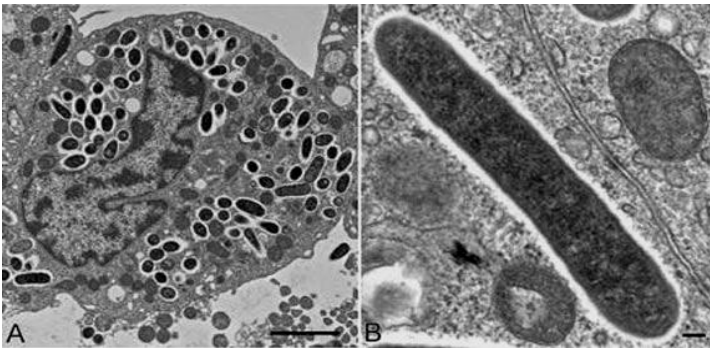


Рис. 2. Форма рикетсій

Установлено, що рикетсії мають схожу з грамнегативними бактеріями будову клітини: зовні розташований мікрокапсулярний шар, завтовшки близько 10–15 нм, що має антигенні властивості, під ним тришарова мембрана клітинної стінки, розміром 8–12 нм, з гладкими контурами; цитоплазма утворюється рибосоноподібними гранулами, між якими виявляються нитки ДНК.

При вивченні поверхневих структур рикетсій групи висипного тифу та цуцугамуши за допомогою електронної мікроскопії встановлено наявність у них, як і у бактерій, фімбрій, які беруть участь у процесі кон'югації. Електронною мікроскопією встановлено структурну подібність рикетсій Провачека, Музера, Рикетса і коксіел Бернета.

В епітелії кишечника вошей виявляють тканинні або вегетативні форми рикетсій Провачека, а в фекаліях вошей – дримаючі форми і ці ж форми – при електронно-мікроскопічному дослідженні *R. canada*, *R. sibirica*, причому в останніх виявлені джгутикоподібні утворення, за рахунок яких здійснюється рухливість (рис. 4). Вегетативні форми рикетсій розмножуються, а дримаючі – забезпечують рикетсіям їх збереження у зовнішньому середовищі, завдяки підвищеній стійкості до термічного впливу (наприклад, у дримаючих форм коксіел Бернета), і проникнення в чутливу клітину. Остання обставина має дуже важливе епідеміологічне значення, принаймні у коксіел Бернета. Дримаючі форми рикетсій Провачека і Бернета менш поліморфні, вони зазвичай сферичні або овальні й дрібніше вегетативних форм.

За хімічним складом рикетсії також є проміжними мікроорганізмами між бактеріями і вірусами. Високий вміст у рикетсій ліпідів (46,6 %) і низький – вуглеводів (4,1 %) зближує їх з вірусами, а за високим вмістом нуклеїнових кислот (до 12 %) з бактеріоподібними мікроорганізмами, оскільки в їх складі є ДНК і РНК. Подібні за хімічним складом і клітинні стінки рикетсій і бактерій. Зокрема, у складі рикетсій Музера, рикетсій Провачека, коксіел Бернета і *R. sibirica* виявляється діамінопімелінова кислота.

У складі оболонки коксіел Бернета і рикетсій Музера виявлена також і мурамова кислота, яка є типовою складовою частиною клітинної мембрани бактерій, хоча в інших видів рикетсій вона поки не встановлена. У той же час в оболонці рикетсій міститься глюкуронова кислота, яка в оболонках бактерій зазвичай відсутня. У рикетсій Провачека, рикетсій Музера і коксіел Бернета встановлено наявність АТФ, АДФ і АМФ. Про складність хімічної структури рикетсіозної клітини свідчить наявність у ній вітамінів, зокрема нікотинамід, фолієвої кислоти і біотину, наявних також, хоча і в меншій кількості, у вірусів. Але рикетсії містять, крім того, рибофлавін, вітамін В₆, тіамін, пантотенову кислоту і вітамін В₁₂, які у вірусів не виявлені.

Про значно складнішу будову рикетсій свідчить те, що у них виявлені ензимні системи, наприклад трансамінази, а також глутаматоксидазна система (глутаматдегідрогеназа, система окислення кетоглутарової кислоти, яка не інгібується малонатом, і цитохромна система перенесення електронів на О₂), за допомогою яких здійснюється і регулюється властивий живій

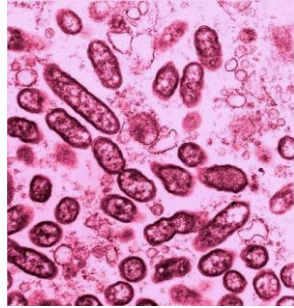


Рис. 3. Мікрофотографія рикетсії



Рис. 4. Поздовжній зріз вегетативної (зліва) і дримаючої (праворуч) форм рикетсій Провачека (схема)

клітині автономний метаболізм цих мікроорганізмів. Є пряма залежність вірулентних і патогенних властивостей рикетсій від їх ензимної активності: із втратою її втрачається патогенність і, навпаки, відновлення ензимів веде до відновлення життєдіяльності і патогенності рикетсій. За типом дихання рикетсії відносяться до аеробів.

Про близькість рикетсій до бактерій з точки зору метаболізму говорить і те, що встановлено наявність фага до деяких рикетсій, внутрішньоклітинне паразитування якого можливо лише в тому випадку, якщо клітини, що уражаються, мають власні ензимні системи і містять такі вітаміни групи В, як тіамін, рибофлавін, пантотенова кислота, піридоксин, нікотинамід, біотин, фолієва кислота. Іншими словами, клітини, що уражаються, повинні мати автономний обмін.

З урахуванням особливостей метаболізму рикетсій Moulder висловлює припущення, що рикетсії є бактеріями, які пристосувались до внутрішньоклітинного існування, зберегли власні ферментні системи, але втратили здатність протистояти несприятливим змінам навколишнього середовища. Потрапляючи в незвичайні для них умови позаклітинного існування, вони не можуть пристосуватися до настільки різких змін, їх ферментні системи перестають функціонувати, і рикетсії гинуть.

Важливою особливістю життєдіяльності рикетсій в організмі є здатність їх формувати виражений токсикоз в організмі хворих за рахунок інтенсивності ураження його судинно-ендотеліальних клітин. Раніше інтоксикацію у хворих пов'язували зі специфічною дією ендотоксину. Дійсно, введення неінактивованих рикетсій внутрішньовенно або внутрішньочеревно викликає загибель білих мишей протягом 2–24 год. Рикетсії мають і гемолітичні властивості, але тільки щодо еритроцитів кролика і барана. Гемоліз еритроцитів людини вони не викликають.

Антигенні властивості. У всіх рикетсій і у коксіел Бернета виділений розчинний антиген («антигенна субстанція»), який має виражені серологічні, алергенні й протективні властивості, схожі з властивостями інтактних рикетсій.

За допомогою серологічних реакцій, особливо реакції зв'язування комплекменту, встановлені антигенні властивості рикетсій, вірніше їх поверхневих протеїнів. Але антигенна структура не є єдиною. Так, у рикетсій Провачека поверхнево розташований видоспецифічний розчинний ефіром антиген ліпідної природи, а під ним – видоспецифічний нерозчинний ефіром білково-полісахаридний антигенний комплекс. Максимальною антигенністю у рикетсій володіє оболонка і дуже незначно – цитоплазма. Завдяки антигенним властивостям рикетсій забезпечується імунологічна перебудова в організмі хворих у процесі хвороби і після неї, що і виявляється за допомогою реакції аглютинації, реакції нейтралізації токсичної дії рикетсій і феномена зв'язування комплекменту.

Культивування. Відносно особливостей росту і розмноження рикетсій, то в цьому відношенні рикетсії стоять ближче до вірусів, ніж до

бактерій; всі вони є облигатними внутрішньоклітинними і навіть внутрішньоядерними паразитами. Остання обставина характерна для *Rickettsia rickettsii*, *R. conorii*, *R. sibirica*, *R. australis*, *R. akarii*.

Рикетсії паразитують, подібно малярійному плазмодію, як на хребетних, так і безхребетних тваринах, але для виживання їх нема потреби міняти господарів.

Розвиток і розмноження рикетсій здійснюється переважно в клітинах ендотелію судин і серозних оболонок. При цьому, на відміну від вірусів, у яких внутрішньоклітинне паразитування реалізується на генетично-молекулярному рівні, у рикетсій зберігається специфічна структурна організація та клітинна цілісність особин збудника. Розмножуються вони шляхом бінарного поділу і розпаданням ниткоподібних форм на кокоподібні та формуванням колоній в цитоплазмі клітини господаря серед її органоїдів або ж усередині ядра (віруси ж репродукуються з нуклеїнових вірусних кислот і при обов'язковій участі певних білкових компонентів клітини ураженого організму).

Процес розмноження рикетсій відбувається повільніше, ніж бактерій: через 8–12 год їх кількість подвоюється. Розмноження починається з адсорбції особин збудника на поверхні клітини господаря і подальшим фагоцитуюванням їх цими ж клітинами, розвитком із дримаючих або «спорових» форм вегетативних особин і формуванням з них рикетсіозних колоній. У рикетсій Провачека, рикетсій Музера і частково у коксіел Бернета ці колонії повністю заповнюють цитоплазму уражених клітин і носять назву «музерівські клітини». Поряд із судженням про фагоцитоз рикетсій клітинами господаря є дані про те, що *in vitro* *O. tsutsugamushi* не пасивно захоплюються в процесі фагоцитозу, а активно проникають у клітини ссавців, що можливо лише в умовах високого рівня процесів окисного фосфорилування.

У штучних умовах рикетсії, подібно до вірусів, не можуть вирощуватися на звичайних авіталізованих середовищах. Однак, вони розвиваються лише в клітинах зі зниженими процесами метаболізму, а віруси - зазвичай в умовах підвищеної метаболічної активності клітин. Наприклад, культивування рикетсій у курячих ембріонах здійснюється при температурі 35–36 °С і нижче і пригнічується при підвищенні її більш 40 °С. Найбільш ефективно культивування рикетсій здійснюється в жовткових мішках курячих ембріонів.

Менш вдалим в цьому відношенні, особливо для отримання великих кількостей рикетсій, виявилися культури тканин, на яких успішно вирощуються віруси. На теперішній час використовуються одношарові культури, отримані з трипсинізованих клітин різних нормальних і пухлинних тканин, ендодерми курячого ембріону, мишачих та курячих фібробластів, субкультури клітин нирок, зубної залози, селезінки і лімфатичних вузлів кролика, клітини шкірно-м'язової і легеневої тканини ембріона людини, мезотелій черевної порожнини та ін.

Стійкість до факторів зовнішнього середовища. Рикетсії малостійкі до нагрівання, за винятком коксіел Бернета. При температурі 50–56 °С вони гинуть через 10–30 хв., а при 80 °С – через 1 хв., кип'ятіння вбиває їх миттєво. Вони інактивуються під дією різних дезінфікуючих речовин: 0,5 % розчин формаліну вбиває їх за 30 хв, 0,5 % розчин фенолу – протягом декількох годин. Тривале перебування (до 3–6 год) рикетсій у фізіологічному розчині і дистильованій воді веде до втрати ними життєздатності. Вони швидко гинуть під дією розчинників жиру (спирт, ефір, хлороформ). Але у висушеному стані й при низьких температурах зберігаються тривалий час. Температурний режим при мінус 25 та 77 °С використовується для збереження життєздатності та консервації рикетсій. Коксієли Бернета високостійкі до різних факторів зовнішнього середовища. Наприклад, у рідкому середовищі вони витримують нагрівання до 80–90 °С протягом 30 хв, виявляють значну стійкість до дезінфікуючих засобів та ін.

Усі патогенні рикетсії чутливі до антибіотиків, особливо групи тетрацикліну, завдяки дії останніх на різні ланки метаболізму. Тетрацикліни, зокрема, більш за інші антибіотики (хлорамфенікол, еритроміцин) пригнічують окислення глутамату, що у свою чергу веде до пригнічення дихальної функції рикетсій.

Фактори патогенності. Факторами патогенності у рикетсій служать фімбрії і пілі, ЛПС клітинної стінки, деякі поверхневі білки, фосфоліпаза А2.

Класифікація рикетсіозів. За комплексом екологічних та антигенних властивостей і особливостей клінічного перебігу захворювання у людини умовно розділені на 4 групи. Назва хвороби відображає або географічне місце першого виявлення її в окрему нозологічну форму, або характерну для неї епідеміологічну особливість, наприклад, кліщовий рикетсіоз Північної Азії, плямиста лихоманка Скелястих гір, окопна (траншейна, або волинська) лихоманка та ін. (табл. 1).

Рикетсіози зустрічаються в усіх країнах світу. Два з них – епідемічний висипний тиф і волинська лихоманка – епідемічні антропонози, джерелом інфекції є хвора людина або ж носій, а переносником інфекції – платтяна або головна воша, у якій рикетсії незмінно викликають смертельну інфекцію. Інші рикетсіози – ендемічні зоонози з природною осередковістю, коли резервуаром збудника є деякі види дрібних ссавців, а переносниками – кровосисні членистоногі: кліщі, блохи і шестиногі личинки кліщів. Рикетсії добре адаптовані до організму кліщів, і паразитування в них протікає безсимптомно з тривалим носінням, завдяки трансваріальній передачі інфекції. Зоонозними рикетсіозами людина захворює лише при випадковому перебуванні в ендемічному вогнищі відповідних хвороб.

До теперішнього часу відомо кілька десятків патогенних і непатогенних для теплокровних рикетсій і близько споріднених мікроорганізмів; клініко-епідеміологічні спостереження останніх двох десятиліть дозволяють виділити вже 20 безумовно патогенних для людини різного ступеня вірулентності і, відповідно, окремих нозологічних форм хвороб. Останні

в клінічних посібниках хоча і об'єднуються як і раніше загальною назвою «Рикетсіози», по суті повинні бути чітко поділені при клінічному описі на рикетсіоз, коксієльоз, ерліхіоз, бартонельоз.

Таблиця 1

Розповсюдженість рикетсіозів

Представники	Хвороби людей	Резервуар	Переносник
Група висипного тифу			
Rickettsia prowazekii	Епідемічний висипний тиф (вошивий)	Людина	Платтяна воша
Rickettsia typhi	Ендемічний (блошиний) висипний тиф	Щури, миші	Блохи
Rickettsia felis	Каліфорнійський щурячий тиф	Опосуми	Блохи
Група плямистих лихоманок (кліщові рикетсіози)			
Rickettsia rickettsii	Плямиста лихоманка Скелястих гір	Гризуни	Кліщі
Rickettsia conorii	Марсельська (у тому числі астраханська) лихоманка	Кліщі, гризуни, собаки	Кліщі
Rickettsia australis	Квінслендська кліщова лихоманка	Кліщі, гризуни	Кліщі
Rickettsia akari	Осповидний рикетсіоз	Гризуни	Кліщі
Rickettsia sibirica	Північноазіатський кліщовий рикетсіоз	Ховрахи, хом'яки, миши, кліщі	Кліщі
Rickettsia japonica	Японська (східна) лихоманка	Кліщі	Кліщі
Rickettsia honei	Лихоманка острова Фліндерс	Гризуни, кліщі	Кліщі
Група Orientia			
Orientia tsutsugamushi	Лихоманка цуцугамуши	Мишоподібні гризуни	Червонотілкові кліщі
Група Ehrlichia (збудник тропічної панцитопенії собак)			
Ehrlichia chaffeensis	Моноцитарний ерліхіоз	Олені, собаки, гризуни	Кліщі
Ehrlichia canis	Моноцитарний ерліхіоз	Собаки, кліщі	Кліщі
Ehrlichia ewingii	Гранулоцитарний (нейтрофільний) ерліхіоз	Собаки, кліщі	Кліщі
Ehrlichia muris	Моноцитарний ерліхіоз	Полівка, кліщі	Кліщі
Ehrlichia ruminantium	Моноцитарний ерліхіоз	Велика рогата худоба, кози, антилопи, кліщі	Кліщі

Епідеміологічна характеристика рикетсіозів.

За характером передачі збудників всі рикетсіози є трансмісивними хворобами. Лише збудник лихоманки Ку, хоча іноді і резервується кліщами, але незалежний від свого членистоногого господаря через високу стійкість у навколишньому середовищі, може передаватися контактним, аліментарним і повітряно-пиловим шляхом. Епідемічний висипний тиф,

плямиста лихоманка Скелястих гір і лихоманка цуцугамуши є важкими хворобами і за перебігом, і за наслідками: відсоток летальності до початку застосування антибіотикотерапії був високим.

Накопичені знання про природу, екологічні, імунобіологічні і молекулярно-генетичні особливості збудників хвороб порядку Rickettsiales дозволяють характеризувати їх як дрібні мікроорганізми, що паразитують переважно в клітинах тканин членистоногих, теплокровних тварин і людини. Багато видів рикетсій постійно мешкають у тканинах і органах членистоногих, головним чином кліщів, на всіх стадіях їх життєвого циклу без скорочення тривалості життя, порушення фаз розвитку і репродуктивної функції.

Харчуючись кров'ю теплокровних тварин і часто нападаючи на людину, кліщі відіграють роль переносників і резервуара рикетсій у природі. Рикетсії виділяються в значних кількостях з фекаліями вошей і кліщів у навколишнє середовище, в тому числі і на шерсть тварин. Це має важливе епідеміологічне значення в подальшій трансмісії збудників рикетсіозів.

Рикетсії, збудники так званих кліщових рикетсіозів, здатні існувати в природному середовищі невизначено довго, поза будь-якого зв'язку з людиною, обумовлюючи природну осередкованість цих інфекцій.

Збудник вошивого висипного тифу – *Rickettsia prowazekii* – розмножується і може персистувати тільки в організмі людини; зараження останнього відбувається шляхом втирання інфікованих екскрементів платтяних вошей у шкіру при розчісуванні або при вдиханні їх після висихання. Через укуси вошей зараження неможливо, оскільки в їхній слині і ротовому апараті збудник інфекції не міститься. У тілі платтяних і головних вошей висипнотифозні рикетсії заселяють епітеліальні клітини кишечника, де інтенсивно розмножуються і формують необоротний патологічний процес. Відбувається набухання і відшарування інфікованих клітин аж до порушення анатомічної цілісності травного тракту, що незмінно призводить до загибелі комах.

Проміжне становище по зв'язку з переносником і результатом такого зв'язку займає збудник шурячого (ендемичного) рикетсіозу. Підтримка та збереження в природі цього збудника пов'язана переважно з блохами виду *Xenopsylla cheopis*, що харчуються кров'ю шурів. Механізм зараження людини збудником шурячого рикетсіозу принципово не відрізняється від такого при епідемічному висипному тифі і окопній (волинської, або траншейній) лихоманці, і тому йому притаманний фекально-інгаляційно-контактний шлях передачі інфекції.

Зараження людей збудниками кліщових рикетсіозів, навпаки, частіше обумовлюється нападом і присмокуванням різних видів кліщів. Але немає сумніву, що значна кількість заражень реалізується шляхом вдихання інфікованого рикетсіями, а також *Coxiella burnetii*, пилу, які потрапили в навколишнє середовище з фекаліями, що виділяються кліщами в процесі кровосмоктання і містять величезну кількість життєздатних збудників.

Процес, який виникає після інфікування, в результаті заселення рикетсіями організму теплокровних тварин, супроводжується генералізованим ураженням ендотелію судин, що зумовлює подальше різноманіття клінічних проявів хвороби. У кінцевих судинах сосочкового шару шкіри розвиваються різного ступеня ендovasкуліт і тромбангіїт (висип!), а нерідко і гангрена кінцевих фаланг, мочок вуха та інших частин тіла. Цей процес проявляється у людини поступовим, у міру внутрішньоклітинного розмноження рикетсій і руйнування інфікованих клітин, розвитком інфекційно-токсичного синдрому. З'являються і наростають гарячкова реакція, симптоми токсикозу, порушується функція серцево-судинної системи, на слизових оболонках і на шкірі формується висип різного ступеня і тривалості, різко порушується суб'єктивний стан хворого. При злоякісних рикетсіозах, таких як вошивий (епідемічний) висипний тиф і плямиста лихоманка Скелястих гір, а також лихоманка цуцугамуши, і відсутності лікування (антибіотикотерапії) у 5–20 % хворих розвивається летальний результат.

Осподібний (везикульозний) і щурячий рикетсіози, частково марсельська лихоманка у минулому столітті мали строго обмежену поширеність на територіях, сприятливих для співіснування біоценозу збудник – переносник – годувальник. Завдяки інтенсивним дератизаційно-дезінсекційним заходам у 50-і роки минулого століття ендемічні вогнища цих інфекцій були швидко ліквідовані. В останні 40 років захворювання даними рикетсіозами як усередині колишніх вогнищ, так і за їх межами на територіях України, Криму і Грузії відсутні. Аналогічне становище склалося і з окопною (волинською або траншейною) лихоманкою. Після значних спалахів у російській армії в період Першої світової війни в зоні бойових дій на території Західної України даний рикетсіоз не реєструється. Однак у результаті серологічних досліджень імунологічної структури населення України та за її межами встановлено наявність специфічних антитіл до *V. quintana* у всіх вікових групах людей у 1,7–6,3 % випадків. Ці факти слід розцінювати як безперечне свідчення прихованої циркуляції збудника інфекції в біоценозному ланцюгові воша–людина. Очевидно, що при зростанні чисельності переносника і його інфікованої частки може виникнути загроза повернення спалахів окопної лихоманки.

Цікаво також відзначити, що за останніми повідомленнями зарубіжних авторів, *Rickettsia* (з 1993 р. – *Bartonella*) *quintana* не є настільки нешкідливим збудником, як це уявлялося до 90-х років. Нерідко спостерігається тенденція до хронізації інфекційного процесу з персистенцією збудника в ендотеліальних тканинах. У подальшому уражаються клапани серця, розвиваються серцево-судинна недостатність та інші ускладнення.

Установлена етіологічна причетність бартонел і до так званої хвороби котячих подряпин (*cat scratch diseases*) – доброякісного захворювання, що супроводжується лихоманкою, регіонарним лімфаденітом, запаленням і набряком у місцях подряпин, а в деяких випадках – ангіоматозом з висо-

кою ймовірістю ускладнень у вигляді ендокардиту. В Україні та в інших країнах офіційно хвороба котячих подряпин не реєструється, тому поширеність її не відома. Її справжню роль в етіології різних хворобливих станів людини ще належить з'ясувати. У зв'язку з особливостями екології збудника інфекції і, можливо, його незначною присутністю в Росії, а також своєрідністю механізму передачі (тільки через кішок і котячих бліх, що паразитують на них) епідеміологічна значимість хвороби котячих подряпин, безсумнівно, підлягає вивченню.

За всі роки вивчення лихоманка цуцугамуши в країнах СНД були виявлені лише два обмежених ендемічних вогнища циркуляції збудника: на крайньому півдні Приморського краю і в Таджикистані. Відповідно, за зведеними даними, враховано всього 69 випадків захворювань людей у 1949–1968 рр. Офіційної реєстрації лихоманки цуцугамуши в Україні не було.

Особливий інтерес з еколого-епідеміологічних позицій представляє історія виявлення та вивчення в СНД марсельської лихоманки. Виявлені в 30–50-і роки осередки лихоманки в Криму і Абхазії в результаті інтенсивних протикліщових і ветеринарних заходів були швидко ліквідовані. Однак у 70–80-і роки у зв'язку з гарячковими захворюваннями неясної етіології, що виникали переважно влітку і які супроводжувалися висипом, нерідко формуванням первинного афекту («чорна пляма») в місці присмокування кліща, інтерес до патології проявляється знову. У раніше відомих ендемічних вогнищах на території СНГ, а також в європейських країнах з високим рівнем захворюваності марсельською лихоманкою (Італія, Іспанія, Франція та ін.) основним переносником *R. conorii* зазвичай є коричневий південний собачий кліщ *Rhipicephalus sanguineus*. Для нього характерний такий тип харчування, який залучає в цикл циркуляції рикетсій крім їжаків, зайців і гризунів також і домашніх собак. Люди заражаються при догляді за собаками (під час присмокування кліща або аерогенним шляхом). Аерогенний шлях зараження обумовлений тим, що при видаленні з собак кліщів, їх розчавлюють, і в результаті з гемолімфи кліщів утворюється аерозоль. Ця хвороба є природно-осередковою.

Як і при інших рикетсіозах кліщової групи, своєчасно організовані адекватні заходи по боротьбі з кліщами і санітарна пропаганда серед населення є ефективними засобами профілактики, що дозволяють повністю попередити захворювання людей.

У 70–80-і роки було відзначено зростання захворюваності на рикетсіоз кліщової групи в багатьох країнах світу. Очевидно, що таку тенденцію в глобальному масштабі не можна пояснити дією будь-яких місцевих факторів або кліматичних змін у тому чи іншому регіоні земної кулі. Швидше за все підвищення захворюваності на хвороби з чітко вираженим природно-вогнищевим характером підтримки і поширення збудника обумовлено посиленням «тиском» людини на природу та внаслідок цього багаторазовою збільшеною вірогідністю зустрічі людини з кліщами-пере-

нощиками кліщових хвороб. Таке пояснення підтверджується подібним зростанням інших інфекційних захворювань, пов'язаних з аналогічним переносником у цей же період, таких як кліщовий енцефаліт і кліщовий бореліоз (хвороба Лайма).

Відносно спірним питанням залишається прогностична оцінка епідеміологічної значимості хвороби Брилла. Прогноз розвитку останньої нескладний. У міру зростання терміну після періодів епідемічної активності в результаті природних демографічних процесів ймовірність появи рецидивної форми тифу прогресивно знижується. Так, якщо в Росії в 50–70-і роки ХХ ст. щорічно реєструвалося кілька тисяч випадків хвороби Брилла, то в 80-і роки – кілька сотень, а в 90-і роки – всього 40–50. За оцінками фахівців, рецидив після первинного висипного тифу реалізується в середньому один раз на 20 років і щорічно складає один випадок хвороби Брилла на 1 000 раніше перехворілих. При наявності вошей, відсутності санітарно-гігієнічних навичок і погіршенні соціально-побутових умов життя хворі з рецидивною формою можуть бути джерелами невеликої захворюваності на епідемічний висипний тиф.

В останні 25 років висипний тиф у Росії, за даними офіційної реєстрації, більш ніж на 90 % представлений саме хворобою Брилла. Епідемічна форма також враховується виключно у вигляді поодиноких захворювань у старших вікових групах населення різних регіонів країни. Відсутність захворювання у дітей і підлітків, що складають найбільш завошивлену частину населення, і відсутність серопозитивних до збудника осіб у даній і більш старших (до 30–40 років) вікових групах, безсумнівно, є епідеміологічним доказом обмеження і припинення циркуляції *R. prowazekii* в популяції. Отже, населення Росії, України і країн Південно-Східної Європи, охоплене в роки Першої та Другої світових воєн епідеміями висипного тифу, перехворівши, поступово «очищається» від персистуючого в організмі специфічного збудника. Відповідно знижується небезпека виникнення епідемічної форми висипного тифу за рахунок нерозпізнаних своєчасно випадків хвороби Брилла.

З огляду на екологічні особливості збудника даного рикетсіозу з позицій «прихильності» тільки до людини і можливість поширення виключно через вошей, а також необхідність високого рівня (не менше 20–28 %) вошивості населення для формування епідемічного процесу, слід констатувати, що згадані умови виникнення спалахів епідемічного висипного тифу в Україні в даний час відсутні. Незначність педикульозу (не більше 1 %), висока розрідженість можливих джерел інфекції у вигляді висипнотифозних хворих обома формами і розтягнутість розвитку епідемічного процесу, властива первинному тифу, від перших випадків захворювань до розростання в групі спалахи і подальшу епідемію на період до 2,5–3 міс, недостатні для поширення хвороби. Очевидно, явної загрози поширення висипного тифу в країні і в найближчому зарубіжжі не існує.

З досвіду роботи з висипним тифом у роки Другої світової війни в Мексиці, Італії, Німеччині, а також у період війни в Кореї (1950–1953) відомо, що енергійне застосування протипедикульозних засобів, навіть без санітарно-гігієнічного миття людей (населення або насильно утримуваних осіб) і зміни білизни та одягу, обривало протягом 2 тиж найжорстокіші епідемії. Вкрай рідкісні випадки захворювань обома формами висипного тифу в країні при вошивості, що не перевищує звичайний рівень у здорового населення, і при наявності цілком доступних і високоефективних педикульцидів дають повну впевненість у тому, що будь-який спалах рикетсіозу Провачека буде негайно ліквідований. Складність представляє тільки встановлення істинного діагнозу перших випадків хвороби. Поява в роки Другої світової війни, а потім і після її закінчення нових ефективних інсектицидів, а також антибіотиків широкого спектра дії, у першу чергу тетрацикліну, якісно змінила епідеміологію висипнотифозних лихоманок.

До теперішнього часу вошивий висипний тиф як нозологічна форма хвороби ліквідований майже у всіх країнах світу. Залишилися лише осередки на територіях Ефіопії, Руанди, Бурунді і в окремих країнах Латинської Америки. Кліматичні особливості цих країн, пов'язані з гірським характером місцевості, низький рівень життя населення і громадянські війни посилюють епідеміологічну ситуацію з рикетсіозу. До кінця 70-х років XX століття епідемії там припинилися, але справжня кількість хворих залишається невідомою, оскільки з початку 70-х років вошивий висипний тиф виключений з числа інфекцій, що підлягають обов'язковій реєстрації у ВООЗ через повсюдне зникнення.

Найбільш поширеним у Росії, але обмеженим тільки регіонами Сибіру і Далекого Сходу, є кліщовий рикетсіоз Північної Азії. Його обов'язкова реєстрація введена в 1979 році, і за наступні 16 років було враховано 19 328 випадків цієї хвороби з майже шестиразовим зростанням захворюваності. У 1993–1994 рр. на Алтайський край припадало 34 % щорічної захворюваності, на Республіку Алтай і Хакасія – 15 %, Красноярський край – 11 %, а решта 40 % захворюваності – на 10 інших адміністративних територій Сибіру і Далекого Сходу, ендемічних з рикетсіозу. Ендемічно активні осередки кліщового рикетсіозу виявлені в останні роки в Тюменській і Курганській областях. Епідеміологічно значущими переносниками є численні види інфікованих кліщів роду *Dermacentor*, що постійно мешкають на великих степових, лісостепових і гірських просторах Сибіру і Далекого Сходу. Зараження населення відбувається переважно навесні і влітку в природних вогнищах кліщів, що збігається з періодом активності імаго після зимової сплячки. Збільшення в 2,7 рази захворюваності кліщовим рикетсіозом в останні 10 років (з 821 до 2 361 випадків) пояснюється підвищенням контактів населення, особливо міського, з переносниками у зв'язку з господарським освоєнням територій, де існують природні осередки збудника і зберігається висока чисельність кліщів.

У результаті трансформації природних вогнищ рикетсіозів під впливом людини, наприклад, при вирубці лісу і чагарнику, розорювання луків, припинення випасу тварин, поступово зменшується чисельність кліщів, відповідно і знижується захворюваність. Процес цей триває кілька років. Саме з цієї причини на ендемічних територіях відзначені природні осередки зі «стабільною» з року в рік захворюваністю в зоні гірських степів та лісостепу південних гірських областей Сибіру (Алтайський край і Гірський Алтай). Повільне зниження захворюваності внаслідок ландшафтної трансформації територій відзначено і в інших регіонах.

Близьким за своїми еколого-епідеміологічними особливостями до *R. sibirica*, збудника кліщового рикетсіозу, є збудник лихоманки Ку – *Coxiella burnetii*. Він зберігається і циркулює на території Росії в численних природних вогнищах. Захворювання людей відзначені більш ніж на 50 адміністративних територіях. Офіційно вона реєструється з 1957 р. З цього часу захворюваність лихоманкою Ку зростає майже в 17 разів, з 0 до одного випадку на 100 тис. населення, в основному завдяки підвищенню знань про цю інфекцію та поліпшенню її діагностики. Однак, як і раніше розпізнавання коксіельозу значно ускладнюється через поліморфність клінічного перебігу хвороби. Через віддалені наслідки коксіельоз також небезпечний, як і бартонельоз, оскільки приблизно у 10 % нелікованих своєчасно хворих розвивається ендокардит.

Екологічна особливість лихоманки Ку полягає у виникненні, крім природних вогнищ, численних ареалів збудника, пов'язаних з господарською діяльністю людини. В останні роки такі осередки, головним чином «козяче-овечого» типу, зареєстровані не тільки в європейській, а й в азіатській частині Росії: 32,4 % хворих в Астраханській області, 24,1 % – у Новосибірській і 12,5 % – у Воронежській. Зараження виникають, в основному, в періоди отелення і окоту сільськогосподарських тварин – у лютому-травні, що обумовлює підвищення захворюваності населення сільськогосподарських районів. Відомо багато випадків групових захворювань (до 100 осіб), пов'язаних з переробкою продуктів тваринництва, зокрема козячого пуху, або ж з прогоном через населені пункти овець з високою інфікованістю переносниками коксіел.

Для лихоманки Ку найбільш поширеним шляхом передачі інфекції є аерогенний. У літературі згадуються зараження аліментарним шляхом через інфіковане молоко і м'ясопродукти, а також через укуси кліщів. Враховуючи епідеміологію та екологічні особливості збудника коксіельозу, важливого значення в його профілактиці набувають санітарно-ветеринарний контроль, зокрема вибракування хворих тварин із заражених отар і тваринницьких господарств, а також посилення ролі санітарно-епідеміологічного нагляду та епізоотологічного контролю за інфекцією.

Основи патогенезу рикетсіозів. Відомо, що кровоносна і лімфатична система людини і, зокрема, її ендотелій відіграють провідну роль у здійс-

ненні нормальної фізіологічної діяльності та імунологічних реакціях захисного плану. Підтверджена важлива роль ендотеліальних клітин у регуляції гемостазу за допомогою контролю за тонусом судин, їх проникності і збереженні рівноваги між факторами тромбоутворення. Але саме клітини ендотелію судинного русла є тими клітинами-мішенями, у які проникають рикетсії, а також коксієли, і розвивається інфекційний процес на клітинному рівні, як стартова фаза подальшого хворобливого стану чутливого макроорганізму. Усі рикетсіози, у тому числі і їх хронічні форми при коксієльозі і бартонельозі, супроводжуються вираженими ушкодженнями артеріол, венул, капілярів. Навіть при такій відносно доброякісній хворобі, якою вважається марсельська лихоманка, збудник був виявлений методом імунофлуоресценції в ендотелії судин мозку, м'якій мозковій оболонці, клубочкових артеріолах і капілярах нирок, ниркових артеріях і венах, артеріях і капілярах міокарда, альвеолярних капілярах легенів, підшлункової залози, артеріолах селезінки і шкіри. Рикетсії також виявляли в клітинах печінки, макрофагах селезінки і лімфатичних вузлах, а також у кровоносних судинах зони пальців, які були ампутовані як ускладнення рикетсіозу, але зберегли свою життєздатність. Специфічні ураження мали фокусний характер з явищами некрозу ендотелію дрібних судин і формуванням гранульом, аналогічних вузликам Попова при епідемічному висипному тифі.

Експерименти на біологічних моделях (різних клітинних культурах, у тому числі і ендотеліальних клітинах людини, платяних вошах людини і білих мишах) дозволили встановити, що вже через 3–15 хв після зараження рикетсії прикріплюються до чутливих клітин і починають процес «заселення» останніх (рис. 5). Рикетсії Провачека «атакують» ендотелій кишечника вошей настільки енергійно, що через 15 хв після їх ректального введення переносником частки збудника зникають з просвіту кишечника. На прикладі різних рикетсій висипнотифозної групи і групи плямистих лихоманок простежено, що інтенсивне внутрішньоклітинне розмноження збудника призводить до переповнення клітини-мішені рикетсіями, вона стає набряклою, збільшується в розмірах і потім відривається в просвіт кровоносної судини, або стінка її руйнується *in situ*.

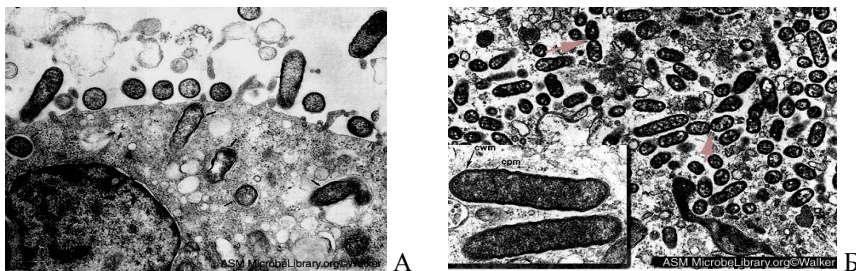


Рис. 5. А. Прикріплення і проникнення рикетсій у клітини ендотелію;
 Б. Розмноження рикетсій у цитоплазмі клітини-мішені шляхом бінарного поділу (стрілки)

Деструкція окремих клітин-мішеней неминує супроводжується залученням у процес нових ділянок ендотелію судинного русла і прилеглої лімфатичного простору внаслідок паралельного інфікування інтактних клітин через міжклітинні щілини. Процес ніби «повзе» по судині і поступово в його суцільному ендотеліальному покриві формуються вогнища деструктивно-проліферативних змін із запальною інфільтрацією прилеглої периваскулярної тканини. Розвивається універсальний панваскуліт із бородавчастими розростаннями ендотелію і деструктивно-тромботичними ураженнями, найбільш яскравими при епідемічному висипному тифі, важких випадках плямистих кліщових рикетсіозів, а також хронічному коксієльозі. Деструктивно-проліферативні процеси в судинному руслі супроводжуються масовою дезадаптацією ендотеліоцитів, що закінчується їх загибеллю, а також частковою загибеллю макрофагів крові, що фагоцитували збудника і продукти розпаду клітин. Частина макрофагів при цьому виживає і набуває здатності протистояти збудникові завдяки внутрішнім цитокінам. Внутрішньоклітинні рикетсії здатні в кілька разів підсилити продукцію факторів, що беруть участь у захисних реакціях, зокрема фактора активації тромбоцитів і фактора некрозу пухлин, а також простагландину E₂, і вони розглядаються як суттєвий ефектор експресії даних кінінів з клітин ендотелію і вільних макрофагів. У результаті порушення цитоархітекτονіки, а також макрофагів крові і функції ендотеліоцитів у просвіт судинного русла або навколишній простір вивільнюються різні біогенні аміни, пірогени, тромбомодулін, активатор плазміногену, простагландин E₂, простагландин, ангіотензинконвертуючий ензим та інші компоненти системи згортання крові, а також потужні внутрішньоклітинні ензимні системи, у тому числі і A₂. Остання є у рикетсій і забезпечує через рецептори на поверхні збудника проникнення в чутливу клітину-мішень, а потім і вихід нового покоління збудника з ураженої клітини. Відбувається ініціація поширення інфекційного процесу по клітинах з розпадом і аутолізом залишків відторгнутих клітин-мішеней, що втратили життєздатність. Зростаючий потік продуктів розпаду клітин у загальне судинне русло зрештою долає детоксикаційну здатність печінки і посилює розлади функції виділення нирок, також порушених інфекцією. Загальний напрямок морфологічних змін при різних рикетсіозах дещо відрізняється за своїм вираженням, але має одну і ту ж основу, що визначає неспецифічність маніфестних проявів при рикетсіозах, особливо в їх початковому періоді. Вони не носять і не можуть нести будь-якої специфічності; відображають їх симптоми у вигляді лихоманки, ознобу, головного болю, пригніченого стану та ін., є суб'єктивними і пов'язані з впливом на регулюючі центри та вказують тільки на порушення загального самопочуття хворих.

Продукти розпаду маси ендотеліоцитів, і частково розпаду і секретії вільних макрофагів, починають циркулювати в крові без порушення цілісності епітеліальних покривів шкіри людини або його кишкового тракту.

Поступово відбувається несподіване порівняно з нормою зростання концентрації біологічних активних речовин, які чинять фармакологічну дію, що виходить за межі компенсаторних можливостей організму. Заселення збудником незачеплених раніше ділянок, чутливих у відсутності імунного протистояння на початковій стадії інфекції тканин, нарешті, стає помітним для інфікованого організму. Дезорганізація нормального згортання крові і токсична дія продуктів розпаду посилюють процес і починають відбиватися на самопочутті заражених людей, що збігається з останніми днями інкубації і першими днями продрому: гостро порушується терморегуляція, з'являється почуття загальної слабкості, пригніченого стану, втоми; знижується і втрачається працездатність, розвиваються інші симптоми і ознаки хвороби. Виникає хворобливий стан, клінічно визначається як початок хвороби.

При природних шляхах зараження людини рикетсіями групи висипного тифу через розчухи шкіри або коксієл Бернета аерогенним шляхом досить декількох (не більше 10) клітин життєздатного збудника, щоб викликати захворювання. Зараження кліщовими рикетсіозами і лихоманкою цуцугамуші реалізується більш складним механізмом при укусі кліща або коли личинки присмоктуються до шкіри людини шляхом багаторазового вприскування інфікованої слини кліща в сосочковий і дермальний шари шкіри. В обох випадках внесена кількість збудника здатна потрапити лише в одну або кілька чутливих клітин. Подальше клінічно приховане поширення збудника відбувається з прогресуючим захопленням ендотеліальної тканини, формуванням фокусів осередкового ураження з набряком і десквамацією ендотеліоцитів і появою в кровотоці вільних клітин ендотелію, що містять збудник. Саме на стадії розселення рикетсій у зараженому макроорганізмі починає проявлятися дія «токсикозу» за рахунок продуктів розпаду інфікованих клітин і тканин.

Що ж стосується «токсичного» впливу компонентів морфологічних структур самого збудника (оболонкових глікопротеїдів, ліпополісахаридів, мурамової кислоти та ін.), то їх питомий вплив у прояві симптому інтоксикації у хворих невеликий, навряд чи це коректно відносити його на їх рахунок. Високоактивні речовини з дезінтегрованого ендотелію починають подразнювати терморегулюючий центр і в умовах, коли знижується детоксикаційна функція печінки і фільтруюча здатність нирок, викликають «розігрів» організму хворого з подальшим розвитком симптомів токсикозу і розвиток відповідної симптоматики. У міру поширення інфекції по ендотелію і подальшої десквамації патологічно змінених клітин у просвіт судин або у зв'язку з їх аномальним розростанням (бородавчастий ендovasкуліт при висипному тифі, вегетативні розростання на стулках клапанів при хронічному коксієльозі чи клубочкових артерій нирок при кліщових рикетсіозах) у судинних стінках формуються стоншення і дефекти. Змінені ділянки стають локусами крайового стояння лейкоцитів та їх міграції,

а також діapedезу еритроцитів і випотівання формених елементів, білків і солей крові в навколосудинний простір, а також місцями адгезії тромбоцитів і формування тромбів. Розвивається місцевий гострий, або хронічний, запальний процес з осадженням фібрину, інфільтрацією лейкоцитами та участю імунних комплексів. Останні є укрупнені молекули внаслідок з'єднання антигенів збудника або його фрагментів і молекул специфічного імунного глобуліну, синтезованого плазматичними клітинами хворого, починаючи з перших днів інфекційного процесу. При хронічній формі коксієльозного процесу відбуваються внутрішньосудинні зміни, при яких на перший план виступають симптоми функціонального порушення того органа або тканини, у якому морфологічно процес найбільш виражений: серцева недостатність при ендокардиті або печінкова — при гепатиті.

Десквамація – деструкція ендотеліоцитів і зміна судинної проникності капілярних ділянок судинного русла формують також один з таких елементів клінічної картини при рикетсіозах як ефлоресценції. Їх внутрішньошкірно-підшкірно розташування чітко відображається у вигляді висипів різного ступеня: роzeол, макул, папул, петехій. На слизових оболонках вони відомі як симптоми Кіарі–Авцина при висипному тифі. Зазвичай ефлоресценції з'являються на 1–6-у добу від початку хвороби. Швидкість їх появи, характер, динаміка поширення, площа ураження тіла і результат не однакові в залежності від етіологічної належності рикетсіозу. Найбільш вони виражені при епідемічному висипному тифі і хворобі Брилла і рикетсіозах кліщової групи, тоді як при коксієльозі висип зустрічається всього лише у 7,2–10,2 % хворих з гострою формою. При бартофельозі висип зустрічається рідше, оскільки протікає як хронічний процес і в результаті розвивається бациллярний ангіоматоз.

Безсумнівним учасником імунопатологічного процесу в судинній системі людини, і, відповідно, в її стінках і периваскулярних просторах є імунні комплекси. Простежено, що процес інфікування інтактних клітин ендотелію опосередковується від клітини до клітини, так і з судинного русла з потоком крові, що містить збудника. Саме на поверхні таких клітин відбувається зустріч і взаємодія антигенних сайтів і специфічних до них антитіл. Одночасно перекручується механізм каскадного згортання крові за участю тромбомодуліну та інших факторів тромбоутворення. Формуються складні конгломерати з ниток фібрину, імунних комплексів і формених елементів крові, які збільшують тромби і нерідко призводять до повної облітерації судин з наступною місцевою ішемією і некрозом. З'єднання рівних кількостей антигену і антитіл (продромальна стадія рикетсіозу), навпаки, формує сітчасті структури у вигляді укрупнених агрегатів, але таких розмірів, які піддаються фагоцитозу і видаленню вільними спеціалізованими клітинами, зокрема циркулюючими нейтрофілами. Якщо має місце перевищення антитіл, що настає з 1–2-го дня хвороби, оскільки включається імунний захист, то кожна частинка антигену взаємодіє з надлишком антитіл.

У цьому випадку імунний комплекс поглинається клітинами-фагоцитами, що мають рецептори до молекул антитіл, і швидко елімінується.

Наведене уявлення про роль імунних комплексів у генезі патологічних змін при рикетсіозах відповідно до загальних уявлень про інфекційні і тромбокоагуляційні процеси пояснює стадію одужання організму при рикетсіозах як фазу, у якій надлишок специфічних антитіл у крові та лімфі хворого повністю нейтралізує антигени збудника. Тим самим забезпечується видалення імунних комплексів з місць їх формування, що призводить до закінчення захворювання. Виявлення рикетсіозних частинок за допомогою реакції імуофлуоресценції у біоптатах з шкірних висипань хворих аж до 5–15 дня хвороби прямо підтверджує справедливість викладеної точки зору на участь імунних комплексів у формуванні висипу в рикетсіозних хворих.

У клінічній літературі, що стосується рикетсіозної групи кліщових плямистих лихоманок, докладно показана картина формування так званого первинного афекту на місці вхідних воріт збудника. Місце його локалізації на тілі людини строго відповідає місцю присмоктання кліща, причетного до даної нозологічної форми. Візуально первинний афект виглядає як інфільтративне утворення коричневого або темно-коричневого кольору з центральним некротичним вогнищем і подальшим утворенням струпа. Зазвичай первинний афект, іноді висип, запальні явища навколишньої ділянки шкіри, а також регіонарний лімфангоїт і лімфаденіт при марсельській лихоманці, кліщовому висипному тифі Північної Азії, лихоманці цуцугамуші і хворобі котячих подряпин формується досить рано, до кінця інкубаційного періоду хвороби. У момент звернення до лікаря вони помітні візуально в 25–40 % випадків і служать однією з діагностичних ознак хвороби.

При імуофлуоресцентному фарбуванні специфічними антитілами, кон'югованими з флуорохромом, і подальшій мікроскопії біоптатів з первинного афекту чітко видно корпускули і антигенвмісні фрагменти рикетсій. Очевидно, що в місцях такого ураження також відбувається взаємодія антигенів і антитіл, обмежена позасудинною тканиною, оскільки вхідні ворота інфекції в даному випадку служать не тільки місцем введення збудника в кровообіг, а й призводять до часткового приживлення останнього в навколишній тканині. За інтервал часу, що співпадає з тривалістю інкубаційного періоду або дещо коротший, встигає сформуватися захисна реакція не тільки запального характеру (інфільтрація гістіоцитами, Т-лімфоцитами та іншими клітинними елементами), але й імунологічного плану з формуванням імунних комплексів. Згодом, якщо не відбувається приєднання вторинної бактеріальної флори, первинний афект заживає з відпаданням струпа і повною епітеліалізацією шкіри.

Порушення цілісності цитоархітекτονіки і структури ендотеліальної системи супроводжується вираженою дезорганізацією нормальної участі ендотеліоцитів у регуляції системи коагуляції крові. Механізм цього процесу досить складний, включає кілька послідовних ще недостатньо вивче-

них ланок. Принаймні близько 10 або більше факторів, що беруть участь у цьому процесі, синтезуються в ендотелії. Порушення балансу факторів коагуляції в їх рівноважному стані в поєднанні з ушкодженнями цілісності судинних стінок і комплексів супутніх місцевих патологічних процесів (застійні явища, стаз і адгезія клітин крові, осадження фібрину та ін.) призводять до тромбоутворення. Клініка ураження відповідно визначається величиною просвіту порушеної коагуляцією ділянки судин і місцем його розташування в загальній судинній мережі організму.

Подальше зупинення циркуляції крові тягне за собою гіпоксію тканин, порушення обмінних процесів і в підсумку закінчується некрозом ділянки органа або тканини, як це раніше було при епідемічному висипному тифі. Патологія наростає до того моменту, коли імунна система і локальні механізми захисту за участю цитокінів не нейтралізують і не зупиняють процес на клітинному рівні.

Отже, безсумнівне залучення в патологічний і патофізіологічний процеси клітин ендотеліальної системи людини є тією морфологічною основою, на якій формується клінічна картина рикетсіозів. При цьому основною причиною інфекційно-токсичного синдрому, властивого рикетсіозам і коксієльозу, який не має патогномічних ознак для окремих нозоформ, є масове пошкодження і дезорганізація ендотеліоцитів.

Клінічні прояви. Клінічні прояви інфекційно-токсичного синдрому у хворих на рикетсіози не відображають видової належності рикетсій, не мають патогномічних симптомів і ознак (рис. 6). Суб'єктивно захворювання супроводжується розвитком лихоманки з появою ознобу, нездуванням, болю в м'язах і суглобах. Об'єктивно розвивається гіпертермія, гіпотонія, висип (внаслідок порушення проникності стінок кровоносних судів і порушення гомеостазу), розвиваються десквамативно-проліферативні запальні процеси, геморагічні прояви не тільки в шкірі, але й у внутрішніх органах, насамперед головному мозку, серці, нирках, печінці, легенях, що призводить до недостатнього кровопостачання і порушенню функції цих органів.

При тяжких формах рикетсіозів розвиваються ускладнення з появою дисемінованого внутрішньосудинного згортання (висипний тиф, марсельська лихоманка та ін.). Внаслідок наростаючої функціональної недостатності життєво важливих органів (серце, нирки, головний мозок) і активації мікрофлори настає загибель хворих. При хронічних формах коксієльозу патологія посилюється утворенням імунних комплексів, обумовлюючи алергічні і посилюючи запальні процеси.

При кліщових рикетсіозіх на ділянках шкіри, що відповідають місцю присмоктування інфікованого кліща, у перші 3–5 днів формується «первинний афект» у вигляді папул з наступним некрозом у центрі, фокусний васкуліт і інфільтративно-запальна реакція з клітинною інфільтрацією.

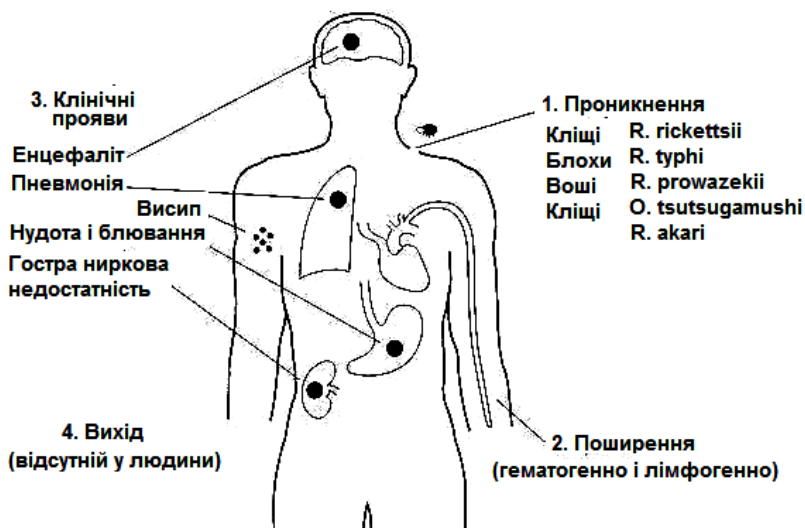


Рис. 6. Загальні клінічні симптоми при рикетсіозах

У клінічному відношенні всі рикетсіози людини мають гостру форму, протікають циклічно. При лихоманці Ку можливий і хронічний перебіг процесу.

Імунітет. Під час хвороби і після неї при рикетсіозах створюється зазвичай стійкий імунітет. За даними П. Ф. Здродовського, імунітет дво-профільний – антиінфекційний і антитоксичний. Виявлення в останні роки фактів тривалого збереження збудників рикетсіозів в організмі людини і тварин, як у випадках природної передачі, так і при експериментальній інфекції, дозволяє багатьом дослідникам говорити про так званий нестерильний, інфекційний імунітет, в той час як інші відкидають таку можливість. Повторну захворюваність при деяких рикетсіозах, зокрема хворобі Брилла, одні автори розглядають як нове зараження (екзогенна інфекція) за умови згасання імунітету, а інші - як наслідок активізації збережених в організмі збудників після первинної інфекції, але знову-таки за умови згасання імунітету і зниження загальної реактивності макроорганізму (ендогенна інфекція).

Лабораторна діагностика рикетсіозів. Клінічна діагностика рикетсіозів, бартонельозів, ерліхіозів, коксієльозу в початковій стадії без знання епідеміологічних обставин хвороби утруднена. Це обумовлено найчастіше відсутністю патогномонічних ознак хвороби, спорадичністю багатьох рикетсіозів або їх несподіваною появою в нехарактерних для них регіонах, а також безперечним існуванням атипичних, клінічно стертих випадків. Дані обставини призводять до ретроспективної діагностики багатьох нозоформ рикетсіозів, особливо лихоманки Ку і, як наслідок, до запізнювання специфічного лікування. Як і всі методи, що використовую-

ються в такому випадку, діагностика включає методи виявлення (виділення) збудника та методи визначення специфічних антитіл.

Виявлення збудника і отримання його культури для підтвердження етіології хвороби з великим успіхом проводиться до лікування антибіотиками. З цією метою використовують лабораторних тварин (морських свинок, білих і бавовняних пацюків, хом'ячків), курячі ембріони і клітинні культури. Тваринам і курячим ембріонам вводять дефібриновану кров або розтерті згустки крові, біопсійний матеріал із специфічних уражень шкіри, а також інших тканин хворого залежно від підозри на ту чи іншу форму хвороби.

При зараженні клітинних культур застосовують плазму або гепаринізовану кров і різний біопсійний матеріал. У недалекому минулому виділення збудника висипного тифу та окопної (волинської) гарячки здійснювали методом ксенодіагностики, тобто шляхом годування платтяних вошей на хворому або ж їх інфікування кров'ю хворих через штучну мембрану. З цією метою використовували також лінію вошей, адаптовану до харчування на кроликах.

Для швидкого підтвердження специфічності хвороби неодноразово використовували імуногістологічне вивчення біоптатів зі шкірних висипань, первинного афекту при кліщових плямистих лихоманках, лімфатичних вузлів при хворобі котячих подряпин або секційного матеріалу з віддалених клапанів серця при коксієльозному ендокардиті, аспіраційного матеріалу кісткового мозку або печінки за підозри на лихоманку Ку або бартонельоз.

Імуноцитохімічному аналізу в таких випадках можна піддавати не тільки «свіжий» біоптат, але і матеріал, фіксований формаліном і залитий у парафін. Потім збудника виявляють методом імунофлуоресцентного або пероксидазного фарбування специфічними сироватками. Успішно використовується методика виявлення специфічними моноклональними антитілами рикетсій на ендотеліальних клітинах, які вільно циркулюють у кров'яному руслі хворого. У ряді ситуацій, коли неясні епідеміологічна і екологічна характеристики гарячкового захворювання і має місце спалах хвороби, доцільно виділяти збудник не тільки від хворого, але і з передбачуваних переносників (кліщі, воші, тварини), імовірно забрудненого мікроорганізмом найближчого оточення хворого або з можливого джерела-резервуара збудника (гризунів, домашніх тварин).

Усі перераховані вище методи виділення і подальшої ідентифікації збудника доступні лише спеціалізованим лабораторіям і в більшості випадків не можуть бути використані з діагностичною метою в повсякденній клінічній практиці через відсутність безпечних умов, підготовленого персоналу і навичок роботи зі збудниками II–III груп патогенності.

У зв'язку з вищезазначеними основними методами первинної ідентифікації збудника і диференційної діагностики захворювання як і раніше важливими залишаються сероімунологічні методи. Історично серологічна діагностика рикетсіозів веде свій початок з моменту виявлення Weil

і Felix феномену аглютинації мікроорганізмів з роду *Proteus* з сироватками хворих на висипний тиф. Реакція аглютинації з *Proteus* OX19 незмінно підтверджувала епідемічний висипний тиф, але була мінливою, зазвичай негативною, з сироватками хворих його рецидивною формою (хворобою Брилла), що залежало частково від інтервалу між первинним захворюванням і рецидивом. Даний вид протеза забезпечує позитивні результати в певному відсотку випадків і при дослідженні сироваток хворих на кліщові плямисті лихоманки (КПЛ). Деякі представники роду *Proteus* були використані для діагностики інших рикетсіозів, наприклад, лихоманка цуцугамуші успішно підтверджується діагностикумами з *Proteus* OXk.

По мірі розвитку способів культивування різних видів розглянутого класу мікроорганізмів у лабораторну практику надходили нові діагностичні методи на основі специфічних антигенів різного ступеня дисперсності із зазначених мікроорганізмів. Зокрема, широкого поширення набула реакція аглютинації (РА) для підтвердження висипнотифозної інфекції. Реакція включає два компоненти: суспензія (корпускули) рикетсій і сироватка хворого. Постановка реакції займає мало часу, може виконуватися в модифікаціях і ставитися в пробірках, на планшетах або на предметних скельцях у вигляді краплі. Випуск корпускулярних антигенів для діагностики епідемічного та ендемічного (шурячого) тифу в РА, а також виявлення лихоманки Ку і окопної лихоманки був освоєний виробничими лабораторіями. У зв'язку з низьким накопиченням інших видів збудників цей вид діагностикумів не використовувався для виявлення КПЛ, лихоманки цуцугамуші й ерліхіозів.

Після 1944 р. з моменту відкриття серологічної активності антигенної фракції рикетсій Провачека, діагностика рикетсіозів стала більш доступною. Основним методом виявлення специфічних антигенів у хворих, у тому числі на лихоманку цуцугамуші, Ку і окопну лихоманку стала реакція зв'язування комплекменту (РЗК) в різних модифікаціях. У всіх сучасних антигенних препаратах для РЗК, крім призначених для діагностики коксіел і бартонел Квінтана, що містять суспензію корпускул збудника, закладені розчинні фракції відповідних мікроорганізмів. Слід зауважити, що висока специфічність і чіткість результатів при використанні в РЗК розчинних антигенів, не забезпечує диференціацію хвороб всередині групи висипного тифу та групи КПЛ. З метою диференціації за допомогою РЗК необхідне застосування корпускулярних антигенів, але вони менш доступні для практичного застосування в штатних лабораторіях, внаслідок складності приготування і високої комерційної вартості.

Дещо пізніше РЗК була розроблена і введена в практику реакція непрямой гемаглютинації (РНГА). У реакції бере участь комплекс ЛПС і білкових антигенів. У нашій країні ця реакція знайшла широке застосування в діагностиці висипного тифу як в макро-, так і мікрроваріанті, постановці в пробірках і на планшетах. Реакція проста у виконанні і високо-специфічна.

У 70-і роки для серологічної діагностики рикетсіозів був запропонований метод на основі флуоресцюючих антитіл (МФА). У даний час він є найбільш поширеним і стандартним методом підтвердження рикетсіозів і близькоспоріднених до них інфекцій. Визначення специфічних антитіл у непрямому МФА (РНІФ) проводиться із застосуванням корпускулярних антигенів та введенням у реакцію мічених флуорохромом імуноглобулінів або їх Fab-фрагментів у антивидових сироватках відносно випробуваних. Для тестування збудника використовують марковані флуоресцеїн-5-ізотіоціанатом (Фітц) специфічні антитіла – у прямому МФА (РІФ). Результати визначення реєструють шляхом дослідження препаратів у люмінесцентному мікроскопі. Метод досить специфічний, вимагає невеликих затрат часу, економічний. Однак деякий суб'єктивізм у реєстрації результатів вимагає від працюючих певного досвіду при обліку результатів постановки цієї реакції.

Крім методу РНІФ, у даний час набув поширення метод імуноферментного аналізу (ІФА), відомий також як метод ензимічних антитіл (ELISA). Він використовується в різних варіантах для ідентифікації збудника, його антигенів та визначення специфічних антитіл. Результати можна реєструвати інструментально (спектрофотометр) або візуально. Перевагою ІФА у визначенні антитіл є можливість використання як антигена як розчинних, так і корпускулярних фракцій збудників. Застосування останніх двох реакцій відкрило можливість не тільки визначати специфічні антитіла, а й аналізувати склад імуноглобулінових фракцій, що створює їм великі переваги порівняно з іншими методами.

Слід зазначити, що незважаючи на багаторічну історію діагностики рикетсіозів і близьких до них хвороб на основі специфічних антитіл постійне вдосконалення існуючих і введення нових методів їх виявлення, позитивні результати визначення антитіл у більшості хворих можливо отримати лише на другому тижні хвороби. Це визначається особливостями антитільної відповіді на збудник в організмі хворих. У перші 5–7 днів після появи ознак хвороби специфічні антитіла в низьких титрах (1:10–1:40 в РЗК, 1:20–1:80 в РНІФ, 1:500–1:1000 в ІФА) визначаються лише у 20–40 % хворих. У подальшому, під час відсутності лікування антибіотиками, титри антитіл зростають, досягаючи максимуму на 15–30-му дні з моменту появи клінічних симптомів. При етіотропній терапії антибіотиками широкого спектра дії кількість антитіл або не зростає, або пік їх вмісту в крові запізнюється в часі і може бути виявлений лише після припинення антибіотикотерапії. Зазвичай рівень антитіл на стадії пізньої реконвалесценції поступово знижується; до першого року спостереження від початку хвороби деякими серологічними тестами вони не виявляються.

Динаміка кількісних характеристик різних антитіл неоднозначна, а її отримання залежить від складу введеного в діагностикум антигену. Виняток становить лихоманка Ку внаслідок особливостей патогенезу

і різноманітності клінічного прояву цієї інфекції. Саме тому клінічна діагностика лихоманки Ку (коксіельоза) представляє значні труднощі. Інфекційний процес при коксіельозі лежить у межах від безсимптомного перебігу, чітко окресленої гострої хвороби з високою температурою до уповільнених хронічних форм з ураженням печінки, багатомісячним астеничним синдромом і різними ускладненнями, включаючи коксіельозний ендокардит з несприятливим прогнозом. Лабораторна діагностика, особливо серологічна, при цій інфекції відіграє вирішальну роль. Відомо, що збудник лихоманки Ку – коксієла Бернета має більш складну антигенну структуру, пов'язану з фазовим станом збудника. Тому для діагностики коксіельозу необхідно застосовувати антигени, отримані зі збудника, що знаходиться в I, II і перехідній фазах, незалежно від використовуваного серологічного методу дослідження сироватки (РЗК, РНІФ, ІФА). Тільки в цьому випадку можливе виявлення специфічних антитіл, що характеризують гостру або хронічну форму коксіельозу, оцінка ефективності лікування і прогноз результату хвороби. Первинна діагностика коксіельозу заснована на застосуванні антигену коксієл у фазі II. До цього комплексу антигенних структур збудника формуються специфічні антитіла на початку розвитку хвороби, і вони ж виявляються в усі періоди його перебігу. Діагноз ставиться на підставі чотириразового приросту або зниження титру антитіл у парних сироватках, взятих з інтервалом у 10–12 днів. При одноразовому визначенні специфічних антитіл діагностичними титрами $\epsilon > 1:64$ при визначенні в РЗК, $> 1:200$ – у РНІФ, $> 1:1000$ – в ІФА. Наведені значення титрів належать до визначення сумарних імуноглобулінів до антигену фази II коксієл. Практично ці ж значення титрів виявляються і при визначенні IgG, оскільки цей клас імуноглобулінів становить 60–75 % від їх загальної кількості.

IgM до антигену у фазі II також можна визначити в період гострої інфекції. Титри цих імуноглобулінів будуть низькими, порядку $> 1:50$, при визначенні в РНІФ. Після одужання специфічні антитіла IgG до антигену коксієл II фази зберігаються протягом багатьох років. Що ж стосується антитіл, які визначаються антигенами коксієл фази I, то вони доступні для виявлення лише з 3–4-го тижня хвороби; їх рівень і тривалість циркуляції в крові хворих залежать від перебігу коксіельозу. У період одужання титри їх значно знижуються і через 2–3 міс вони зникають. У разі переходу інфекції в хронічну форму антитіла до антигену фази I зберігаються на високому рівні і тривало персистують в організмі хворого. Виявлення IgG до антигену I фази коксієл у титрі 1:800 у РНІФ розглядається як прямий доказ хронічної лихоманки Ку. При постановці менш чутливої реакції (РЗК) з антигеном I фази діагностичним титром для хронічної форми лихоманки Ку вважається титр $> 1:128$. Важливу діагностичну інформацію при коксіельозі несуть специфічні антитіла класу IgA. Цей клас імуноглобулінів становить 10–15 % їх загальної кількості. Вони знаходяться головним чином в екстравакулярних рідинах: слині, сльозах, носовому слизу,

шлунковому соку. При активній гострій формі коксіельозу антитіла визначаються в титрах $> 1:50$ переважно з антигенами фази I–II або II. Високі титри ($> 1:400$) антитіл класу IgA до антигену фази I служать безсумнівним свідченням хронічної форми інфекції.

Слід зазначити, що в групі висипного тифу, КПЛ і ерліхіозі існують значні перехресні реакції, обумовлені спільністю антигенних структур збудників усередині груп. Це ускладнює серодіагностику конкретної нозоформи. Саме тому жодна з існуючих модифікацій серологічних реакцій (РЗК, РНІФ, РНГА, ІФА) не забезпечує чіткі диференційні відповіді. Розкид у титрах антитіл у різних хворих при застосуванні антигенів відповідних збудників настільки великий, що за їх рівнем неможливо достовірно розділити захворювання за нозоформами. Для цього необхідно залучати дані клініки й епідеміологічного обстеження. Разом з тим, антигенні збіги у видів рикетсій всередині груп, особливо КПЛ і ерліхіозі, створюють і певний позитивний момент, оскільки будь-який діагностикум з цієї групи може бути використаний для первинного визначення рикетсіозу в межах групи.

Слід зазначити, що сучасна діагностика та остаточна розшифровка етіологічної належності даної групи інфекцій, а також сероепідеміологічні дослідження в ендемічних вогнищах рикетсіозів були б неможливі без залучення техніки моноклональних антитіл (МКА) та інших сучасних методик, таких як імуноблотинг і полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР). Останнє стало можливим завдяки стрімкому розвитку молекулярно-біологічних методів дослідження в 80–90-і роки, що призвело до створення технології ампліфікації нуклеїнових кислот у вигляді ПЛР. Дана реакція, завдяки відносно простому приладовому оформленню, дозволяє здійснити точну і швидко (протягом декількох годин) ідентифікацію збудника в різних субстратах від хворого з дуже високою чутливістю (близько 30 рикетсій у пробі). Суть реакції полягає в кількісному збільшенні генетичного матеріалу, наявного в пробі, з подальшою його розшифрування за відомими компонентами (праймерами), що вводяться в реакцію. У даний час ПЛР широко використовують для класифікації мікроорганізмів на основі виявлення подібності і відмінностей у побудові геному, а також у клінічній практиці. Перевагою реакції є можливість досліджувати не тільки матеріал, що містить живий збудник, але і загиблі бактерії або ж фрагменти їх ДНК.

Загальні питання хіміопрофілактики і хіміотерапії рикетсіозів.

Багаторічний емпіричний досвід терапії хворих на рикетсіоз антибіотиками різних класів в останні роки поєднується з визначенням чутливості збудників до препаратів *in vitro*.

Найбільш ефективними і комерційно доступними засобами етіотропної терапії рикетсіозів є препарати групи тетрацикліну і фторхінолонів. У клінічній практиці доцільно використання напівсинтетичного похідного окситетрацикліну – доксицикліну.

Дослідженнями Winker H. і Daugherty R. (1989) на моделі висипно-тифозної інфекції в культурі клітин встановлено, що тетрациклін і хлорамфенікол зупиняють синтез протеїнів рикетсій і, відповідно, їх ріст шляхом пригнічення фосфоліпази A2 мікроорганізму. Відбувається блокування початкової фази інфекційного процесу на стадії прикріплення і проникнення рикетсій у чутливу клітину-мішень. Зниження фосфоліпазної активності спостерігається дуже швидко, вже через 4 год після внесення антибіотика в інфіковану культуру клітин. Для досягнення рівного ефекту пригнічення росту рикетсій була потрібна велика, приблизно в 2,5 рази більша концентрація хлорамфеніколу, порівняно з тетрацикліном. Крім того, продемонстровано, що доксицикліну, крім етіотропного впливу, властива і патогенетична дія, оскільки препарат також пригнічує синтез похідних азотної кислоти в заражених рикетсіями клітинах і тим самим викликає протизапальний ефект.

Широкодоступні пеніциліни, хлорамфенікол, ко-тримоксазол і деякі макроліди (еритроміцин, олететрин), хоча і виявили деяку ефективність при лікуванні окремих нозоформ, все ж поступаються тетрацикліну, не забезпечуючи очікуваного результату.

При підозрі на рикетсіозну етіологію гарячкового захворювання, особливо такого як ПЛГС, лихоманка цуцугамуші, марсельська лихоманка і коксієльоз, лікування антибіотиками широкого спектра дії (тетрациклін, доксициклін, міноциклін, рифампіцин) має бути негайним, особливо в осіб старшого віку і ослаблених хворих. При призначенні антибіотиків слід також врахувати те, що така терапія при своєчасному застосуванні в перші дні хвороби, по суті, є етіотропною і патогенетичною одночасно; це призводить до затримки специфічної антитільної відповіді у хворого і до продукції антитіл на невисокому рівні, іноді нижче діагностичних значень. Але в цьому випадку швидкий ефект терапії слід розцінювати як непрямий доказ рикетсіозної етіології хвороби.

Найбільш складну і важку проблему представляє терапія коксієльозу і хронічних форм бартонельозів. Лікування, зокрема, ендокартиту коксієльозної етіології та інших більш рідкісних ускладнень лихоманки Ку, а також хронічних форм бартонельозів залишається складним і вимагає наполегливої, часто багатомісячної, комбінованої терапії. Якщо хіміопрепарат не проникає всередину клітин, у яких паразитує збудник, і не акумулюється всередині фаголізосоми (а саме в них «ховаються» коксієли), то він стає неефективним і його застосування малорезультативно. Ймовірно, з цієї причини частина препаратів групи макролідів і аміноглікозидів (гентаміцин, еритроміцин), а також нові антибіотики групи фторхінолонів (норфлоксацин, пefлоксацин), що характеризуються відносно швидким (менше 8–10 год) періодом напіввиведення з організму людини, виявляються недостатньо ефективними для лікування коксієльозу.

Лікування ерліхіозу, незалежно від видової належності збудника, успішно здійснюється доксицикліном. Оцінка чутливості збудника моноцитарного ерліхіозу людини, *E. chaffeensis*, до різних антибіотиків підтвердила необґрунтованість емпіричного застосування хлорамфеніколу і, навпаки, перспективність призначення рифампіцину, особливо при лікуванні ерліхіозу у дітей і у жінок в період вагітності.

Бартонели високочутливі до бета-лактамів, аміноглікозидів, макролідів, тетрацикліну і рифампіцину. Підтверджено універсальний характер дії тетрацикліну, еритроміцину, рифампіцину, а також бета-лактамів щодо збудників усіх бартонельозів. З обмеженого досвіду лікування хронічних форм бартонельозів, зокрема, бацилярного ангіоматозу і рецидивуючих гарячкових станів, обумовлених *B. quintana*, *B. henselae*, видно, що лікування стає успішним при тривалому і наполегливому застосуванні протягом декількох місяців комбінованої терапії ципрофлоксацином і рифампіцином до повної елімінації збудника з організму хворих. Застосування гентаміцину в поєднанні з доксицикліном не менше ніж протягом 6 тиж має захистити від бартонельозного ендокардиту.

Само собою зрозуміло, що етіотропна терапія антибіотиками повинна бути підкріплена патогенетичними препаратами з урахуванням клінічного стану хворого.

Деякими французькими (Herreman, 1966; Giroud, Capponi, 1968), румунськими (Лієску К. та ін., 1962; Nicolau, Constantinescu, 1965; Стоячи І. та ін., 1965) і турецькими дослідниками (Payzin, Akan, 1966) висловлювалося припущення про можливість не тільки тривалого паразитування рикетсій в організмі перехворілих, а й про можливість розвитку у зв'язку з цим у них різного роду серцевої і судинної патології через багато років після перенесеного рикетсіозу. Це детермінується ангіотропізмом у паразитуванні рикетсій, який патогістологічно проявляється у вигляді судинного ендотеліозу, а в гострому періоді рикетсіозу – у вигляді специфічного рикетсіозного гранулематозу. Рикетсіям приписується відповідальність за можливість подальшого розвитку у перехворілих на основний процес міокардіокоронаритів, тромбангіїту і навіть інфаркту міокарда.

Зазначені вище французькі і румунські дослідники вважають, що така патологія може бути обумовлена рикетсіями Провачека, рикетсіями Музера, рикетсіями Конора і коксієлами Бернета. Такого роду судження обґрунтовуються тим, що у хворих з серцево-судинною патологією іноді виявляються антитіла в сироватці крові хворих до рикетсій і навіть, можливо, виділення самих рикетсій. Більше це стосується коксієл Бернета, які є, мабуть, єдиним видом рикетсій, здатним викликати важку патологію серця у хворих на лихоманку Ку, причому не тільки за типом інтерстиціального міокардиту, але навіть і рикетсіозного ендокардиту. Останній описаний у ряду хворих і, як правило, характеризується затяжним або навіть хронічним перебігом. Затяжний перебіг хвороби, не властивий іншим ри-

кетсіозам, при лихоманці Ку пояснюється розмноженням і розвитком рикетсій в гістіоцитах, а потім і в макрофагах органів (макрофагальний) ретикулоендотеліальної системи, у той час як при інших рикетсіозах збудники паразитують в основному в ендотелії судин. Захоплені лейкоцитами, макрофагами і гістіоцитами коксієли Бернета частково лізуються (в основному в лейкоцитах), але можуть також і розмножуватися в них. Йдеться, таким чином, про те, що фагоцитоз рикетсій при лихоманці Ку має, на відміну від інших рикетсіозів, незавершений характер. З цим, очевидно, і слід пов'язувати наявність субклінічних форм хвороби і латентних інфекцій при даному рикетсіозі.

Саме латентна інфекція в подальшому, за поданням зазначених вище авторів, і може вести до повільного прогресуючого процесу з розвитком картини коронариту, міокардіокоронариту й ішемії міокарда. Виявлення в сироватці крові комплемент-фіксуєчих антитіл до рикетсій може бути непрямим підтвердженням гіпотези про причетність рикетсій до патології серцево-судинної системи у перехворілих колись лихоманкою Ку або іншими рикетсіозами.

Профілактика. Неспецифічні заходи профілактики рикетсіозів включають знищення переносників (вошей, бліх, кліщів) найбільш ефективним способом (дезінсекція) або усунення умов для контакту з ними (періодичний огляд на педикульоз, на носійство кліщів, використання захисної одягу проти кліщів та ін.).

Специфічні заходи профілактики можливі шляхом проведення вакцинації. Розроблені живі та інактивовані вакцини проти висипного тифу, інактивована вакцина проти плямистої лихоманки Скелястих гір. Однак вакцинопрофілактика не є основним способом профілактики рикетсіозів, тому що захворюваність у відсутності переносника звичайно не має масового характеру, захворювання неконтагіозні, існують ефективні засоби боротьби з переносником. Рикетсіози добре лікуються антибіотиками, тому можлива хіміопрофілактика рикетсіозів. Частіше вакцини використовують для окремих груп населення («групи ризику»), до яких, наприклад, відносять співробітників бактеріологічних лабораторій.

ЕПІДЕМІЧНИЙ ВИСИПНИЙ ТИФ

Епідемічний висипний тиф (вошивий, голодний, тюремний, військовий та ін.) – гострий антропоноз із трансмісивним механізмом розповсюдження платтяними вошами. Без переносника не контагіозний. Клінічно характеризується лихоманкою, тяжким перебігом у зв'язку з ураженням кровоносних капілярів з порушенням кровопостачання життєво важливих органів (мозку, серця, нирок), появою розеолезного і петехіального висипу.

Збудником епідемічного висипного тифу є *R. prowazekii*. Через велику поширеність у країнах Європи хвороба отримала назву "європейський висипний тиф". Найбільша епідемія була зареєстрована в Росії в часи

Першої світової та громадянської воєн 1914–1922 років, коли перехворіло 25 млн людей, 3 млн з яких померли. Смертність у разі відсутності етіотропного лікування становила 10–60 %. Епідемічна ситуація з висипного тифу в різних країнах протягом останніх 20 років дуже неоднорідна. У зв'язку з високою міграцією населення можливі завезені випадки висипного тифу з країн, неблагополучних щодо цієї інфекції. Зареєстровані випадки висипного тифу в осіб, які тривалий час проживали у Лівії, Родосі, Алжирі. Завезені й рецидивні випадки висипного тифу є потенційною загрозою локального епідемічного спалаху хвороби в умовах збільшення ураження населення педикульозом. В Україні висипний тиф не реєструється з 1964 року.

R. prowazekii – поліморфні бактерії, які частіше мають форму коротких паличок. Довжина клітини коливається від 0,8 до 4 мкм, товщина – 0,3–0,6 мкм. У клітинах-мішенях рикетсії локалізуються в цитоплазмі або ядрах. У мазках розміщуються поодинокі або короткими ланцюжками. За Здродовським забарвлюються у червоний колір. Збудник культивують у жовтковому мішку курячого ембріона. У місцях скупчення рикетсій до 8–13-ї доби формується каламутна бляшка. Оптимальна температура для розмноження 35 °С. Для вирощування *R. prowazekii* використовують також культуру перещеплюваних клітин. *R. prowazekii* має гемолітичні властивості, здатний формувати негативні колонії («бляшки») у культурі клітин.

R. prowazekii порівняно малостійкі в навколишньому середовищі, але в сухих випорожненнях вошей за низької температури зберігаються протягом 2–3 міс. Стійкі до сульфаніламідних препаратів, деяких антибіотиків. За температури 80 °С вони гинуть через 1 хв, швидко гинуть у разі дії дезінфектантів.

R. prowazekii мають два антигени. Перший – поверхневий, термостабільний ліпідно-полісахаридно-білковий комплекс. Цей антиген не має видоспецифічних властивостей і дає перехресні реакції з антигенами збудника ендемічного висипного тифу, а також з антигенами OX₁₉ та OX₂ *Proteus vulgaris*. Антиген має імуногенні і протективні властивості. Другий антиген видоспецифічний, представляє полісахаридно-білковий комплекс, розташований у глибині клітини, термолабільний.

Головними факторами патогенності є ендотоксин (ліпополісахарид) і термолабільний токсичний білок.

Основним джерелом епідемічного висипного тифу є людина. Збудник в організмі людини перебуває у крові. Природний резервуар відсутній. Переносником є воша. Воші заражаються під час ссання крові хворого. Рикетсії проникають в епітеліальні клітини кишечника і розмножуються в них, а після руйнування клітин рикетсії потрапляють в екскременти воші. У заражених вошей рикетсії перебувають тільки в кишечнику і не проникають у слинні залози. Воша також не передає збудника трансваріально своїм нащадкам. Воша стає заразною через 10 днів після смоктання крові та зберігає збудник протягом усього життя (життєздатна 31 день, у той

час як неінфікована комаха – 45 днів). Укус воші не заразний, але він спричинює подразнення. Під час почісування людина втирає в ранку ви-порощення воші разом з рикетсіями. Оптимальною для вошей є температура 30 °С, тому вони перебувають у складках одягу, а кожні 5 год переповзають на шкіру для живлення. Якщо у хворого температура тіла піднімається до 39–41 °С, воша залишає свого хазяїна і переповзає на білизну іншої людини. Так відбувається поширення висипного тифу серед людей.

Особливості патогенезу і клінічної картини. Сприйнятливність людей до висипного тифу близька до 100 %. Рикетсії проникають у кров і розносяться по всьому організму, виникає рикетсіємія. Із крові вони проникають у клітини ендотелію кровоносних судин, де розмножуються. Рикетсії Провачека вибірково уражають клітини артерій різних органів, що призводить до ендопериваскуліту, утворення тромбів, різкого порушення кровообігу. Особливо тяжкі наслідки виникають у разі ураження мозкової тканини, надниркових залоз, серцевого м'яза. Крім того, ендотоксин і токсичний білок спричиняють сильну інтоксикацію організму.

Інкубаційний період триває 7–14 діб. Після нетривалого продромального періоду хвороба починається з підвищення температури тіла до 39–40 °С, сильного головного і м'язового болю. У хворого можуть розвиватися менингоенцефаліт, психоз, марення, ураження серцево-судинної системи. На шкірі обличчя, шиї, верхньої частини грудної клітки розвивається гіперемія, проявляється синдром "кролячих очей" (ін'єкція судин склер). На 4–6-у добу на бічних поверхнях грудної клітки, на спині й згинальних поверхнях верхніх кінцівок з'являється характерний розеолезно-петехіальний висип. Гарячка триває 1,5–2 тиж. На вершині розвитку гарячки температура тіла досягає 41 °С, а в разі одужання стрімко знижується до норми. Період реконвалесценції тривалий, одужання відбувається повільно через глибокі порушення з боку нервової і серцево-судинної систем. У разі своєчасного проведення антибіотикотерапії летальність не перевищує 1 % .

Хвороба Брилла–Цінсера – рецидивна форма висипного тифу. Причиною виникнення її є тривала персистенція рикетсій Провачека в організмі перехворілого. Легший клінічний перебіг хвороби порівняно з епідемічною його формою, а також менша інтенсивність і обмежена в часі рикетсіємія зумовлені наявністю у хворих залишкового імунітету після перенесеного у минулому захворювання. Наявність в Україні населення, що перенесло епідемічний висипний тиф (у різних регіонах від 3,6 до 10,6 %) і зберегло персистентну інфекцію в латентній формі, вказує на велику потенційну можливість прояву хвороби Брилла. Рецидиви захворювання виникають унаслідок зниження імунітету у людей похилого віку, а також у разі хірургічних втручань, супровідних захворювань, проведення променевої терапії, вживання імунодепресантів, впливу несприятливих екологічних факторів, стресів тощо.

Постінфекційний імунітет тривалий, напружений, антимікробний і антитоксичний, але нестерильний. Збудник тривалий час (декілька десятків років) зберігається внутрішньоклітинно у стані спокою. Рецидиви хвороби можливі через 10–30 років і більше внаслідок ослаблення імунітету.

Лабораторна діагностика. Матеріалом для дослідження є кров хворого. Для дослідження використовують серологічний, біологічний і алергічний методи.

У перші 3–4 дні захворювання діагностика проводиться за клініко-епідеміологічними даними. Далі проводять лабораторні дослідження. Бактеріологічний метод не застосовують, тому що збудник не росте на штучних поживних середовищах.

Найбільше практичне значення має серологічний метод. Використовують реакцію аглютинації рикетсій (РАР), РЗК, РНГА, реакцію непрямої імунофлюоресценції.

Для виділення культури рикетсій проводять зараження морських свинок, білих мишей, курячих ембріонів або культур клітин. Алергічну пробу ставлять внутрішньошкірно для виявлення гіперчутливості уповільненого типу.

Профілактика. У системі заходів профілактики вирішальне значення має своєчасне виявлення хворих та їх госпіталізація. Основним завданням є ліквідація педикульозу. Контактні особи підлягають медичному нагляду протягом 25 днів. В осередку інфекції проводять заключну дезінфекцію та за наявності педикульозу – дезінсекцію. Специфічну профілактику проводять тільки за епідеміологічними показаннями, використовують живу вакцину, а також комбіновану вакцину із рикетсій Провачека штаму Е та антигенів рикетсій, хімічну вакцину, яка складається з антигенів клітинної стінки рикетсій.

Лікування. Для етіотропного лікування використовують антибіотики тетрациклінового ряду, у тому числі пролонгованої дії (доксидикліну гідрохлорид, окситетрацикліну гідрохлорид, метацикліну гідрохлорид, морфоциклін), макроліди (олеандоміцин, еритроміцин), нітрофурани. Для лікування осіб зі зниженою реактивністю організму використовують імуномодулятори (метилурацил, пентоксил).

ЕНДЕМІЧНИЙ ВИСИПНИЙ ТИФ

Щурячий (ендемичний, блошиний, маньчжурський, корабельний, малайський та ін.) висипний тиф – гостре інфекційне захворювання рикетсіозної природи, яке пов'язане з ектопаразитами щурів, мишей і кішок, поширене переважно на територіях з тропічним і субтропічним кліматом, сприятливим для існування в природі тропічних бліх і бліх кішок.

Збудником ендемічного висипного тифу є *R. typhi*. Перші випадки захворювання, яке нагадувало висипний тиф, було зареєстровано серед докерів міста Аделаїда (Австралія) в 1922–1923 роках. Збудник був відкри-

тий у 1928 році швейцарським лікарем Х. Музером, на честь якого раніше ці рикетсії називали *R. moosei*. Захворювання реєструються в країнах Північної і Південної Америки, басейнів Північного, Балтійського, Середземного, Чорного і Каспійського морів, в Африці, на Далекому Сході, у Північній Австралії.

За розміром і формою *R. typhi* схожі на *R. prowazekii*, але вони менш поліморфні. За антигенною структурою також схожі на *R. prowazekii*, мають спільний з ними термостабільний О-антиген. Але *R. typhi* мають свій видоспецифічний термолабільний антиген, завдяки чому їх серологічно диференціюють з *R. prowazekii*.

Збудник добре зберігається в навколишньому середовищі. У висушених фекаліях бліх рикетсії залишаються життєздатними до 40 днів. Чутливі до традиційних дезінфектантів.

R. typhi добре розмножуються в жовтковому мішку курячого ембріона, зумовлюючи його загибель через 6–8 діб після зараження. Патогенність, як і в *R. prowazekii*, зумовлена ендотоксином і токсичним поверхневим білком. Морські свинки проявляють до *R. typhi* таку ж сприйнятливість, як і до *R. prowazekii*. Гарячка у свинок проявляється через 3–7 діб. Найбільш характерною ознакою є скротальний (запалення оболонки яєчок) феномен. Він проявляється у самців тільки після внутрішньочеревного зараження і виявляється з першого дня гарячки. Білі миші також чутливі до *R. typhi* у разі будь-якого способу зараження. Після інтраназального зараження у тварин розвивається смертельна пневмонія.

Захворюваність людей пов'язана з наявністю ендемічних осередків, які поширені по всьому світі. Резервуаром збудника є щури та інші гризуни, головним переносником – блохи і воші щурів (*рис. 7*). Зараження людей відбувається під час укусу блохи, коли людина втирає екскременти комах у шкіру, при потрапленні в очі, ніс, через ураженні сечею гризунів продукти або через аерозоль, у який потрапили сухі інфіковані фекалії переносника. Зараження людей можливе через укуси кліщів.

Клінічна картина ендемічного висипного тифу у людей в основному схожа з клінічною картиною епідемічного висипного тифу, але відрізняється більш доброякісним перебігом: ускладнень, рецидивів і летальних наслідків практично не буває. Інколи трапляються випадки тяжкої форми хвороби.

Інкубаційний період триває 8–12 діб. Хвороба починається гостро: головний біль, біль у суглобах, озноб. Наприкінці першого тижня хвороби температура тіла піднімається до 38–40 °С, у 30 % хворих з'являється розеольозно-папульозний висип, у 50 % хворих збільшуються печінка і селезінка. Ураження центральної нервової і серцево-судинної системи виражене слабо.

Імунітет виробляється тривалий і напружений, зумовлений антимікробними й антитоксичними (проти білкового токсину) антитілами. За

рахунок спільного антигену в *R. prowazekii* та *R. typhi* виникає перехресний імунітет.

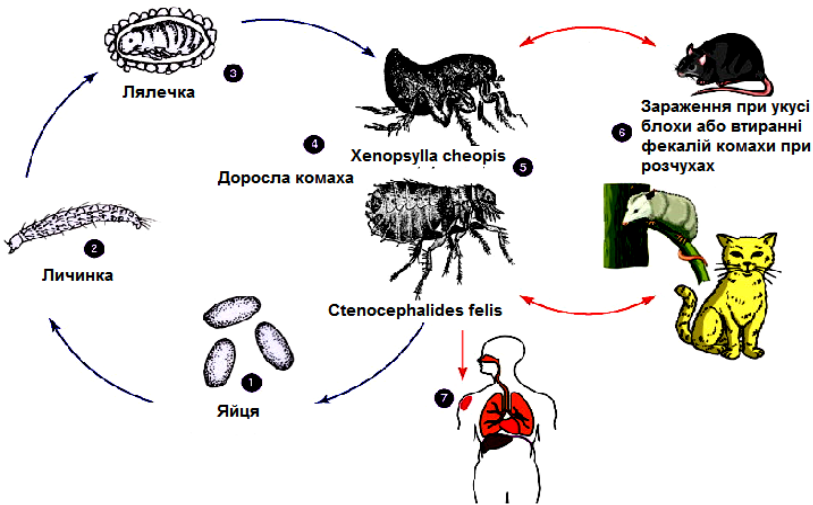


Рис. 7. Цикл передачі збудника ендемічного висипного тифу

Лабораторна діагностика. Мета дослідження: виявлення антигін до збудника і диференціація висипного тифу від ендемічного (та інших рикетсіозів).

Основний метод лабораторної діагностики – серологічний.

Матеріал для дослідження: кров (5–7мл).

Методи дослідження:

1. Серологічні:

- а) реакція зв'язування комплементу (РЗК);
- б) реакція аглютинації;
- в) реакція непрямой гемаглютинації (РНГА);
- г) реакція нейтралізації токсину;
- д) імунолюмінесцентний метод;
- е) ІФА.

• РА (високочутлива і стає позитивною на 5–7-й день, діагностичний титр 1:100–1:160, АТ зникають протягом року після захворювання), анамнестична реакція через 1 рік і більше зберігається в низьких титрах 1:10–1:20.

• РЗК (позитивна з 7–8-го дня захворювання, титр максимальний до 12–14-го дня, невелику кількість АТ виявляють довгі роки). Антигени: з рикетсій Провачека і рикетсій Музера. Сироватку розводять від 1:10 до 1:640. Діагностичний титр 1:160 і вище. Реакцію використовують для ретроспективних досліджень (1:10), для пошуку джерела інфекції, для виявлення імунологічної структури населення.

• РНГА на відміну від РЗК позитивна тільки протягом активної фази висипного тифу і найближчі терміни реконвалесценції (до 6 міс) РНГА

позитивна з 7–8-го дня захворювання, діагностичний титр 1:160 до 1:25 000 за умови його подальшого наростання при повторній постановці РНГА. Ставлять для диференціації міжгрупових рикетсіозів, а для внутрішньогрупової диференціації епідемічного висипного тифу від ендемічного - вона непридатна.

• Імунолюмінесцентний метод – високочутливий і високоспецифічний. До 5–7-го дня хвороби АТ визначаються у високих титрах 1:320 – 1:1 230, до 10–15-го дня титр збільшується до 1:2 560 – 1:10 240. НРІФ у низьких титрах зберігається багато років і десятиліть, тому її використовують для визначення гострої фази інфекції, ретроспективних досліджень (1:10), для пошуку джерела інфекції, для виявлення імунологічної структури населення, а також для визначення класів імуноглобулінів під час проведення диференційної діагностики епідемічної форми хвороби і хвороби Брилла. Для хвороби Брилла як рецидивної форми характерно накопичення IgG від самого початку хвороби. Для епідемічної форми хвороби характерно спочатку накопичення IgM. Однак ці дослідження характерні тільки до 19-го дня хвороби, тому що в більш пізні строки IgG нагромаджуються як при хворобі Брилла, так і при епідемічній формі хвороби.

2. Біологічна проба. Високою чутливістю володіє реакція нейтралізації токсину рикетсії. Реакцію ставлять на мишах, але зважаючи на складність постановки, в практичних лабораторіях вона не використовується. При біологічній пробі заражають морських свинок (самців). Збудники епідемічного висипного тифу викликають у них лихоманку. При введенні збудників ендемічного висипного тифу у морських свинок розвивається періорхіт (скротальний феномен).

Профілактика. Неспецифічна профілактика спрямована на знищення шурів, мишей, захист харчових продуктів від забруднення сечею гризунів, а також на захист портових міст від завезення шурів на кораблях. Для специфічної профілактики використовують убиту вакцину із *R. typhi*. Вакцинують людей, що живуть в ендемічних осередках і зазнали небезпеки зараження.

Для лікування використовують тетрацикліни, макроліди, нітрофурані.

ТИФ КОШАЧИХ БЛІХ

Тиф кошачих бліх (феліноз) – гостре інфекційне захворювання рикетсіозної етіології, яке зустрічається на півострові Юкатан (Мексика), у Каліфорнії (США). Збудник (*Rickettsia felis*) має спільні молекулярно-генетичні характеристики як з рикетсіями групи висипного тифу, так і зі збудниками плямистих лихоманок. Розмножується у цитоплазмі клітин. Резервуаром інфекції є опосуми, кішки, собаки, переносники – котятчі блохи *Stenopcephalides*.

Клінічно захворювання у людини протікає в легкій формі як денге-подібна або подібна шурячому тифу лихоманка, що супроводжується висипом.

Методи діагностики та лікування – як при інших рикетсіозах. Специфічна профілактика відсутня.

ПІВНІЧНОАЗІАТСЬКИЙ КЛІЩОВИЙ РИКЕТСІОЗ

Північноазіатський кліщовий рикетсіоз (кліщовий висипний тиф Азії, кліщовий рикетсіоз Сибіру) – природно-вогнищевий, облігатно-трансмисивний, найбільш розповсюджений у Росії рикетсіоз групи кліщових плямистих лихоманок. Основний ареал поширення – російський Далекий Схід, Південний Сибір та суміжні території сусідніх країн.

Збудником є *Rickettsia sibirica*, яка серологічно має спільні антигени з іншими рикетсіями групи кліщових плямистих лихоманок. *R. sibirica* паразитує в цитоплазмі і ядрі чутливих клітин, культивується в клітинах іксодових кліщів, у перещеплених культурах клітин і жовтковому мішку курячих ембріонів. У культурах клітин формує негативні колонії. *R. sibirica* нестійка до дії факторів зовнішнього середовища, швидко інактивується при позитивних температурах і під впливом загальнорозповсюджених дезінфектантів.

Резервуар інфекції – різні види гризунів (полівки, тушканчики, ховрахи, хом'яки та ін.) і тварини (олені, білки та ін.), переносники – кліщі родів *Dermacentor* та *Haemophysalis*. Людина заражається при укусі інфікованого пасовищного кліща. Інкубаційний період переважно 3–5 діб, але може тривати до двох тижнів. Для клінічної картини характерна тріада: первинний афект на місці укусу кліща, висипання на шкірі, гарячка. Діагноз підтверджується серологічними дослідженнями з груповим антигеном рикетсій (РЗК, РНГА, РІФ). Для лікування застосовують тетрациклінові антибіотики. Вакцинація не розроблена.

МАРСЕЛЬСЬКА ГАРЯЧКА

Марсельська гарячка (середземноморська гарячка, астраханська гарячка, хвороба Карпуччі–Олмера, туніська висипнотифозна лихоманка, інфекційна екзантема Середземного моря, собача хвороба) – гостре інфекційне захворювання, яке підтримується і розповсюджується в природі кліщами.

Захворювання характеризується доброякісним перебігом, помірно вираженим генералізованим васкулітом, проявляється гострим гарячковим станом, наявністю первинного афекту і макулопапульозним поширеним висипом. Як варіант марсельської лихоманки можна розглядати південно-африканський кліщовий тиф (лихоманка кліщового укусу) і східно-африканський рикетсіоз (кенійський кліщовий тиф).

Збудник – *Rickettsia sonoi*. Паразитує в цитоплазмі і ядрах клітин господаря. Грамнегативний, не росте на поживних середовищах, розмножується в культурі тканин, на розвиненому курячому ембріоні і при зараженні лабораторних тварин (у клітинах мезотелія). Патогенний для морських свинок, мавп, кроликів, ховрахів, білих мишей і білих щурів. У антигенному відношенні близький до збудників групи кліщових плямистих лихоманок.

Зооноз з природною осередковістю. Джерело інфекції: собачий кліщ *Rhipicephalus sanguineus*. Механізм передачі: трансovarіальний. Переносник інфекції: *Rhipicephalus simus*, *R. everbsi*, *Rh. Appendiculatus*. Резервуар інфекції: собаки, зайці, шакали. Сезонність: травень–жовтень, має спорадичний характер і спостерігається в основному серед власників собак. Передачі інфекції від людини до людини не відбувається. Поширеність: в басейнах Середземного, Чорного і Каспійського морів, в Африці та Індії. Сприйнятливість: невисока в усіх вікових групах.

Патогенез. Проникнення збудника через шкіру при укусі інфікованого кліща (рідко при втиранні розчавлених інфікованих кліщів у шкіру або слизові оболонки носа, кон'юнктиви). На місці проникнення – первинний афект, який виявляється незабаром після укусу кліща і за 5–7 днів до появи ознак хвороби. Первинний афект - спочатку ділянка запалення шкіри, в центральній частині – ділянка некрозу діаметром 2–3 мм, розміри первинного афекту поступово збільшуються і досягають повного розвитку до початку гарячкового періоду. Через лімфатичні шляхи рикетсії потрапляють у кров, локалізуються в ендотелії капілярів і венул.

Імунітет: стійкий, повторних захворювань марсельською лихоманкою не відбувається.

Клініка. Інкубаційний період триває від 3 до 7 (іноді до 18) днів. Початок захворювання гострий: з'являється короткочасний озноб, швидко підвищується температура до 39–40 °С, відзначаються головний біль, загальна слабкість, безсоння, болі в м'язах і поперековій області. У рідкісних випадках можливі короткочасний розлад свідомості, менінгеальний симптомокомплекс. Загальнотоксичні прояви спостерігаються протягом усього гарячкового періоду, тривалість якого коливається від 10–14 до 22 днів. Лихоманка зазвичай ремітуючого характеру. При огляді хворих у перші дні хвороби відзначаються гіперемія обличчя і ін'єкція склер; у більшості з них виявляється первинний афект у місці проникнення рикетсій. Первинний афект знаходиться в місці укусу кліща на шкірі закритих ділянок тіла, особливо на нижніх кінцівках, у вигляді невеликої виразки діаметром 2–5 мм на гіперемованій інфільтрованій основі, з темним струпом в центрі. Іноді можуть виявлятися 2–3 первинних афекти. Струп зберігається протягом усього гарячкового періоду і відпадає на 4–5-й день апірексії з утворенням ніжного, іноді пігментованого рубчика. У випадках проникнення рикетсій через слизові оболонки ока розвивається кон'юнктивіт або кератокон'юнктивіт, який супроводжується хемозом. Регіонарні лімфовузли дещо збільшені, болючі. Зворотний розвиток лімфаденіту відбувається до початку одужання. З 2–3-го дня захворювання на шкірі обличчя, тулуба і кінцівок, включаючи долоні і підошовні поверхні, з'являється рясний великий розеолезний або плямистопапулезний висип, який через 2–3 дні перетворюється на папулезно-петехіальну екзантему з розмірами папул від 5 до 10 мм. Висип зберігається до кінця гарячкового періоду і посту-

пово зникає в період апірексії, залишається пігментація протягом 2–3 тиж (рідше місяців). Порушення функції серцево-судинної системи зазвичай помірні і виявляються у вигляді брадикардії. Порушення з боку нервової системи проявляються тремором губ, язика, кистей рук, іноді минушим маренням і явищами менінгізму. Цереброспінальна рідина в таких випадках не змінена. Відзначаються симптоми уражень органів травлення: обкладений язик, запори, рідко пронос. Спленомегалія спостерігається постійно, рідко буває збільшена печінка. У крові частіше лейкопенія з відносним лімфоцитозом. Ускладнень, як правило, марсельська лихоманка не дає і закінчується одужанням.

Діагностика. Діагноз встановлюється на підставі клінічних (первинний афект, регіонарний лімфаденіт, макулопапульозний висип, помірно виражений загальнотоксичний синдром), епідеміологічних (перебування хворого в ендемічному вогнищі, контакт хворого з собаками, присмоктування кліщів) і лабораторних даних (загальний аналіз крові: лейкопенія, відносний лімфоцитоз, прискорена ШОЕ, РЗК, РНГА з цільними антигенами).

Розроблено ПЛР у біоптатах шкіри і імунофлюоресцентний метод з використанням моноклональних АТ, що дозволяють диференціювати *R. conopii* від *R. africae*, *R. slovaca*, *R. japonicum*. Підтвердження діагнозу досягається виділенням *R. conopii* з крові хворих або кліщів шляхом внутрішньочеревного введення матеріалу самцям морських свинок з подальшим розвитком у них періорхіта (скротальна реакція Neill–Mooser).

Лікування. Обов'язкова госпіталізація хворих. Етіотропна терапія антибіотиками з протирикетсіозною активністю (доксидиклін, тетрациклін, хлорамфеникол (левоміцетин)).

Профілактика. Знищення кліщів за допомогою акарицидних препаратів. Велике значення має ветеринарний нагляд за собаками, огляд не менше 2 разів на рік, знищення бродячих тварин, використання репелентів з метою особистої профілактики.

ПЛЯМИСТА ЛИХОМАНКА СКЕЛЯСТИХ ГІР

Плямиста лихоманка Скелястих гір – зооантропоноз рикетсіозної етіології з трансмісивним механізмом розповсюдження за участю іксодових кліщів. За відсутності переносника захворювання не контагіозне.

Збудник *R. tickstii* розмножується в ядрі та цитоплазмі чутливих клітин, добре культивується на кліщах, у жовтковому мішку курячого ембріона, в культурі клітин, де утворює осередки руйнування клітин – «негативні бляшки». Має виражені гемолітичні властивості. Декілька місяців зберігається в організмі інфікованих кліщів, у зовнішньому середовищі малостійкий.

Захворювання ендемічне для Північної, Центральної та Південної Америки, циркуляція в природі здійснюється за участю теплокровних

тварин і кліщів роду *Dermacentor*. Збудник передається при укусі кліща. Інкубаційний період триває 6–8 днів. Клінічна картина, як і при інших рикетсіозах, зумовлена системним васкулітом, порушенням системи згортання крові. Первинний афект на місці укусу кліща не розвивається. Характерний макулопапульозний висип, захоплює долоні і підшви. За перебігом і прогнозом належить до найважчих рикетсіозів, смертельні випадки досягали 35 % захворілих.

Діагноз підтверджується при виявленні специфічних антитіл у РЗК, РНГА, РІФ.

Для лікування застосовують тетрациклінові антибіотики. Специфічна профілактика – інактивована вакцина.

ВЕЗИКУЛЬОЗНИЙ РИКЕТСІОЗ

Везикульозний рикетсіоз (рикетсіозна віспа, оспоподібний рикетсіоз, гамазовий рикетсіоз та ін.) – гостре гарячкове захворювання рикетсіозної етіології з внутрішньоміською локалізацією та доброякісним перебігом.

Збудник – *R. akari* має невисоку вірулентність, паразитує в цитоплазмі і ядрах чутливих клітин, гемолітичні властивості і здатність до токсикозу в організмі чутливих біомоделей не виражені, добре формує бляшки в культурі клітин, має спільні антигени з іншими рикетсіями кліщової групи. Не стійкий до дії факторів зовнішнього середовища, легко інактивується під впливом позитивних температур і звичайних дезінфектантів.

Резервуаром інфекції є гризуни, переносники – гамазові кліщі. Ареал поширення – Атлантичне узбережжя США, Південна Європа.

Механізм зараження, патогенез і клініка хвороби типові для кліщових рикетсіозів, відрізняючись деякими деталями. Менш виражене ураження клітин-мішеней (ендотеліальні клітини судинної системи), що обумовлює ексудативний характер шкіряного висипу (везикульозний висип) з швидкою інволюцією до 7–9-ї доби після початку хвороби. Інкубаційний період – 4–8 діб, на місці укусу кліща розвивається первинний афект – пухирцеві висипання. Висипка має особливий плямисто-пухирцевий характер, шкіра долонь і підшоп не уражується. У клініці переважають загальні симптоми гарячкового стану (підвищення температури, озноб, нездужання, головний біль, гіперемія обличчя і слизових, гіпотонія та ін.), які у більшості хворих зберігаються не більше 6 діб. Явища васкуліту виражені незначно, перебіг хвороби доброякісний. Діагноз захворювання підтверджується виявленням специфічних антитіл в РЗК, РНГА, РІФ. Для лікування застосовують тетрациклінові антибіотики. Вакцинопрофілактика нерациональна. Неспецифічна профілактика здійснюється комплексом дератизаційних і дезінсекційних заходів у вогнищах.

ЛИХОМАНКА ЦУЦГАМУШІ

Лихоманка цуцугамуші (червонотілковий рикетсіоз, японська річна лихоманка, тропічний кліщовий висипний тиф, чагарниковий тиф) – гостра інфекційна хвороба, яка обумовлена *Orientia tsutsugamushi*.

Збудник відноситься до роду *Orientia* родини *Rickettsiaceae* підгрупи альфа-1 протеобактерій. Клітини збудника мають кокоподібну або паличкоподібну форму. При забарвленні за Романовським–Гімзою забарвлюються в пурпурний колір. *O.tsutsugamushi* має шість серологічних груп, є спільні антигени з протеєм OX₁₉. За морфологічними і біологічними ознаками близька до рикетсій. Розмножується у цитоплазмі інфікованих клітин. Для культивування збудника використовують жовтковий мішок курячого ембріона, культуру тканин ссавців, тканинні культури. Окремі штами відрізняються за вірулентними властивостями. Збудник нестійкий у зовнішньому середовищі – швидко гине під впливом температури, деззасобів та при висушуванні.

Лихоманка цуцугамуші – типовий природноосередковий зооантропоноз кліщової групи. Циркуляція збудника у природі серед гризунів відбувається за участі личинок кліщів родини *Trombididae* (червонотілкові кліщі), у яких можлива трансваріальна передача. Резервуаром інфекції є гризуни (миші, хом'яки, шури), сумчасті і комахоїдні тварини. Кліщі-червонотілки також можуть бути резервуаром інфекції, тому що можуть передавати збудника трансваріально і трансфазово (при зміні життєвих фаз) протягом 5 генерацій. Зона поширення – Південно-Східна Азія, Японія, острови Тихого океану.

Інкубаційний період – 7–18 днів. Для клініки характерні загальні симптоми кліщових рикетсіозів, а саме гострий початок з появою ознобу, лихоманки, головного болю, міалгії, гіпотонії. На місці укусу кліща розвивається первинний афект у вигляді невеликої виразки, оточеної зоною гіперемії. Розвивається регіонарний лімфаденіт. Наприкінці першого тижня хвороби з'являється плямисто-папульозна висипка на грудях і животі, потім на кінцівках. Розвивається генералізована лімфаденопатія. У різних географічних зонах перебіг хвороби відрізняється за важкістю і прогнозом.

У зв'язку з існуванням антигенних варіантів орієнтацій можливе повторне захворювання, тому що не формується імунітет проти іншого серотипу збудника. Специфічні антитіла в крові зберігаються більше 10–20 років. Для підтвердження діагнозу застосовують серологічні методи (РЗК, РНФ, ІФА). У сироватці хворого антитіла з'являються з кінця 2-го тижня і циркулюють 5–6 тиж. Для виділення збудника кров хворих (0,1–0,2 мл) у перші дні захворювання вводять білим мишам.

Лікування проводиться антибіотиками тетрациклінового ряду, призначення яких сприяє швидкому одужанню хворих (через 4–5 днів). Специфічна профілактика не розроблена, профілактичні заходи мають еколо-

гічний характер і спрямовані на зниження чисельності гризунів та кліщів у зонах поширення збудника.

КОКСІЄЛЬОЗ (КУ-ЛИХОМАНКА)

Ку-лихоманка – це гостре зоонозне природно-вогнищеве трансмісивне інфекційне захворювання, що характеризується поліморфізмом клінічних проявів. Уперше описано в 30-х роках XIX ст. в Австралії (від англ. *query* – неясний, невизначений). У 1939 р. збудник цієї лихоманки був виділений з крові хворого, ідентифікований Ф. Бернетом і на його честь названий рикетсіями Бернета. У колишніх країнах СНД Ку-лихоманка реєструється з 1948 р. Збудник Ку-лихоманки відноситься до роду *Coxiella*.

C. burnetti представляють собою дрібні, поліморфні мікроорганізми, ланцетоподібної, паличкоподібної форми, завдовжки 0,3–0,8 мкм, сферичної форми, 0,3–0,5 мкм у діаметрі, грамнегативні. За методом Здродовско-го фарбуються в червоний колір.

Рикетсії Бернета добре розмножуються в жовтковому мішку курячого ембріона, утворюючи бляшки. Оптимальна температура для їх розмноження 35 °С. Усередині клітин господаря рикетсії розмножуються переважно у вакуолях.

Ферментативні властивості не виражені. Токсини не виявлені, але рикетсії містять алерген, здатний сенсibilізувати організм з утворенням гранульом.

Рикетсії Бернета мають два антигени: фази I і II. Антиген фази I поверхневий і являє собою полісахарид. Антиген фази II розташований усередині клітини. Хімічна природа його не з'ясована. При тривалому культивуванні в курячому ембріоні *C. burnetti* втрачає здатність утворювати I антиген. Ця здатність відновлюється після пасажів через організм морської свинки.

Рикетсії Бернета досить стійкі до факторів навколишнього середовища. Вони витримують температуру 80–90 °С протягом 30 хв. Пастеризація молока не знищує їх. Вони довго зберігаються в молочних продуктах: сирі, маслі, кефірі та витримують дію УФ-променів протягом 1,5 год. При низьких температурах, особливо в умовах льоду, вони зберігаються кілька місяців, у стерильній воді – 3–4 міс. Рикетсії Бернета стійкі до дії шлункового соку, 5 % розчину формаліну і 1 % розчину фенолу.

У природних умовах рикетсії Бернета виявляють у корів, овець, мулів, собак, коней, гризунів, птахів і кліщів. У тварин хвороба характеризується лихоманкою. Протікає захворювання у них частіше в хронічній формі. Виділяються рикетсії з молоком, сечею, випорожненнями. З експериментальних тварин чутливі: білі миші, морські свинки, кролики.

Джерела інфекції – найчастіше домашні тварини. Шляхи передачі *Coxiella burnetti* різноманітні: повітряно-пиловий (обробка вовни заражених тварин викликає специфічну пневмонію), харчовий (використання

харчових продуктів, заражених виділеннями хворих тварин або фекаліями заражених комах), трансмісивний (укус кліщів, заражених рикетсіями Бернета). Кліщі передають рикетсії потомству трансваріально.

Рикетсії проникають не тільки через слизові оболонки верхніх дихальних шляхів та травний тракт, але і через неушкоджену шкіру. Інкубаційний період триває від 3 до 30 діб. Потрапивши до організму, рикетсії проникають у кров і лімфу – виникає рикетсіємія, далі – в клітини органів і тканин. В організмі людини рикетсії піддаються фагоцитозу, однак вони не лізуються фагоцитами (незавершений фагоцитоз).

Клінічна картина залежить від механізму зараження (рис. 8). Розрізняють такі форми: гостра бронхопневмонічна, підгостра легенева, грипоподібна, септична, нервова, латентна. Інкубаційний період від 8 до 30 днів. Захворювання починається раптово з ознобу та підвищення температури до 30–40°C. Лихоманка, що супроводжується головним болем, блюванням, триває 2 тиж або більше. Висип проявляється рідко на 2–9-й день та зникає через 30–48 год. Якщо захворювання набуває хронічної форми, лихоманка триває декілька місяців.

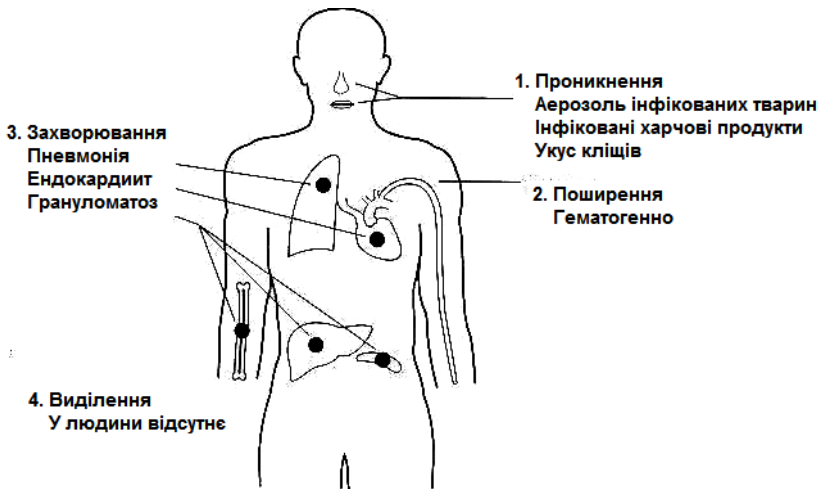


Рис. 8. Загальні клінічні симптоми при Ку-лихоманці

Імунітет при Ку-лихоманці міцний і тривалий завдяки наявності комплементфіксуючих антитіл, аглютининів та ін. Розвивається гіперчутливість уповільненого типу.

Мікробіологічне дослідження

Мета дослідження: виявлення антитіл до збудника, виділення і ідентифікація збудника. Матеріал для дослідження: кров, сеча, цереброспінальна рідина, мокротиння, грудне молоко.

Методи дослідження: серологічний, біологічний.

Для діагностики використовують серологічні реакції (РА, РЗК з АГ з рикетсій Бернета). Вони стають позитивними на 2-му тижні захворювання, титр аглютининів (РА) 1:10–1:16, максимальний титр антитіл визначають на 5–6-му тижні. Титр комплементфіксуючих антитіл невисокий (РЗК) – 1:80–1:160 і зберігається у перехворілих протягом 1–2 років (1:10–1:20). Для діагностики також використовують реакцію імуноблотингу, РНІФ, ПЛР.

Для виділення збудника застосовують зараження морських свинок кров'ю хворого (3–5 мл). Після загибелі тварини емульсією, зробленою із селезінки, заражають курячі ембріони. Після розмноження в них рикетсій (8–13-а доба), виділяють чисту культуру.

Профілактика заснована на проведенні ветеринарно-медичних заходів: виявлення та ліквідація вогнищ захворювання серед тварин; дезінфекція приміщень для худоби; знищення гризунів, комах; нагляд за домашніми тваринами. Молоко кип'яють, тому що при пастеризації рикетсії Бернета не гинуть. Виділення тварин знешкоджують. Хворих госпіталізують. У місцях з підвищеною захворюваністю людей імунізують вакциною, приготовленою з живих рикетсій Бернета штам М-44 (вакцина ефективна, але реактивна).

Лікування антибіотики тетрациклінового ряду, левоміцетин.

ЕРЛІХІОЗИ

За таксономічним положенням ерліхії відносяться до підгрупи α -1 Proteobacteria, родини Anaplasmataceae. Рід Ehrlichia включає наступні види: Ehrlichia canis, Ehrlichia chaffeensis, Ehrlichia sennetsu, Ehrlichia muris, Ehrlichia ruminantium, Ehrlichia ewingii, Anaplasma phagocytophilum.

Таблиця 2

Епідеміологія ерліхозів людини

Вид	Захворювання	Вектор	Резервуар
<i>E. chaffeensis</i> , <i>E. canis</i>	Моноцитарний ерліхоз	Кліщі	Олені, птахи, собаки, кліщі, гризуни, кози,
<i>Ehrlichia muris</i>	Моноцитарний ерліхоз	Кліщі	Полівка, кліщі
<i>Ehrlichia ruminantium</i>	Моноцитарний ерліхоз	Кліщі	Велика рогата худоба, кліщі, кози, антилопи
<i>A. phagocytophilum</i> , <i>E. ewingii</i>	Гранулоцитарний анаплазмоз	Кліщі	Олені, кліщі, собаки, кролі, гризуни

Ерліхії належать до облігатних внутрішньоклітинних паразитів, що уражають моноцити, макрофаги, поліморфноядерні лейкоцити. Клітини ерліхій поліморфні, але в основному еліпсоїдної або сферичної форми, варіабельні за розміром. Поділ клітин бінарний. Клітини мають добре виражену зовнішню клітинну стінку та цитоплазматичну мембрану. Внутрішньоклітинні скупчення ерліхій нагадують ягоду малини, тому вони

отримали назву «морула», діаметром 2–5 мкм. Збудник добре забарвлюється в мазках периферичної крові за Романовським–Гімзою. Внаслідок внутрішньоклітинного паразитизму не культивуються на штучних поживних середовищах. Вирощування проводять у культурах клітин.

Чутливість до факторів зовнішнього середовища і дезінфектантів подібна до рикетсій.

При вивченні ерліхій за допомогою методу імуноблотингу виявлено 7 основних протеїнів і мінорний білок, що виконують роль антигенів.

Ерліхозі людини відносять до облігатно-трансмисивних інфекцій, що передаються кліщами (*Amblyomma americanum*, *Ixodes scapularis*, *I. ricinus*, *I. persulcatus*) під час укусів (рис. 9). Перенос інфекційного агента можливий з метацеркаріями трематоди *Nanophyetus salmincola*, що паразитує у лососевих рибах, під час поїдання сирової риби. Крім людини, ерліхіями можуть бути інфіковані собаки, кішки, коні, олені, антилопи, буйволи, кози, вівці, гризуни, примати. До захворювання схильні люди різного віку. Захворювання має виражену сезонність (максимум з травня по липень).

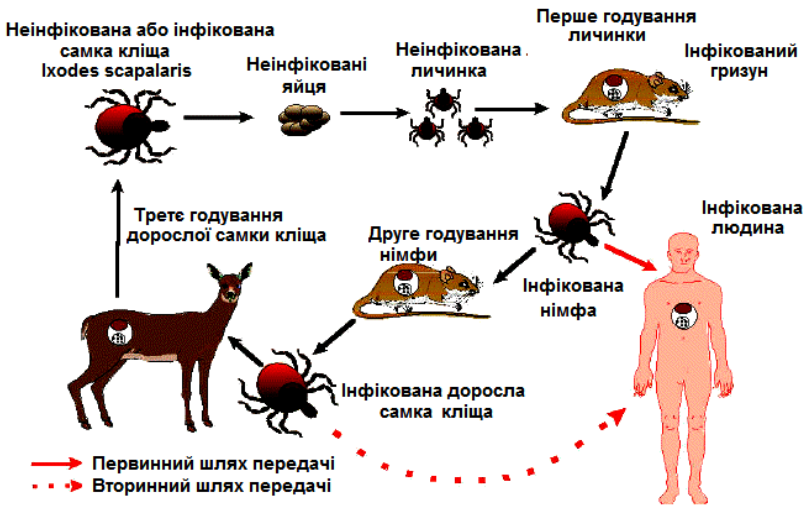


Рис. 9. Цикл передачі ерліхій

Після укусу кліща інкубаційний період продовжується від 1-го до 21-го дня (в середньому 7 днів). Клінічно виражені симптоми спостерігаються протягом 2–3 тиж, іноді до 6 тиж. Розмноження ерліхій відбувається в моноцитах і гранулоцитах периферичної крові та в тканинних макрофагах, спричиняючи їх загибель. Клінічні прояви ерліхозу різноманітні. Захворювання починається з нездужання, лихоманки, головного болю, кашлю, міальгії, нудоти. У дітей і близько 30 % дорослих приблизно на 8-у

добу може з'явитися папульозний або петехіальний висип. Характерною ознакою хвороби є підвищення амінотрансфераз у сироватці крові. Під час гострої фази можлива тромбоцитопенія, лейкопенія, іноді анемія. Перехворілі доповнюють супутні грибкові й вірусні інфекції. Моноцитарний ерліхіоз може приводити до ураження кісткового мозку та печінки, до периваскулярних лімфогістіоцитарних інфільтратів у нирках, серці та інших органах. Смертельні випадки при моноцитарному ерліхіозі – близько 3–5 %, а при гранулоцитарному ерліхіозі – 7–10 %. Передбачається, що хронічні ерліхіози можуть бути пов'язані з різними видами раку, особливо з лейкемією і лімфосаркомою. Причинами смерті при інфікуванні ерліхіями можуть бути геморагії мозку, аутоімунні захворювання, вторинні інфекції й ураження внутрішніх органів (серце, печінка, селезінка та ін.).

Діагностику ерліхіозів проводять, починаючи з мікроскопії мазків периферичної крові, забарвлених за Романовським–Гімзою. У 1–2 % нейтрофілів, моноцитів і лімфоцитів виявляють морули (рис. 10). Мікроскопія дає позитивний результат в основному під час гострої фази хвороби. Діагноз може бути підтверджений серологічним методом (НРІФ, ІФА, імуноблотинг). При цьому необхідно враховувати, що зростання антитіл відбувається на 2-му тижні захворювання, а у перехворілих антитіла можуть зберігатися до 2 років. Пряме виділення збудника можливе з використанням методу культури тканин.

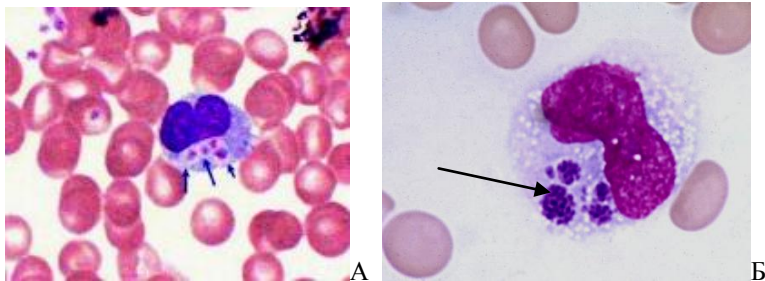


Рис. 10. Морули ерліхій у цитоплазмі макрофага (А) і моноцита (Б)

Лікування. При ерліхіозах ефективно використання тетрацикліну, доксицикліну, рифампіцину, поєднання тетрацикліну з хлорамфеніколом.

Профілактика. Специфічна профілактика не розроблена. Неспецифічна профілактика аналогічна заходам, що проводяться при інших інфекціях, які передаються кліщами.

БАРТОНЕЛЬОЗИ

Збудники бартонельозів відносяться до підгрупи α -2 Proteobacteria, порядку Rizoiales, родини Bartonellaceae, роду Bartonella й умовно називаються рикетсіями. Рід у теперішній час налічує не менше 23 видів. Мік-

роорганізми виділені з крові і тканин хворих людей, з вошей, від собак, кішок, диких гризунів та ін.

Представники роду *Bartonella* є дрібні, прямі або зігнуті палички розміром $0,2-0,5 \times 1-3$ мкм, які можуть розташовуватися в матеріалі поодинокі або групами. Зустрічаються ланцюги з сегментованих клітин. Грамнегативні аеробні мікроорганізми. Клітини мають оболонку, *B. bacilliformis* має від 1 до 10 джгутиків (лофотрихи), а *B. quintana* і *B. henselae* мають пілі. Розмножуються бінарним поділом. Погано забарвлюються аніліновими барвниками, задовільно – за Романовським–Гімзою (у червоно-фіолетовий колір). Деякі представники є оксидазо-, уреазо- і каталазонегативними. Культивування проводять як на мікробіологічних середовищах, наприклад, на серцево-мозковому бульйоні, колумбійському агарі та інших середовищах, та в алантоїсній рідині курячого ембріону. Оптимальна температура для культивування $28-37^{\circ}\text{C}$. Колонії виявляються після 2 тиж вирощування. Бартонели ростуть на мікробіологічних середовищах краще після декількох пасажів на однотиповому середовищі.

Мікроорганізми виживають у водопровідній воді при кімнатній температурі протягом 7 днів. Бартонели інертні до дії деяких хімічних речовин. Чутливі до традиційних дезінфектантів.

Хвороба Карріона обумовлена *B. bacilliformis*. Резервуаром інфекції є хворі люди, деякі ссавці (сільськогосподарські тварини, гризуни). Можливе тривале безсимптомне носійство. Переносником є ендемічний москіт (самка) *Lutzomyia (Phlebotomus) verrucosum*.

Клінічні прояви хвороби мають 3 основні форми: лихоманка Оройя (гостра форма), перуанська бородавка (хронічна форма) або їх поєднання. Після укусу людини *L. verrucosum* на місці інокуляції з'являється папула. Далі бартонела проникає в еритроцити. Інкубаційний період триває близько 3 тиж і більше. Захворювання починаються з різкого головного болю, ознобу, порушення свідомості. Температура підвищується до $39-40^{\circ}\text{C}$, але може бути помірною. Далі з'являються болі в суглобах, м'язах, утруднення дихання.

Бартонела уражає ендотелій судин, клітини печінки, селезінку. *B. bacilliformis* при розмноженні в еритроцитах, змінює їх форму, і далі вони легко руйнуються, що обумовлює появу гемолітичної анемії. Якщо *B. bacilliformis* потрапляє в кістковий мозок, то здатна пригнічувати процес кровотворення.

Перуанська бородавка характеризується червоно-пурпурними папулами діаметром 3-10 мм на шкірі, слизових оболонках, у внутрішніх органах. Внаслідок проліферативних процесів в ендотелії кровеносних і лімфатичних судин папули можуть виникати без стадії лихоманки. Характерні прояви цієї форми можуть зберігатися тривало. Папули часто покриваються виразками і кровоточать. Можливі рецидиви обох форм захворювання.

Летальність при лихоманковій формі без лікування може досягати 40–90 %. Перенесене захворювання формує міцний імунітет на строк від 1 міс до декількох років. Хронічна форма протікає без летального результату.

Траншейна (окопна) лихоманка (волинська лихоманка) обумовлена *V. quintana*. Резервуаром є хвора людина, переносник – платтяна воша. Одна з основних ознак захворювання – лихоманка. Температура може досягати 39–40 °С. Висип виникає у вигляді розеола. Характерна поява головного болю, артралгій, міалгій, особливо в литкових м'язах. Захворювання триває 3–5 тиж і має сприятливий прогноз. Проявляється також у вигляді шкірного бацилярного ангіоматозу, бактеріємії, ендокардиту, хронічної лімфаденопатії.

Бартонельоз, що має назву «хвороба кошачої подряпини», обумовлений *V. henselae* та виникає після подряпини або укусу кішки. Хвороба частіше спостерігається у дітей. В осіб з порушеною імунною системою можуть з'явитися регіонарна лімфаденопатія, бацилярний ангіоматоз, пеліоз печінки і бактеріємія. В осіб без порушень імунного статусу можливі бацилярний ангіоматоз, бактеріємія і ендокардит. Через декілька місяців захворювання може завершитися спонтанно. Однак можливі ускладнення у вигляді пневмонії, енцефаломенінгіту. Прогноз захворювання, як правило, сприятливий. Багато випадків інфікування протікають у легкій формі, яка проявляється у вигляді папули, невеликого збільшення регіонарного лімфатичного вузла, субфебрильної температури та ін.

Лабораторна діагностика. Бартонели виділяють при посіві крові хворого на поживні середовища з додаванням крові людини, кролика, коней. Діагностику можна також проводити при мікроскопії препаратів з матеріалу від хворих (кров, біопати та ін.), забарвлених за Романовським–Гімзою, або за допомогою методу сріблення. Найбільш ефективний серологічний метод (після 1-го тижня захворювання з повторенням аналізів через 10–14 днів). Часто використовують РНІФ, ІФА, імуноблотинг, реакцію аглютинації з сироваткою хворих (діагностичний титр 1:20). Діагностично важливим є визначення рівня IgM і IgG.

Використання ПЛР у діагностиці бартонельозів дозволило збільшити процент виявлення збудника у хворих.

Терапію бартонельозів проводять в основному антибіотиками: тетрациклінами, хлорамфеніколом, а також рифампіцином, азитроміцином та іншими макролідами. При бацилярному ангіоматозі використовують еритроміцин. При хворобі «кошачої подряпини» хворий можевилікуватися самовільно, однак і в цих випадках рекомендується використовувати антибіотики. Найбільш ефективний еритроміцин, доксициклін, кларитроміцин, моноциклін, азитроміцин.

Неспецифічна профілактика при хворобі Карріона: знищення переносників і захист від укусів.

Практичні навички з теми.

1. Проведення мікроскопії мазків-препаратів з рикетсіями.
2. Визначення морфотинкторіальних властивостей рикетсій.
3. Постановка реакції непрямой гемаглютинації. Проведення обліку та оцінювання результатів дослідження.
4. Постановка реакції зв'язування комплементу. Проведення обліку та оцінювання результатів дослідження.

Алгоритми лабораторної роботи

Алгоритм: «Постановка реакції зв'язування комплементу».

Реакція зв'язування комплементу (РЗК) є високоспецифічним і чутливим лабораторним методом діагностики рикетсіозів, дозволяє визначати в крові специфічні комплементфіксуючі антитіла як при гострому захворюванні, так і після перенесеного в минулому захворювання (анамнестичного характеру). Тому РЗК є придатною для поточної і ретроспективної діагностики рикетсіозів та вивчення імунологічної структури населення при епідеміологічних обстеженнях.

Суть методу полягає у зв'язуванні комплементу специфічним комплексом антиген + антитіло, що визначається в присутності індикатора – баранячих еритроцитів, сенсibilізованих гемолітичною сироваткою. При утворенні специфічного комплексу антиген + антитіло доданий комплемент зв'язується цим комплексом, внаслідок чого після додавання гемолітичної системи не виникає лізис баранячих еритроцитів. Якщо ж комплекс антиген + антитіло не утворюється, вільний комплемент забезпечує лізис сенсibilізованих еритроцитів (гемоліз). При позитивному результаті РЗК спостерігається затримка гемолізу і еритроцити осідають на дно пробірки; при негативному результаті РЗК спостерігається феномен гемолізу, рідина забарвлюється гемоглобіном у червоний колір.

Для постановки РЗК необхідно мати такі інгредієнти: досліджувану сироватку; діагностикум; комплемент; гемолітичну сироватку; еритроцити барана.

Реакцію проводять в об'ємі 1,0 мл, тобто по 0,2 мл кожного інгредієнта (класичний варіант реакції) або в об'ємі 0,5 мл – по 0,1 мл кожного інгредієнта.

Для забезпечення вірогідності результатів необхідно користуватись окремим посудом (пробірки, піпетки, колби), добре вимитим і висушеним у сухожаровій шафі. Для кожного інгредієнта реакції використовують окрему піпетку. Для розведення інгредієнтів використовують свіжоприготований стерильний ізотонічний (0,9 %) розчин хлориду натрію в дистильованій воді (далі в тексті – фізіологічний розчин).

Першу фазу реакції, тобто зв'язування комплементу, можна проводити при температурі 37 °С або шляхом тривалого зв'язування на холоді (4 °С). Останній спосіб більш чутливий, ніж перший, однак потребує більш тривалого часу для завершення дослідження (близько 24 год). Тому для досліджень звичайно застосовують метод постановки РЗК в умовах термостату, що дозволяє завершити дослідження протягом однієї доби.

Досліджувані в РЗК сироватки мають бути відділені від еритроцитів, не мати ознак сильного гемолізу і бактерійного забруднення, оскільки будуть проявляти антикомплементарну дію. Напередодні або в день постановки РЗК сироватки необхідно інактивувати у водяній бані при 56 °С протягом 30 хв для звільнення від комплементу; сироватки інактивують не розведені або в розведенні 1:5, 1:10.

Рикетсійні діагностикуми, що використовують для РЗК, повинні відповідати таким вимогам: бути специфічними, містити не менше двох антигенних одиниць у робочому розведенні і не проявляти антикомплементарної дії. Антигени титрують на підприємствах, що виготовляють їх. Тому для РЗК використовують антигени в робочому розведенні згідно з паспортними даними підприємства. Кожну нову одержану серію антигена необхідно перевірити на специфічність та чутливість постановкою РЗК із типовою специфічною та гетерологічною сироватками. Антиген повинен реагувати в РЗК до титру сироватки.

Для титрування діагностикум розводять фізіологічним розчином у ряді пробірок 1:2, 1:4, 1:8, 1:16. У три ряди пробірок додають по 0,2 мл кожного розведення антигена (у перші пробірки наливають по 0,2 мл розчиненого, але не розведеного антигена). Потім до антигена додають: в перший ряд пробірок – по 0,2 мл специфічної стандартної сироватки в чотириразовому титрі (при титрі 1:320 беруть 1:80), у другий ряд – по 0,2 мл неспецифічної протирикетсійної сироватки в розведенні 1:20, у третій ряд – по 0,2 мл фізіологічного розчину. Паралельно ставлять контроль специфічної і неспецифічної сироваток на антикомплементарність: в окремі 2 пробірки наливають по 0,2 мл сироватки (у тому ж розведенні, що і в досліді), а замість антигена додають по 0,2 мл фізіологічного розчину.

Потім у всі пробірки додають по 0,2 мл комплементу в робочій дозі (див. *титрування комплементу*) і ставлять контроль комплементу (0,2 мл комплементу + 0,4 мл фізіологічного розчину). Пробірки струшують і поміщають на одну годину в термостат (37 °С). Після експозиції додають гемолітичну систему (див. *нижче*), пробірки знову після струшування вміщують у термостат на 20–30 хв до завершення гемолізу в контролях і враховують результат. За титр антигена приймають його розведення, у якому спостерігається затримка гемолізу не менше ніж на 3+ при 4-плюсовій шкалі оцінки гемолізу. Схема титрування антигена наведена в *табл. 3*.

Комплемента – свіжоприготований (сироватка крові від 2–3 морських свинок, взятої напередодні досліді) або консервованій – титрують кожний раз у день постановки досліді. Для тривалого зберігання свіжоприготований комплемент стерильно розливають у пробірки і заморожують у рефрижераторі при температурі -10...-20 °С. Заморожування–розморожування комплементу не допускається, оскільки він втрачає свою активність.

Гемолітичну сироватку, котра є сироваткою крові кроля, імунізованого за певною схемою суспензією еритроцитів барана, титрують на під-

приємстві, що виготовляє цей препарат. На етикетці ампули гемолітичної сироватки вказано її титр. Для постановки РЗК використовують гемолітичну сироватку у робочому титрі, який у три рази менший розведення, вказаного на етикетці. Наприклад, титр гемолітичної сироватки за паспортними даними дорівнює 1:1 800, робочий титр її має бути 1:600.

Таблиця 3

Схема титрування антигена

Ряд пробірок	Інгредієнти, мл	Розведення антигена					Контроль	
		не розведений	1:2	1:4	1:8	1:16	сироватки	комплементу
1	Антиген	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
	Сироватка специфічна	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
	Комплемент	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Фізіологічний розчин						0,2	0,4
2	Антиген	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
	Сироватка неспецифічна	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
	Комплемент	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
	Фізіологічний розчин						0,2	0,4
3	Антиген	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
	Фізіологічний розчин	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
	Комплемент	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		

Приклад обліку результатів титрування антигена:

1 Специфічна сироватка	++++	++++	+++	+	-	-	-
2 Неспецифічна сироватка	-	-	-	-	-	-	-
3 Без сироватки	-	-	-	-	-	-	-

Титр антигену дорівнює 1:4

При необхідності (тривале зберігання сироватки, одержання нечітких результатів реакції з досліджуваними сироватками) проводять титрування гемолітичної сироватки на місці. Доцільно титрувати гемолітичну сироватку також при отриманні нових серій. Для цього готують розведення гемолітичної сироватки 1:100 (0,1 мл гемолітичної сироватки + 9,9 мл фізіологічного розчину), з якого проводять подальші розведення сироватки залежно від титру, вказаного на етикетці (звичайно від 1:600 до 1:3 000).

У ряд пробірок послідовно розливають по 0,2 мл кожного розведення сироватки; користуючись однією піпеткою, відмірювання проводять у зворотному порядку, починаючи з максимального розведення сироватки. У кожену пробірку додають по 0,2 мл комплементу в розведенні 1:10 та по 0,2 мл 3 %-ї суспензії еритроцитів барана; потім доливають у кожену пробірку по 0,4 мл фізіологічного розчину. Суміш компонентів старанно перемішують, витримують у термостаті (37 °С) протягом години

і враховують результат. За титр гемолітичної сироватки приймають максимальне її розведення, здатне викликати повний гемоліз еритроцитів барана. Схема титрування гемолітичної сироватки наведена в *табл. 4*.

Таблиця 4

Схема титрування гемолітичної сироватки

Інгредієнти, мл	Розведення гемолітичної сироватки							
	1:600	1:900	1:1 200	1:1 500	1:1 800	1:2 100	1:2 400	1:3 000
Гемолітична сироватка	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Суспензія еритроцитів барана (1–3 %)	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Комплемент у розведенні 1:10	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Фізіологічний розчин	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Оцінка результатів	–	–	–	++	+++	++++	++++	++++

Примітка. Титр гемолітичної сироватки дорівнює 1:1 200.

Еритроцити барана заготовляють заздалегідь. Кров, забрану з яремної вени барана, дефібринують у флаконах зі скляними бусами шляхом струшування протягом 10–15 хв, проціджують через стерильну марлю і зберігають у рефрижераторі. Для зберігання еритроцити консервують за допомогою консерванту такого складу: борна кислота – 4 г, глюкоза – 6 г, фізіологічний розчин – до 100 мл.

Розчин стерилізують кип'ятінням на водяній бані по 20 хв 3 дні підряд. Консервант додають до дефібрированої крові з розрахунку 15 мл на 100 мл крові. Консервовані таким способом еритроцити можна зберігати в рефрижераторі (4 °С) протягом 2–3 міс.

У день проведення досліду еритроцити відмивають фізіологічним розчином до зникнення ознак гемолізу центрифугуванням протягом 10–15 хв при 1500 об./хв; з осаду готують 1–3 %-у суспензію еритроцитів у фізіологічному розчині.

Для виготовлення гемолітичної суміші (гемолітичної системи) беруть рівні об'єми суспензії еритроцитів (1–3 %) і гемолітичної сироватки в розведенні, що дорівнює її потрійному титру (робочий титр). Змішані еритроцити і гемолітичну сироватку витримують у термостаті (37 °С) протягом 30 хв для сенсibiliзації.

Порядок постановки РЗК. Перед основним дослідом РЗК проводять титрування комплементу для визначення його робочої дози. Із основного розведення комплементу 1:10 у ряд пробірок розливають мікропіпеткою різні дози розведеного комплементу з інтервалом 0,01 мл. Далі в пробірки з комплементом додають фізіологічний розчин до об'єму 0,6 або 0,3 мл і гемолітичну систему, попередньо сенсibiliзовану протягом 30 хв у термостаті (по 0,4 або 0,2 мл). Суміш після перемішування поміщають у термостат (37 °С) на 30 хв і проводять облік результатів.

У табл. 5 наведена схема титрування комплементу в загальному об'ємі реакції 1,0 та 0,5 мл.

Таблиця 5

Схема титрування комплементу

Інгредієнти, мл	№ пробірки								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Об'єм реакції 1,0 мл									
Комплемент у розведенні 1:10	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10	0,11
Фізіологічний розчин	0,57	0,56	0,55	0,54	0,53	0,52	0,51	0,50	0,49
Гемолітична система	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Облік результатів	++++	++++	++	-	-	-	-	-	-
Об'єм реакції 0,5 мл									
Комплемент у розведенні 1:10	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10	0,11
Фізіологічний розчин	0,27	0,26	0,25	0,24	0,23	0,22	0,21	0,20	0,19
Гемолітична система	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Облік результатів	++++	+++	+	-	-	-	-	-	-

Якщо титрування комплементу проводять у присутності антигена, то в кожну пробірку до комплементу спочатку додають відповідну кількість антигена (0,1 або 0,2 мл) в робочому розведенні, а об'єм доповнюють фізіологічним розчином. Суміш реагентів поміщають у термостат на 1 год, після чого додають гемолітичну систему і через 30 хв інкубації в термостаті проводять облік результатів.

При використанні в досліді не одного, а декількох антигенів, титрування комплементу проводять у присутності всіх видів антигенів, після чого вибирають відповідні дози комплементу.

Оцінка результатів титрування комплементу полягає у визначенні ступеня затримки гемолізу (рис. 11): відсутність гемолізу (повна його затримка) оцінюється чотирма плюсами (4+); майже повна затримка (сліди гемолізу) позначається трьома плюсами (3+); часткова затримка гемолізу позначається двома плюсами (2+), сліди затримки (майже повний гемоліз) – одним плюсом (1+). За одиницю комплементу приймають найменшу його кількість, яка викликає повний гемоліз еритроцитів. У наведеному прикладі ця одиниця дорівнює 0,06 мл комплементу, розведеного 1:10. За повну одиницю приймають другу пробірку з повним гемолізом, у наведеному прикладі – 0,07 мл. Робоча доза комплементу дорівнює його кількості, що відповідає одній повній одиниці комплементу – при проведенні зв'язування в термостаті при 37 °С протягом однієї години, або двом повним одиницям – при проведенні зв'язування при температурі 4 °С протягом 16–20 год. У наведеному прикладі робоча доза комплементу при "гарячому" способі зв'язування дорівнює 0,07 мл, розведеного 1:10, на кожну пробірку, при холодному – 0,14 мл ($0,07 \times 2 = 0,14$). Розрахунок кількості комплементу проводять на загальну кількість пробірок у досліді.

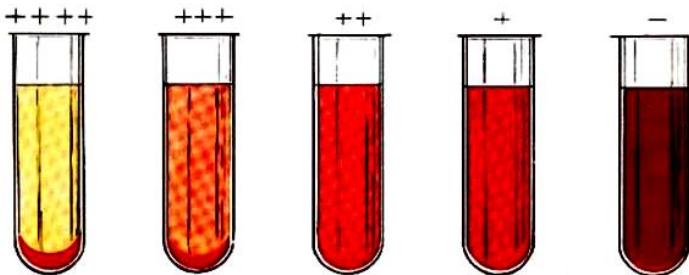


Рис. 11. Оцінка результатів РЗК.

Постановка основного досліді

Перший етап реакції. Досліджувані сироватки, попередньо інактивовані (56 °С протягом 30 хв), розводять у ряді пробірок у межах 1:10–1:320 і більше (можна починати з 1:5) фізіологічним розчином в об'ємі 0,2 мл. До різних розведень сироваток додають по 0,2 мл антигена і 0,2 мл комплементу в робочій дозі.

Кожен дослід повинен супроводжуватись такими контролями:

1) контроль усіх досліджуваних сироваток: 0,2 мл сироватки в початковому розведенні + 0,2 мл комплементу в робочій дозі + 0,2 мл фізіологічного розчину;

2) контроль антигена: 0,2 мл антигена + 0,2 мл комплементу в робочій дозі + 0,2 мл фізіологічного розчину;

3) контроль комплементу: 0,2 мл комплементу в робочій дозі + + 0,4 мл фізіологічного розчину;

4) контроль гемолітичної системи: 0,4 мл гемолітичної системи + + 0,6 мл фізіологічного розчину.

Після додавання усіх інгредієнтів суміш у пробірках старанно перемішують і поміщають у термостат при 37°С на 1 год або при "холодному зв'язуванні" – в рефрижератор при 4 °С на 16–20 год.

Другий етап реакції. У всі пробірки після одноденної експозиції в термостаті або зберігання 16–20 год у рефрижераторі додають по 0,4 мл гемолітичної системи (попередньо сенсibiliзованої протягом 30 хв у термостаті). Пробірки старанно струшують і поміщають у термостат (37 °С) на 20–30 хв – до проходження гемолізу у всіх контролях, окрім контролю гемолітичної системи.

Облік результатів проводять через одну годину витримання пробірок при кімнатній температурі. Оцінка основного досліді, як і при титруванні комплементу, полягає у визначенні ступеня затримки гемолізу в пробірках з досліджуваними сироватками порівняно з відповідними контролями, в яких виник повний гемоліз. Титром сироватки вважають максимальне розведення її, у якому спостерігається затримка гемолізу не менше ніж на 3+ при шкалі оцінки результатів на 4+.

Результати реакції вважають достовірними, якщо в контролях досліджуваних сироваток, антигену і комплементу спостерігається повний гемоліз, а в контролі гемолітичної системи гемоліз відсутній. Для контролю якості інгредієнтів і виконання реакції рекомендується паралельно ставити РЗК з явно позитивною (до її титру) та негативною сироватками. РЗК вважається позитивною з розведення сироватки 1:5–1:10. Схема проведення РЗК в об'ємі 1,0 мл наведена в *табл. 6*.

Облік результатів після витримування протягом 1 год при кімнатній температурі.

Таблиця 6

Схема постановки основного дослідження РЗК в об'ємі 1,0 мл

Інгредієнти, мл	Розведення сироватки						Контроль			
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	сироватки	антигена	комплементу	гемолітичної системи
Перший етап										
Сироватка	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2			
Антиген	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		0,2		
Комплемент	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	
Фізіологічний розчин							0,2	0,2	0,4	0,6
Інкубація протягом 1 год при 37°C										
Другий етап										
Гемолітична система	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4
Інкубація протягом 30 хв при 37°C										

Алгоритм: «Постановка реакції непрямой гемаглютинації».

Реакція непрямой гемаглютинації (РНГА) є найбільш чутливим методом для виявлення протирикетсійних специфічних антитіл у сироватці крові. Суть методу полягає в тому, що еритроцити з адсорбованим на їх поверхні рикетсійним полісахаридним гаптенем аглютинуються специфічною сироваткою. На відміну від РЗК, реакція непрямой гемаглютинації буває позитивною тільки протягом активної фази інфекції і в найближчі терміни реконвалесценції (до 6 міс), завдяки чому РНГА дозволяє диференціювати свіжі або відносно недавні форми захворювання. При клінічній діагностиці й епідеміологічних дослідженнях рекомендується застосовувати паралельно РЗК і РНГА для диференціації свіжих антитіл від анамнестичних.

У РНГА використовують такі інгредієнти: досліджувану сироватку; стерильний фізіологічний розчин; рикетсійний антиген; еритроцити барана або людини (0 (I) групи, R -).

Для постановки РНГА застосовують антиген рикетсій, яким сенсibilізують свіжі еритроцити барана (або людини) безпосередньо перед дос-

лідом або ж антигенний еритроцитарний діагностикум, який містить суспензію формалінізованих еритроцитів барана, сенсibilізованих рикетсійним антигеном.

Реакцію ставлять в об'ємі 0,5 мл у старанно вимитих і висушених стандартних полістеролових панелях з лунками або в пробірках, можна також ставити РНГА в мікротитраті в планшетах з лунками типу "U" мікротитратора Такачі.

Порядок постановки РНГА. Сироватки перед дослідженням розводять фізіологічним розчином 1:10 й інактивують при 56°C протягом 30 хв. Для адсорбції гетерогенних гемаглютининів до інактивованої сироватки додають 0,05 мл осаду відмитих еритроцитів барана (або людини) на 1 мл розведеної 1:10 сироватки. Суміш старанно перемішують і залишають на 20 хв при кімнатній температурі, періодично струшуючи її. Потім сироватку центрифугують 10 хв при 2500–3000 об./хв. Надосадову рідину відсмоктують, переносять у чисту пробірку і використовують для постановки реакції, готуючи ряд розведень у фізіологічному розчині від 1:100 до 1:12 800 і далі в об'ємі 0,4 мл.

Техніка постановки РНГА полягає в тому, що до приготованих розведень досліджуваної сироватки в об'ємі 0,4 мл додають по 0,1 мл еритроцитарного діагностикуму, тобто 1 %-ї суспензії еритроцитів, сенсibilізованих рикетсійним антигеном. Після перемішування струшуванням, пробірки або панель із сумішшю поміщають на 2–3 год в термостат (37 °C) або витримують 16–20 год при кімнатній температурі (20 °C).

Дослід повинен супроводжуватись такими контролями (*табл. 7*):

- 1) контроль досліджуваної сироватки: до 0,4 мл сироватки в початковому розведенні (1:100) додають 0,1 мл 1 %-ї суспензії несенсibilізованих еритроцитів барана (людини);
- 2) контроль еритроцитарного діагностикуму: до 0,4 мл фізіологічного розчину додають 0,1 мл діагностикуму;
- 3) контроль нативних еритроцитів, використаних для виготовлення діагностикуму: до 0,4 мл фізіологічного розчину додають 0,1 мл 1 %-ї суспензії еритроцитів барана (людини).

Паралельно з досліджуваними сироватками доцільно ставити РНГА з завідомо позитивною сироваткою відомого титру.

Для постановки РНГА досліджувану сироватку, попередньо інактивовану і виснажену формалінізованими контрольними еритроцитами, розводять в об'ємі 0,4 мл (у мікротитраті – 0,05 мл) – 1:100 і далі, додають до кожного розведення по 0,1 мл діагностикуму (у мікротитраті – 0,025 мл), і суспензію старанно перемішують. Облік результатів реакції проводять після зберігання при кімнатній температурі - відповідно 4–5 та 2–3 год. Реакція має супроводжуватись контролями: сироватки, еритроцитарного діагностикуму і обов'язково контролем позитивної тест-сироватки, що додається в комплекті діагностикуму.

Таблиця 7

Схема постановки РНГА

Інгредієнти, мл	Розведення сироватки						Контроль		
	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1 600	1:3 200	сироватки	діагностикуму	еритроцитів
Сироватка	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4		
Діагностикум (1 %-а суспензія сенсibiliзованих еритроцитів)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1		0,1	
Фізіологічний розчин								0,4	0,4
Свіжі еритроцити (1 %-а суспензія)							0,1		0,1

Облік результатів реакції проводять неозброєним оком за наявністю або відсутністю аглютинації еритроцитів (рис. 12). Реакцію вважають позитивною (оцінюють на "+"), якщо аглютиновані еритроцити збираються на дні лунки або пробірки у вигляді перевернутої парасольки з рівними або нерівними "фестончастими" краями. При струшуванні еритроцити відділяються від дна у вигляді конгломератів аглютинованих еритроцитів (рис. 13).

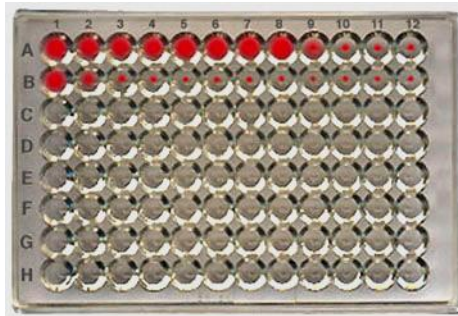


Рис. 12. Облік результатів РНГА на планшеті



Позитивний ("парасолька") Негативний ("гудзик")

Рис. 13. Інтерпретація результатів РНГА

Реакцію вважають негативною (оцінюють на "-"), якщо еритроцити осідають на дно лунки або пробірки у вигляді диска (гудзика) з чітким рівним краєм (рис. 13). При струшуванні еритроцити утворюють рівномірну гомогенну суспензію. В сумнівних випадках реакцію слід повторити. Достовірною реакція вважається при наявності негативних результатів у контролях – сироватки, діагностикуму і еритроцитів.

Титром досліджуваної сироватки вважають максимальне її розведення, яке викликає чітку аглютинацію сенсibiliзованих еритроцитів. Позитивною РНГА слід вважати з розведення 1:100, діагностичним титром – 1:1 000.

Алгоритм: *«Постановка реакції аглютинації рикетсій».*

Реакція аглютинації рикетсій (РАР) є найбільш простим і доступним методом лабораторної діагностики рикетсійних захворювань. Перевагою цього методу діагностики є мінімальна кількість компонентів реакції (досліджувана сироватка + антигенний діагностикум), що дозволяє застосовувати його в кожній лабораторії для первинної (скринінгової) діагностики. Однак РАР менш чутлива порівняно з РЗК і особливо РНГА, потребує високого ступеня очищення антигенних діагностикумів, не позбавлена певного суб'єктивізму в оцінці результатів при використанні безколірного антигена. Тому всі сироватки, котрі позитивно реагують в РАР, незалежно від титру реакції, а також з сумнівними результатами обов'язково повинні бути досліджені в РЗК і РНГА.

Для постановки РАР необхідні такі інгредієнти: досліджувана сироватка, яка має бути неінактивованою, прозорою, без ознак гемолізу та свіжою (не більше 10 днів зберігання); корпускулярний антиген – безколірний, виділений з рикетсій, культивованих у курячих ембріонах, або антиген коричневого кольору з рикетсій Провачека, культивованих за методом Вейгля; стерильний фізіологічний розчин.

Дозволяється застосовувати дві модифікації постановки РАР у макроваріанті: об'ємний – в об'ємі 0,4 мл і крапельний, запропонований Г. С. Мосінгом, у загальному об'ємі 6 крапель. У крапельному варіанті постановки РАР використовують антиген рикетсій, культивованих за методом Вейгля, з природним забарвленням коричневого кольору, що дозволяє більш об'єктивно оцінювати результати реакції, ніж при застосуванні незабарвленого антигена з яєчних культур рикетсій з курячих ембріонів.

При об'ємному способі постановки РАР досліджувану сироватку розводять фізіологічним розчином у ряді пробірок в об'ємі 0,2 мл, починаючи з 1:5. До різних розведень сироватки додають по 0,2 мл антигену, таким чином розводячи сироватку ще в два рази. Дослід супроводжують контролями: сироватки – 0,2 мл сироватки в розведенні 1:5+0,2 мл фізіологічного розчину; антигену – 0,2 мл фізіологічного розчину + 0,2 мл антигену. Штатив з пробірками поміщають у термостат (37 °С) на 18–20 год. Облік результатів проводять через 2–3 год зберігання при кімнатній температурі.

При крапельному способі постановки РАР у ряд спеціальних пробірок місткістю 0,8–1,0 мл додають фізіологічний розчин: у першу – 4 краплі, в решту по 3 краплі. Потім у першу пробірку додають 1 краплю сироватки, старанно перемішують, одержуючи розведення 1:5. Шляхом переносу по 3 краплі розведеної сироватки з першої пробірки в другу,

з другої – в третю і так далі до шостої одержують ряд розведень сироватки в об'ємі 3 крапель (у першій пробірці в об'ємі 2 крапель). До сироватки в різних розведеннях додають по 3 краплі антигену (у першу пробірку – 2 краплі), одержуючи розведення сироватки ще в 2 рази: 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320.

Для контролю сироватки роблять розведення її фізіологічним розчином 1:10. Для контролю антигену до 3 крапель фізіологічного розчину додають 3 краплі препарату. Штатив з рядом пробірок струшують для змішування реагентів і поміщають в термостат (37 °С) на 18–22 год. Після термостата пробірки витримують 2–3 год при кімнатній температурі, не струшуючи їх, щоб не зруйнувати нижній аглютинат рикетсій на дні пробірок. Реакцію читають без аглютиноскопа. При позитивній реакції на дні пробірки утворюється темно-коричневий осад у вигляді перевернутої парасольки. Характер аглютинації рикетсій дрібнозернистий.

Облік результатів. Ступінь аглютинації рикетсій оцінюють за триплюсовою шкалою:

- повне просвітлення надосадової рідини і чіткий осад на дні пробірок позначають трьома плюсами (3+);
- неповне просвітлення надосадової рідини при наявності чіткого осаду позначають двома плюсами (2+);
- незначне просвітлення надосадової рідини і слабковиражений осад оцінюють одним плюсом (1+).

При визначенні титру реакції враховують результати на три і на два плюси.

Облік результатів при постановці реакції об'ємним способом проводять таким самим чином; на дні пробірки спостерігається безколірний аглютинат (*рис. 14*).

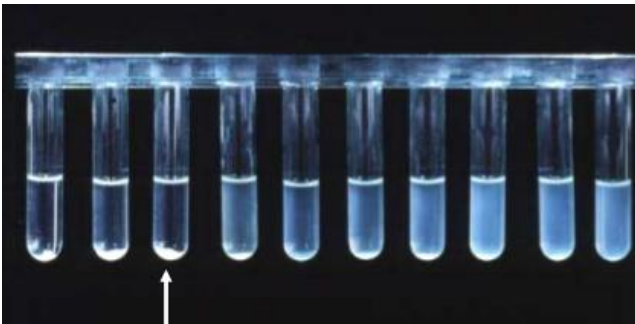


Рис. 14. Облік результатів об'ємної РАР

Алгоритм: «Постановка непрямого методу флуоресціюючих антитіл (нМФА)».

Метод флуоресціюючих антитіл (МФА) відноситься до експресних методів діагностики. Він поєднує в собі високу специфічність імунологічного та високу чутливість люмінесцентного методів. Стосовно рикетсійних інфекцій, МФА використовують для ідентифікації специфічних антигенів і антитіл. У практичних умовах застосовують прямий і непрямий МФА з диференціюючими кон'югатами на основі специфічних імуноглобулінів (сироваток).

Для діагностики рикетсійних захворювань на основі виявлення специфічних антитіл у крові хворих і перехворілих людей (або тварин) необхідно використовувати непрямий метод флуоресціюючих антитіл (нМФА). Одночасно можна проводити диференціацію класів імуноглобулінів, тому нМФА може застосовуватись для діагностики свіжих і анамнестичних антитіл. Для індикації збудника (антигена) можуть бути використані як прямий, так і непрямий варіанти МФА. Цей метод діагностики більш складний порівняно з пробірочними серологічними тестами, потребує використання спеціальних інгредієнтів і обладнання, у тому числі люмінесцентного мікроскопа, та відповідного досвіду роботи.

Інгредієнти і обладнання, необхідні для постановки МФА

- Рикетсійні корпускулярні антигени або готові слайди антигенів на предметних скельцях.

- Специфічні імунні сироватки проти рикетсій (людини і лабораторних тварин).

- Люмінесціюючі специфічні сироватки проти рикетсій, мічені флуоресцеїн-5-ізотіоціанатом (ФІТЦ).

- Люмінесціюючі антивидові сироватки проти імуноглобулінів людини та різних тварин, мічені ФІТЦ.

- Бичачий альбумін, мічений родаміном.

- Забуферений фізіологічний розчин рН 7,2–7,4.

- Спирт 96 %.

- Ацетон.

- Етиловий ефір (суміш Нікіфорова).

- Дистильована вода.

- Люмінесцентний мікроскоп.

- Предметні скельця, чашки Петрі, фільтрувальний папір.

Етапи проведення нМФА:

1-й. Підготовка антигена. Для нМФА використовують корпускулярні антигени рикетсій. В ампулу з сухим антигеном за день до приготування додають 1 мл дистильованої води з метою насичення корпускул рикетсій вологою. Наступного дня з цього основного розведення готують робоче розведення в фізіологічному розчині, щоб у мазку з такого розведення

антигена виявлялось орієнтовно 100–200 рикетсійних корпускул у полі зору мікроскопа; мазки досліджують прямим методом флуоресціюючих антитіл.

На предметні скельця, старанно вимиті та знежирені в суміші Нікіфорова, наносять невеликі краплі антигена у відповідному робочому розведенні. На кожне скло наносять 8 крапель. Такої кількості крапель достатньо для дослідження 1–2 сироваток. Мазки добре висушують на повітрі, фіксують протягом 20 хв спиртом або ацетоном і зберігають до використання при температурі від 0 до 4 °С. Препарати необхідно оберігати від вологи. Такі мазки придатні для роботи протягом місяця.

Перед використанням антигенних слайдів кожну пляму антигена обводять восковим олівцем, щоб створити орієнтир для мікроскопування і бар'єр-перепону розтіканню досліджуваної сироватки та флуоресціюючого антивидового кон'югата.

2-й. Створення системи специфічного комплексу антиген + антитіло з досліджуваною сироваткою. Досліджувані сироватки, попередньо інактивовані протягом 30 хв. при температурі 56 °С, розводять у фізіологічному розчині дворазово – від 1:10 до 1:80, а при необхідності і більше.

Краплі із відповідних розведень сироватки наносять піпеткою у зворотному напрямку на плями антигену і витримують 45 хв у зволоженій камері (чашка Петрі зі зволеним дном) у термостаті при 37 °С. Потім препарат промивають фосфатним буферним розчином (РН 7,2–7,4) протягом 10 хв і висушують на повітрі. При наявності антитіл у досліджуваній сироватці утворюється специфічний комплекс антиген + антитіло.

3-й. Ідентифікація специфічного комплексу флуоресціюючим кон'югатом. Після висушування на мазки наносять по краплі антивидовий (відповідно досліджуваній сироватці) люмінесціюючий імуноглобулін (сироватку) в робочому розведенні (згідно з даними на етикетці ампули). Мазки знову витримують у зволоженій камері 30 хв при температурі 37 °С.

Як антивидові кон'югати використовують люмінесціюючі сироватки проти гамма-глобулінів людини, кроля, морської свинки, барана та інші – відповідно до видової належності досліджуваних сироваток. Для гасіння неспецифічного свічення необхідно застосовувати бичачий альбумін, мічений родаміном, або 0,1 %-й розчин Еванса, які змішують з антивидовою люмінесціюючою сироваткою в рівних об'ємах з розрахунком, щоб при змішуванні мати робочі дози інгредієнтів.

Після інкубації препарати промивають у двох порціях фосфатного буферного розчину протягом 10 хв, споліскують дистильованою водою і висушують на повітрі.

Для контролю в кожному досліді вводять пробу з позитивною і негативною сироватками, а також контроль антивидової люмінесціюючої сироватки, у якому на пляму антигена наносять тільки флуоресціюючий кон'югат.

Облік результатів реакції. Препарати досліджують в люмінесцентному мікроскопі: об'єктив 90×, окуляр 10× або 7×. Використовують фільтри для препаратів, оброблених кон'югатами флуоресцеїн-5-ізотіоціаната (ФІТЦ): первинні світлофільтри для МЛ-2: ФС 1–4; СЗС 7–2; БС 8–2; окулярний – зелений; для ЛЮМАМ: ФС 1–4; СЗС 21–2; ФС 1–6; окулярний зелений.

Проглядають не менше 10–20 полів зору. Оцінку результатів реакції проводять відповідно до яскравості флуоресценції рикетсійних корпускул і їх морфології, використовуючи умовну шкалу визначення за допомогою плюсів:

«4+» – яскрава, виблискуюча флуоресценція; виразна;

«3+» – яскрава флуоресценція з характерним зеленим забарвленням; морфологія рикетсій виявляється чітко, у окремо відокремлених корпускул проявляються чіткі ободки за рахунок більш яскравого свічення комплексу антитіл з поверхневим антигеном;

«2+» – флуоресценція слабка, морфологія клітин і колір люмінесценції виявляється досить чітко;

«1+» – флуоресценція дуже слабка, морфологія рикетсій розрізняється погано, колір не визначений;

«–» – флуоресценція відсутня.

За титр сироватки приймають максимальне її розведення, котре обумовлює свічення рикетсій на «2+» при наявності свічення «3+» або «4+» в попередньому розведенні.

Достовірно вважається реакція при відсутності свічення рикетсій в мазку антигену, обробленому лише флуоресціюючою антивидовою сироваткою в робочому розведенні, а також при відповідних результатах з позитивною і негативною сироватками.

Алгоритм: *«Індикація та ідентифікація збудників рикетсійних захворювань».*

Методи діагностики збудників передбачають індикацію та ідентифікацію патогенних рикетсій у біологічних субстратах від хворої людини або тварин, а також в переносниках, органах дрібних ссавців, заражених експериментальних тварин та об'єктах довкілля.

Класичні методи виявлення та ідентифікації збудників рикетсійних захворювань шляхом зараження лабораторних тварин (морських свинок, білих мишей), курячих ембріонів, лабораторних культур вошей дефібрированою кров'ю або суспензією зі згустків крові хворого, внутрішніх органів диких тварин, переносників (вошей, кліщів) та інших є високоспецифічними і чутливими. Через значну трудомісткість та необхідність наявності спеціальних умов для роботи з рикетсіями II групи патогенності біологічні проби не можуть бути застосовані в практичних лабораторіях.

У лабораторіях використовують експресні методи діагностики збудників рикетсійних захворювань: метод флуоресціюючих антитіл (прямий і непрямий варіанти), реакцію непрямой гемаглютинації з імуноглобуліновим еритроцитарним діагностикумом та модифікацію РНГА з антигенним еритроцитарним діагностикумом – реакцію нейтралізації антитіл (РНАТ). При проведенні діагностичних досліджень біологічного матеріалу в експресних методах доцільно, по можливості, використовувати одночасно прямий або непрямий варіант МФА та один із варіантів РНГА.

Метод флуоресціюючих антитіл (МФА) використовують для виявлення рикетсійних антигенів у біологічних субстратах і об'єктах оточуючого середовища. Можна досліджувати: мазки крові (краще з суспензії згустку крові), мазки-відбитки внутрішніх органів дрібних ссавців, плаценти тварин, мазки з кишечника вошей, кліщів або суспензії з них та ін.

Порядок постановки МФА такий. На старанно вимитому та знежиреному предметному склі роблять тонкі мазки або відбитки досліджуваного матеріалу. Після висихання мазки фіксують етиловим спиртом або ацетоном протягом 30 хв. На мазку синім восковим олівцем роблять кола (залежно від кількості досліджуваних антигенів) діаметром 0,5 см, щоб створити перепону розтіканню люмінесціюючої сироватки.

У прямому варіанті МФА на відзначені олівцем поля фіксованих і висушених мазків наносять по краплі розведених люмінесціюючих сироваток проти пошукованих антигенів рикетсій. Розведені сироватки попередньо змішують у рівних об'ємах з бичачим альбуміном, міченим родаміном, з розрахунку, щоб у суміші інгредієнти були в робочому розведенні, вказаному на етикетках ампул. Бичачий альбумін, мічений родаміном, застосовують для гасіння неспецифічного свічення.

На одне (контрольне) поле мазка наносять гетерологічну люмінесціюючу сироватку в суміші з бичачим альбуміном. Мазки у зволоженій камері (чашці Петрі), для попередження висихання кон'югата, поміщають на 30 хв у термостат (37 °С). Після інкубації мазки промивають протягом 10 хв у фосфатному буферному розчині (рН 7,2–7,4) для видалення залишків флуоресціюючих сироваток. Після споліскування дистильованою водою препарати висушують на повітрі і досліджують в люмінесцентному мікроскопі (об'єктив 90×, окуляр 10× або 7×), використовуючи фільтри для препаратів, оброблених кон'югатами з флуоресцеїн-5-ізотіоціанатом. У мазках виявляються рикетсії у вигляді яскраво флуоресціюючих кокобацилярних корпускул зеленого кольору (*рис. 15*).

Облік результатів проводять за умовною 4-плюсовою шкалою. Результат оцінюють як позитивний при виявленні в окремих полях зору не менше 5 рикетсій з інтенсивним свіченням збудника не менше, ніж на 3+, при негативному контролі.

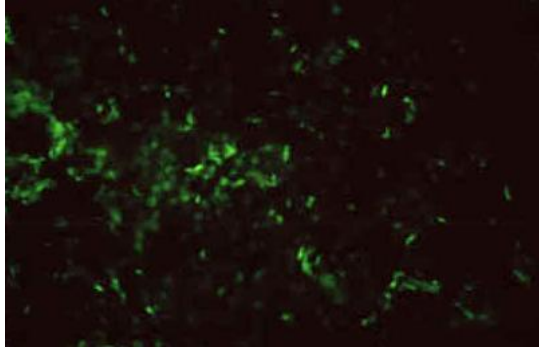


Рис. 15. Позитивний результат МФА при виявленні рикетсій

У непрямому варіанті МФА на відзначені олівцем поля фіксованих і висушених мазків наносять по краплі специфічні нефлуоресціюючі (нативні) сироватки лабораторних тварин (наприклад, кроля або морської свинки) проти рикетсійних антигенів у чотирикратному титрі (титр сироватки вказано на етикетці ампули або визначають безпосередньо в РЗК; наприклад, при титрі 1:320 беруть розведення 1:80). Один мазок залишають для контролю. Мазки у зволоженій камері (чашці Петрі) поміщають на 45 хв у термостат (37 °С). Потім мазки промивають фосфатним буферним розчином (рН 7,2–7,4) протягом 10 хв і висушують на повітрі.

Після висушування на мазки наносять антивидовий (відповідно до використаної специфічної сироватки) люмінесціюючий гамма-глобулін (сироватку) в робочому розведенні (умови розведення позначені на етикетці ампули). Мазки у зволоженій камері зберігають 30 хв при температурі 37 °С. Для гасіння неспецифічної флуоресценції до антивидового гамма-глобуліну (сироватки) додають у рівних співвідношеннях бичачий альбумін, мічений родаміном. Після експозиції препарати промивають у двох порціях фосфатного буферного розчину протягом 10 хв, споліскують дистильованою водою, просушують на повітрі і мікроскопують в люмінесцентному мікроскопі.

Як позитивний і негативний контроль необхідно вводити в дослід контроль відомих антигенів, а також контроль люмінесціюючої антивидової сироватки, у якому на одне поле досліджуваного мазка наносять тільки антивидовий люмінесціюючий гамма-глобулін (сироватку).

Оцінку результатів мікроскопії проводять, як і в прямому методі, за 4-плюсовою шкалою.

МФА в непрямому варіанті для виявлення та ідентифікації рикетсій необхідно використовувати нарівні з прямим варіантом у випадках відсутності специфічних люмінесціюючих сироваток проти окремих видів рикетсій для прямого методу (наприклад, волинської гарячки) або при інших обставинах.

Реакція непрямой гемаглютинації з імуноглобуліновим рикетсійним еритроцитарним діагностиком. РНГА з імуноглобуліновим еритроцитарним діагностиком призначена для виявлення й ідентифікації рикетсійних антигенів у матеріалах різного біологічного походження: заражених вошах, кліщах, внутрішніх органах інфікованих тварин, курячих ембріонах та в об'єктах оточуючого середовища. Рекомендується застосовувати метод при відсутності умов для діагностики збудників методом флуоресціюючих антитіл або паралельно з МФА.

Дослідження невідомого біологічного матеріалу необхідно проводити після попередньої інактивації його протягом 30 хв при температурі 56 °С. Робота з неінактивованим матеріалом потребує дотримання проти-епідемічного режиму роботи з матеріалом, зараженим або підозрілим на зараження збудниками інфекційних захворювань I та II груп патогенності.

Порядок постановки реакції. Готують для дослідження в РНГА суспензію на фізіологічному розчині. Кліщів однієї партії розтирають у фарфоровій ступці з розрахунку 1 мл фізіологічного розчину на 50 кліщів. Суспензію центрифугують протягом 10 хв при 1000 об./хв. Надосадову рідину досліджують в РНГА.

Вошей при необхідності препарують і досліджують окремо кожен, готуючи з відпрепарованих кишечників суспензію в 1,5 мл фізіологічного розчину. При неможливості відпрепарувати кожен вошу, їх розтирають по 10–15 шт у фарфоровій ступці в 1,5 мл фізіологічного розчину. Після центрифугування протягом 10 хв при 1000 об./хв надосадову рідину досліджують в РНГА. Внутрішні органи тварин або жовткові оболонки курячих ембріонів також розтирають у фарфоровій ступці для одержання 10 %-ї суспензії у фізіологічному розчині, потім центрифугують протягом 10 хв при 1000 об./хв, надосадову рідину використовують для дослідження в РНГА.

Виготовлену, очищену та інактивовану суспензію біологічних субстратів розводять фізіологічним розчином з формаліном, починаючи з 1:2–1:4 до 1:32–1:64, у пробірках або лунках стандартних полістеролових панелей в об'ємі 0,4 мл. До розведень суспензії додають по 0,1 мл еритроцитарного імуноглобулінового діагностикому. Сухий еритроцитарний діагностиком розводять фізіологічним розчином з формаліном в об'ємі, вказаному на етикетці ампули, і старанно струшують до одержання рівномірної суспензії еритроцитів. Панелі або пробірки з реагентами струшують і залишають при кімнатній температурі на 4–5 год або до наступного дня, після чого проводять облік результату.

Реакція повинна супроводжуватись контролями:

1. Контроль досліджуваного матеріалу на відсутність неспецифічних результатів постановкою реакції гальмування непрямой гемаглютинації (РГНГА). Для цього готують послідовні розведення досліджуваного матеріалу, як і для РНГА. У кожену пробірку (лунку) додають по 0,05 мл 0,1 % розчину специфічного імуноглобуліну (або гомологічну сироватку

для РНГА в розведенні 1:40) і після експозиції протягом 15 хв при кімнатній температурі додають по 0,1 мл еритроцитарного діагностикому.

2. Контроль еритроцитарного діагностикому на відсутність спонтанної аглютинації еритроцитів: у 2 пробірки (лунки) з 0,4 мл формалінізованого фізіологічного розчину додають по 0,1 мл еритроцитарного діагностикому.

3. Контроль імуноглобуліну (використаної сироватки): до 0,4 мл фізіологічного розчину з формаліном додають 0,05 мл 0,1 % розчину імуноглобуліну або сироватки в розведенні 1:40.

Облік результатів проводять за наявністю або відсутністю аглютинації еритроцитів. При позитивному результаті ("+") аглютинат еритроцитів вистилає дно пробірки (лунки) у формі перевернутої парасольки, з тонким, нерівним краєм ("фестончастим"). При негативному результаті ("–") еритроцити осідають у вигляді диска або компактного кільця з чітким рівним краєм. У випадках, коли на фоні рівномірно аглютинованих еритроцитів утворюється кільце з осаду неаглютинованих еритроцитів, результат оцінюється як сумнівний. Реакцію необхідно повторити.

Достовірний висновок РНГА про наявність специфічного антигена в досліджуваному матеріалі можна зробити за таких умов:

- спостерігається чітка аглютинація діагностикому з досліджуваним матеріалом у розведенні 1:2 і більше;
- у РГНГА спостерігається зниження титру специфічного антигена в досліджуваному матеріалі не менш ніж у 8 разів порівняно з РНГА;
- в контролях 2 та 3 спостерігаються негативні результати.

Для більш об'єктивного контролю реакції рекомендується також вводити в дослід контрольну постановку РНГА з відомим комерційним антигеном (для РАР або РЗК), специфічним до імуноглобулінового еритроцитарного діагностикому. Для цього сухий антиген розводять фізіологічним розчином, з нього готують ряд розведень у фізіологічному розчині з формаліном – від 1:2 до 1:256 в об'ємі 0,4 мл і до кожного розведення додають по 0,1 мл еритроцитарного імуноглобулінового діагностикому. Позитивні результати РНГА мають бути в розведенні специфічного антигену не менше 1:16.

РНГА з імуноглобуліновим еритроцитарним діагностикомом можна ставити також у мікроваріанті, використовуючи пластини з лунками для мікросерологічних реакцій. У такому випадку використовують 0,5 %-у суспензію сенсibiliзованих еритроцитів (відповідно до позначень на етикетці ампули); досліджувану суспензію розводять в об'ємі 0,05 мл, і діагностиком додають по 0,025 мл; у РГНГА для контролю до досліджуваної суспензії додають 0,025 мл 0,1 % розчину специфічного імуноглобуліну або специфічної сироватки (1:40), інші контролю також проводять у відповідному об'ємі.

Реакція нейтралізації антитіл. Для діагностики рикетсійних антигенів застосовують модифікацію РНГА – реакцію нейтралізації антитіл (РНГАТ). Реакція, у постановці якої використовують антигенний еритроцитарний діагностикум для РНГА, оснований на нейтралізації специфічних антитіл тест-сироватки антигеном рикетсій у досліджуваному матеріалі, внаслідок чого робоча доза тест-сироватки втрачає здатність викликати феномен специфічної аглютинації сенсibilізованих еритроцитів.

Для постановки РНГАТ використовують антигенний еритроцитарний діагностикум для РНГА (свіжосенсibilізованих або на основі формалізованих еритроцитів) та специфічну тест-сироватку РНГА.

Перед постановкою основного дослідження визначають робочу дозу тест-сироватки, що додається до еритроцитарного діагностикуму. Для цього сироватку титрують в РНГА, розводячи її з 1:50 до 1:1000 в об'ємі 0,2 мл. До розведень сироватки додають по 0,2 мл фізіологічного розчину і 0,1 мл еритроцитарного діагностикуму. За результатами обліку РНГА визначають титр сироватки або одну гемаглютинуючу одиницю (ГАО). У досліді використовують дві гемаглютинуючі одиниці, тобто розведення сироватки, в 2 рази менше її титру.

Реакцію ставлять у пробірках або лунках стандартних полістеролових панелей. Досліджувану суспензію, попередньо інактивовану, розводять фізіологічним розчином, починаючи з 1:2 і далі – до 1:64, в об'ємі 0,2 мл. До розведеної суспензії додають по 0,2 мл тест-сироватки в подвійному титрі (2 аглютинуючі одиниці) і залишають на 30 хв при кімнатній температурі (20–22 °С). Через 30 хв в усі пробірки додають по 0,1 мл антигенного еритроцитарного діагностикуму. Після утримання в термостаті (37 °С) протягом 2–3 год або при кімнатній температурі (20–22 °С) 16–20 год враховують результати реакції.

Основний дослід РНГАТ супроводжується контролями:

- 1) контроль еритроцитарного діагностикуму: до 0,4 мл фізіологічного розчину додають 0,1 мл еритроцитарного діагностикуму;
- 2) контроль досліджуваного антигену: до 0,2 мл суспензії додають 0,2 мл фізіологічного розчину та 0,1 мл еритроцитарного діагностикуму;
- 3) контроль робочої дози тест-сироватки: у дві пробірки (лунки) до 0,2 мл фізіологічного розчину додають 0,2 мл тест-сироватки – з однією та двома робочими дозами антитіл (аглютинуючими одиницями) та 0,1 мл еритроцитарного діагностикуму.

Результат реакції оцінюють за наявністю або відсутністю феномена гемаглютинації, так само, як і при постановці РНГА з відповідним еритроцитарним діагностикумом. Однак інтерпретація результатів РНГАТ протилежна інтерпретації РНГА. Позитивною РНГАТ вважається у випадку відсутності аглютинації сенсibilізованих еритроцитів і негативною – при наявності чіткої аглютинації сенсibilізованих еритроцитів.

Титром антигену в досліджуваній суспензії вважають максимальне його розведення, яке обумовлює нейтралізацію антитіл двох гемаглютинуючих одиниць тест-сироватки.

Достовірною РНАТ вважається при умові відсутності гемаглютинації в контролі еритроцитарного діагностикуму і досліджуваного антигену та позитивних результатах РНГА в контролі тест-сироватки.

Діагностика рикетсіозів групи висипного тифу

Для лабораторної діагностики рикетсіозів групи висипного тифу: епідемічного (вошивого) висипного тифу і його рецидивної форми – хвороби Брилла та ендемічного (щурячого) висипного тифу необхідно застосовувати лабораторні тести: реакцію зв'язування комплементу (РЗК); реакцію непрямой гемаглютинації (РНГА); реакцію аглютинації рикетсій (РАР); непрямий метод флуоресціюючих антитіл (нМФА).

Реакцію зв'язування комплементу вважають основним методом лабораторної діагностики рикетсіозів групи висипного тифу, оскільки вона ефективна для поточної і ретроспективної діагностики та внутрішньогрупової диференціації збудників. Комплементзв'язуючі антитіла в крові зберігаються десятиріччями після перенесення висипнотифозної інфекції, тому РЗК, як і нМФА, використовують в епідеміологічних дослідженнях для пошуку джерел інфекції і вивчення імунологічної структури населення. Для виявлення активних форм інфекції діагностичний титр РЗК становить 1:160, при ретроспективній діагностиці реакцію враховують з розведення сироватки 1:10.

Реакція непрямой гемаглютинації у хворих на висипний тиф (хворобу Брилла) визначається, як правило, у високих титрах: 1:1 000–1:25 600 і вище. Реакція специфічна при розведенні сироватки 1:100, діагностичний титр її дорівнює 1:1000. На відміну від РЗК, РНГА буває позитивною тільки протягом активної фази висипнотифозної інфекції і в найближчі строки реконвалесценції (до 6 міс). Це дозволяє використовувати РНГА для диференціації свіжих антитіл від анамнестичних, що визначаються в РЗК.

Реакція аглютинації рикетсій є найпростішим методом діагностики висипного тифу (хвороби Брилла). РАР буває позитивною при свіжих формах інфекції. Після перенесеного захворювання зберігається протягом року, інколи більше, тільки в невисоких титрах (1:10–1:20).

Непрямий метод флуоресціюючих антитіл при висипнотифозній інфекції є більш чутливим порівняно з РЗК: вже на першому тижні визначається в титрах 1:320–1:2 560, на 10–15-у добу – 1:2 560–1:10 240. Багаторічний досвід застосування нМФА при висипному тифі дає підставу рекомендувати цей універсальний і перспективний метод усім лабораторіям, у яких є умови для постановки реакції – для верифікації гострих форм інфекції, ретроспективної діагностики і диференціації класів специфічних імуноглобулінів.

За даними Українського центру з рикетсіозів, специфічні антитіла проти рикетсій Провачека у хворих на висипний тиф (хворобу Брилла) починають виявлятися уже в кінці першого (5–7-а доба) і на початку другого тижня захворювання. У невисоких титрах антитіла визначались: у РЗК (1:10–1:80) – у 32,1 % випадків, РНГА (1:100–1:400) – у 30,1 %, РАР (1:5–1:20) – у 28,9 % випадків. У середніх титрах антитіла виявлялись: у РЗК (1:160–1:640) – у 46,1 % випадків; РНГА (1:800–1:3200) – 46,1 %; РАР (1:40–1:80) – 42,7 % випадків. Частина сироваток уже в цей період захворювання реагувала у високих титрах: у РЗК – 1:1280–5120, РНГА – 1:6 400–1:26 500, РАР – 1:160–1:320. У кінці 2-го і на початку 3-го тижня захворювання спостерігалось зростання титрів антитіл у всіх серологічних реакціях. Комплементзв'язуючі антитіла визначались майже у всіх хворих у титрах 1:640–1:1280, гемаглютиніни – 1:1 600–1:25 600, аглютиніни – 1:160–1:320.

Таким чином, у хворих на висипний тиф (хворобу Брилла) специфічні антитіла у всіх серологічних тестах виявляються майже в однакові терміни від початку захворювання (наприкінці першого тижня), але найбільш високими бувають у РНГА. Характерно більш раннє (на 1–2-у добу) виявлення антитіл у хворих на рецидивну форму висипного тифу (хворобу Брилла) порівняно з хворими на епідемічний висипний тиф. У динаміці хвороби титри антитіл підвищуються, досягаючи максимуму в кінці другого тижня (14–15-а доба). Для РНГА характерне швидке підвищення титрів у період розпаду хвороби і відносно швидкий спад їх у період реконвалесценції. Інші серологічні реакції характеризуються відносно помірним підвищенням і помірним зниженням у період реконвалесценції, при цьому РЗК та нМФА в низьких титрах (1:10–1:40–1:80) зберігаються багато років і навіть десятиліть.

Серологічні реакції з рикетсійними антигенами бувають позитивними не тільки при типових формах висипного тифу, але й атипових і стертих, коли за клінічними даними діагностувати рикетсіоз неможливо. При цьому антитіла, незалежно від клінічної форми, виявляються в кінці першого тижня захворювання.

При серологічній діагностиці висипного тифу необхідно проводити повторні дослідження сироваток крові хворого, щоб прослідкувати динаміку утворення антитіл: звичайно, на 6–7-й день хвороби, повторно – через 3–5 днів. При такому динамічному дослідженні особливе значення мають не стільки абсолютні значення титрів серологічних реакцій, скільки їх зміни в напрямку підвищення або зменшення. Випадки одноразового виявлення антитіл у діагностичних титрах можуть бути свідченням наявності висипнотифозної інфекції.

У деяких хворих спостерігається "випадіння" окремих серологічних реакцій. Тому необхідно досліджувати сироватки у двох серологічних реакціях одночасно, наприклад, у РАР або РЗК і РНГА. Поєднання РЗК

і РНГА дозволяє, поряд з виявленням, проводити диференціацію свіжих антитіл від анамнестичних, що надзвичайно важливо для клінічної і ретроспективної діагностики. Об'єктивні дані щодо диференціації антитіл можна одержати також дослідженням сироватки в нМФА з визначенням класів специфічних імуноглобулінів.

Слід враховувати, що при застосуванні в ранні строки хвороби антибіотиків широкого спектра дії (тетрациклінів, рифампіцину) може спостерігатись не тільки зниження титрів серологічних реакцій, а й запізнення їх появи.

Обстеженню на висипний тиф підлягають:

– усі хворі, яким клінічно ставиться діагноз висипного тифу або хвороби Брилла;

– хворі, у яких гарячка триває більше 5 діб (незалежно від віку) і клінічно не може бути виключений діагноз висипного тифу (грип, тифо-паратифозні захворювання, пневмонія, менінгоенцефаліт, менінгіт та ін.); при цьому необхідно мати на увазі, що наявність анамнестичних даних про перенесення в минулому епідемічної форми висипного тифу (так звана група ризику);

– провізорно госпіталізовані хворі з підозрою на наявність висипного тифу;

– особи, що спілкувались з хворими на висипний тиф, – для виявлення джерела інфекції.

Досвід показує, що загальна кількість серологічних досліджень названих вище контингентів хворих становить 0,2–0,3 % загальної кількості населення регіону, може вважатись достатньою для виявлення усіх випадків висипнотифозної інфекції.

Диференціація епідемічної форми висипного тифу та хвороби Брилла (первинна і повторна висипнотифозна інфекція) проводиться на основі визначення у хворих класів специфічних імуноглобулінів (IgG та IgM) у нМФА із застосуванням антивидових проти IgG та IgM флуоресціюючих глобулінів (сироваток). При первинній інфекції спостерігається утворення спочатку макроглобулінів IgM, а пізніше мікроглобулінів IgG. При повторній інфекції (хворобі Брилла) вже на початку антитілоутворення спостерігається інтенсивне формування мікроглобулінів IgG.

Однак наявність специфічних макроглобулінів IgM не завжди свідчить про епідемічну форму висипного тифу, особливо у хворих, які давно перенесли висипнотифозну хворобу. Виявлення специфічних імуноглобулінів IgG може бути характерним для хвороби Брилла тільки протягом перших трьох тижнів хвороби (до 19-го дня), оскільки і при первинній інфекції в пізніші строки спостерігається формування імуноглобулінів класу G.

Як допоміжний метод диференціації первинної і повторної висипнотифозної інфекції використовують реакцію Вейль–Фелікса з протеем ОХ19. При епідемічній формі висипного тифу ця реакція буває позитив-

ною у високих титрах, при рецидивній формі – негативною або позитивною у низьких титрах. Для постановки реакції перевагу слід віддавати використанню живої культури протей ОХ19.

Внутрішньогрупова серологічна диференціація епідемічного і ендемічного висипного тифу основана на визначенні у хворого комплементзв'язуючих антитіл до двох антигенів – рикетсій Провачека і рикетсій Музера. Діагноз ендемічного висипного тифу ставиться при перевищенні титру РЗК досліджуваної сироватки з антигеном рикетсій Музера порівняно з титром даної сироватки відносно антигена рикетсій Провачека в 2–4–8 і більше разів. Діагностичний титр РЗК з антигеном рикетсій Музера – 1:160. У реакції мають використовуватись антигенні препарати однакової активності (2 або 4 антигенні одиниці) і дослід повинен супроводжуватись контрольною РЗК зі стандартними сироватками проти двох антигенів.

Діагностика гарячки Ку

Для лабораторної діагностики гарячки Ку необхідно застосовувати реакцію зв'язування комплементу і непрямий метод флуоресціюючих антитіл; а також реакція аглютинації. Ці серологічні тести ефективні для діагностики гострих та хронічних форм гарячки Ку в людей, ретроспективної діагностики, виявлення інфекції у сільськогосподарських тварин, а також для серологічних досліджень в ендемічних вогнищах та вивчення інших питань епідемічного нагляду.

Реакція аглютинації вважається чутливою і специфічною при гарячці Ку. За допомогою цього методу можна виявляти свіжі захворювання, оскільки більш ніж у половини хворих аглютиніни з'являються уже наприкінці 1-го тижня, а протягом 2-го тижня – у всіх хворих. Через 3 міс від початку хвороби титри аглютинінів зменшуються в декілька разів, а через рік визначаються лише в окремих хворих. Запропоновано різні модифікації реакції аглютинації при гарячці Ку (макро- і мікрорізанти, з забарвленням або люмінесціюючим антигеном та інші). Однак для постановки реакції аглютинації необхідно мати високоочищені антигенні препарати з коксіел Бернета, оскільки при використанні звичайних корпускулярних антигенів можливі нечіткі та неспецифічні результати.

Для постановки реакції зв'язування комплементу та непрямого методу флуоресціюючих антитіл використовують корпускулярні антигени, одержані з коксіел Бернета з урахуванням їх фазового стану: II фази (глибинний) та I фази (поверхневий). Це дозволяє виявляти специфічні антитіла, характерні для гострої та хронічної форм гарячки Ку, оцінювати ефективність лікування і прогнозувати перебіг хвороби.

Первинну лабораторну діагностику гарячки Ку слід проводити з використанням антигена коксіел Бернета II фази. Комплементзв'язуючі антитіла в крові до коксіел II фази в титрах 1:40–1:320, а іноді і вище, виявляються з 2-го тижня хвороби у 65–70 % хворих, на 3-му тижні –

у 97 %, в окремих хворих антитіла виявляються після 21-ї доби і пізніше. Специфічні антитіла до антигену коксіел Бернета II фази виявляються в усі періоди хвороби. Після перенесеної інфекції анамнестичні антитіла в низьких титрах (1:10–1:20), як і при інших рикетсіозах, зберігаються протягом років (10 років і більше).

Комплементзв'язуючі антитіла до коксіел Бернета фази I формуються лише після 30-го дня від початку хвороби і тестуються протягом одного року, інколи до 2–3 років. При гострій формі гарячки Ку висота титрів антитіл до I фази збудника завжди менша, ніж до II фази, а при хронічній формі, навпаки, титри цих антитіл вищі або тотожні II фази. Виявлення комплементзв'язуючих антитіл до коксіел Бернета I фази у високих титрах може свідчити про наявність хронічної Ку-рикетсійної інфекції і потребує додаткових досліджень з визначенням класів імуноглобулінів.

Висота титрів комплементзв'язуючих антитіл при гарячці Ку характеризуються значними коливаннями (від 1:10 до 1:2 560) і залежить від важкості клінічного перебігу хвороби. Однак, при повторних дослідженнях сироватки хворого з інтервалом 10–12 днів спостерігається динаміка зростання їх рівня (в 2–4 рази і більше), що є підтвердженням діагнозу. При застосуванні антибіотиків етіотропної дії в ранній період хвороби, як і при інших рикетсіозах, може спостерігатись затримка утворення антитіл.

У непрямому методі флуоресціюючих антитіл специфічні антитіла до коксіел Бернета визначаються дещо раніше, ніж у РЗК, і в більш високих титрах, що свідчить про більшу чутливість цього серологічного тесту. З використанням люмінесціюючих кон'югатів проти глобулінів людини в нМФА можна визначати специфічні антитіла за класами імуноглобулінів, що надзвичайно важливо для диференціації свіжих антитіл від анамнестичних, визначення давності перенесеної хвороби та діагностики хронічних форм гарячки Ку.

Для гострої форми гарячки Ку характерне виявлення в крові специфічних IgM до коксіел Бернета фази II наприкінці першого – початку другого тижня хвороби. У подальшому – поступове зростання концентрації IgG, які визначаються протягом багатьох років після одужання, а з 20–30-ї доби реєструється також поява імуноглобулінів проти антигена фази I; однак, концентрація останніх залишається меншою, ніж до фази II, і вони поступово зникають. Тому визначення в сироватці крові тільки IgG проти антигенів коксіел Бернета фази II свідчить про давню імунну відповідь, а наявність ще імуноглобулінів до фази I є свідченням про недавнє або свіже захворювання.

При хронічній формі гарячки Ку титри імуноглобулінів до коксіел Бернета фази I постійно зберігаються на однаковому або навіть більш високому, ніж до фази II, рівні. Характерна присутність поряд з імуноглобулінами класу G також імуноглобулінів класів M і A. Для остаточної вери-

фікації наявності хронічної форми хвороби слід враховувати клініко-епідеміологічні, анамнестичні та інші дані.

Діагностика рикетсіозів групи кліщової плямистої гарячки

Для лабораторної діагностики рикетсіозів групи кліщової плямистої гарячки, зокрема марсельської гарячки, яка зустрічається на території України, необхідно застосовувати РЗК з рикетсійним антигеном. Враховуючи спільність антигенної структури збудників рикетсіозів групи кліщової плямистої гарячки, для постановки РЗК допускається використання комерційного антигена *R. sibirica*, що дозволяє здійснювати діагностику і чітку диференціацію від інших груп рикетсійних інфекцій.

Комплементзв'язуючі антитіла у хворих починають виявлятися з 5–7-ї доби хвороби, постійно виявляються з 10-ї доби. Позитивні результати враховують з розведення сироватки 1:10 при умові зростання титрів у динаміці хвороби. Рівень РЗК при кліщових рикетсіозах буває невисоким - максимально 1:80–1:320, інколи 1:640. При ранньому застосуванні антибіотиків егіотропної дії можлива затримка утворення антитіл. Для підтвердження діагнозу слід обстежувати хворих у динаміці з інтервалом 1–2 тиж. При дослідженні сироваток у РЗК необхідно паралельно використовувати антиген рикетсій Провачека (або Музера) – для серологічної диференціації кліщового рикетсіозу від рикетсіозів групи висипного тифу.

При виявленні захворювань на нових ензоотичних територіях, а також при привізних захворюваннях, лабораторний діагноз може бути підкріплений епідеміологічним анамнезом та дослідженням переносників, зібраних у вогнищах інфекції. Виявлення рикетсій у переноснику, ідентифікація збудника є серйозним аргументом при діагностиці рикетсіозів групи кліщової плямистої гарячки.

Для ідентифікації рикетсій у кліщах застосовують прямий метод флуоресціюючих антитіл (МФА) з використанням комерційних люмінесціюючих сироваток проти *R. sibirica*.

За допомогою РЗК можливо проведення ретроспективної діагностики та вивчення імунологічної структури населення, оскільки комплементзв'язуючі антитіла в низьких титрах (1:10, інколи 1:20) у перехворілих зберігаються протягом багатьох років.

Діагностика волинської (п'ятиденної) гарячки

Для серологічної діагностики волинської (п'ятиденної) гарячки необхідно застосовувати реакцію зв'язування комплексу та непрямий метод флуоресціюючих антитіл. Специфічні антитіла проти *B. quintana* серологічними методами визначаються у хворих, починаючи з другого тижня від початку захворювання і характеризуються динамічним зростанням у ході інфекційного процесу. Титри серологічних реакцій становлять при волинській гарячці 1:16–1:256. Позитивні результати враховують з розведення сироватки 1:8. Діагностичне значення має чотириохкратне зростан-

ня титрів антитіл при дослідженні парних сироваток хворого в інтервалі 7–8 днів.

Найбільш інформативні дані при обстеженні хворих можна одержати при поєднанні двох серологічних тестів, що дозволяє на основі визначення класів специфічних імуноглобулінів (IgM та IgG) у нМФА проводити диференціацію свіжих антитіл від анамнестичних.

Термінологія. Родини: Rickettsiaceae, Bartonellaceae, Anaplasmataceae; роди: Rickettsia, Orientia, Ehrlichia, Anaplasma, Neoreckettsia, Wolbachia, Coxiella; види: Rickettsia prowazekii, Rickettsia typhi, Rickettsia rickettsii, Rickettsia braziliensis, Rickettsia felis, Rickettsia conorii, Rickettsia australis, Rickettsia sibirica, Rickettsia acari, Rickettsia japonica, Rickettsia honei, Rochalimea quintana, Coxiella burnetii, Orientia tsutsugamushi, Ehrlichia canis, Ehrlichia chaffeensis, Ehrlichia sennetsu, Ehrlichia equilike, Ehrlichia muris, Ehrlichia ruminantium, Ehrlichia ewingii, Anaplasma phagocytophilum, .хвороба Брилла, хвороба Карріона, Ку-гарячка, реакція Вейль–Фелікса, антиген рикетсій Провачека і Музера.

Запитання для контролю знань

1. Загальна характеристика рикетсій. Морфологія, біологічні властивості. Класифікація рикетсіозів за Здродовським.
2. Морфологія, біологічні властивості рикетсій Провачека. Токсини. Антигенна структура.
3. Значення рикетсій Провачека в патології людини. Джерела інфекції, переносники, механізм передачі при епідемічному висипному тифі. Основи патогенезу епідемічного висипного тифу, клінічні прояви, імунітет. Хвороба Брилла.
4. Правила відбору матеріалу для лабораторного дослідження. Лабораторна діагностика епідемічного висипного тифу.
5. Специфічна профілактика і лікування.
6. Короткі відомості щодо рикетсій Бернета і Музера.

Тестові завдання:

1. Вкажіть методи, які використовуються в діагностиці рикетсіозів:
 - A. Серологічний, біологічний.
 - B. Мікроскопічний, біологічний.
 - C. Мікроскопічний, біологічний, бактеріологічний.
 - D. Мікроскопічний, вірусологічний, серологічний.
 - E. Мікроскопічний.
2. На прийомі лікар-інфекціоніст поставив діагноз «хвороба Брилла». Який патогенний матеріал слід взяти у хворого для бактеріологічного дослідження?
 - A. Сечу.
 - B. Кров.
 - C. Фекалії.
 - D. Мазок із зіву і носа.
 - E. Спинномозкову рідину.
3. У хворого з підозрою на висипний тиф була взята кров, відокремлена сироватка і поставлена реакція непрямой гемаглютинації. Сироватку титрували від 1:100 до 1:3 200. У перших трьох пробірках визначався осад з еритроцитів у вигляді «перевернутої парасольки». Який титр сироватки?
 - A. 1:400.
 - B. 1:200.
 - C. 1:100.
 - D. 1:800.
 - E. 1:1 600.
4. Назвіть механізм передачі ендемічного висипного тифу:
 - A. Повітряно-крапельний, трансмісивний, харчовий.
 - B. Фекально-оральний.
 - C. Контактно-побутовий, трансмісивний.
 - D. Контактно-побутовий, повітряно-пиловий.
 - E. Повітряно-пиловий, фекально-оральний.
5. Для лабораторної діагностики епідемічного висипного тифу в бактеріологічній лабораторії найчастіше використовують:
 - A. Серологічний метод.
 - B. Алергічний метод.
 - C. Бактеріологічний метод.
 - D. Вірусологічний метод.
 - E. Біологічний метод.
6. Хворий з підозрою на епідемічний висипний тиф був госпіталізований до лікарні. В його одязі були знайдені членистоногі. Що є переносником збудника епідемічного тифу?
 - A. Воші.
 - B. Кліщі.
 - C. Блохи.
 - D. Мухи.
 - E. Комарі.
7. У результаті серологічного дослідження сироватки крові хворого було поставлено діагноз «хвороба Брилла». Який мікроорганізм є збудником даного захворювання?
 - A. *R. prowazekii*.
 - B. *R. typhi*.
 - C. *R. akari*.
 - D. *R. rickettsia*.
 - E. *R. Quintana*.
8. П'ятдесятирічний хворий із характерним висипом на шкірі, лихоманкою, запамороченням був доставлений до лікарні з попереднім діагнозом «епідемічний висипний тиф». Побідних випадків зареєстровано не було. У 15 років перехворів на висипний тиф. Який кінцевий діагноз?
 - A. Хвороба Брилла.
 - B. Ку-лихоманка.
 - C. Хвороба Карріона.
 - D. Ерліхіоз.
 - E. Лихоманка Оройя.

9. У хворого діагностували хворобу Брилла за допомогою серологічного методу. Виявлення антитіл якого класу допоможе диференціювати хворобу Брилла і епідемічний висипний тиф?

A. M. B. D. C. G. D. A. E. E.

10. Хворий був доставлений до лікарні з підозрою на висипний тиф. У його крові були виявлені рикетсії. Який метод фарбування був використаний?

A. Грама. C. Бурі. E. Романовського–Гімза.

B. Ожешко. D. Бурі-Гінса.

Література

Основна

1. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология / Л. Б. Борисов – Москва : Медицина, 2001. – 721 с.
2. Воробьев А. А. Медицинская и санитарная микробиология : учеб. пособие для студ. высш. мед. учеб. заведений / А. А. Воробьев, Ю. С. Кривошеин, В. П. Ширококов. – Москва : Издательский центр «Академия», 2003. – 464 с.
3. Микробиология / И. Л. Дикий, И. Ю. Холупяк, Н. Е. Шевелева, М. Ю. Стегний. – Харьков : Прапор, изд. УкрФА, 1999. – 413 с.
4. П'яткін К. Д. Мікробіологія з вірусологією та імунологією / К. Д. П'яткін, Ю. С. Кривошеїн. – Київ : Вища шк., 1992. – 431 с.
5. Ситнік І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія / І. О. Ситнік, С. І. Климнюк, М. С. Творко. – Тернопіль : Укрмедкнига, 1998. – 392 с.

Додаткова

1. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад / за ред. В. П. Ширококова. – вид. 2-е. – Вінниця : Нова книга, 2011. – 952 с.
2. Коротяев А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учебник для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабычев. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2008. – 767 с.
3. Медицинская микробиология / под ред. В. И. Покровского. – Москва : ГЭОТАР-МЕД, 2001. – 768 с.
4. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» для студентов учреждений высш. проф. образования / под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 480 с.
5. Руководство к практическим занятиям по медицинской микробиологии, вирусологии и иммунологии / под ред. В. В. Теца. – изд. 2-е, перераб. и доп. – Москва : Медицина, 2002. – 352 с.
6. Медицинская микробиология / под ред. А. М. Королюка и В. Б. Сбойчакова. – Санкт-Петербург, 2002. – 267 с.
7. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : [учебное пособие] / под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. – Москва : ОАО «Издательство медицины», 2005. – 600 с.
8. Наказ МОЗ України № 598 від 22.12.2003 «Про удосконалення лабораторної діагностики рикетсіозів».
9. Конспект лекцій.

Навчальне видання

Рикетсії

*Методичні вказівки
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»*

Упорядники Мінухін Валерій Володимирович,
 Замазій Тетяна Миколаївна
 Коваленко Наталія Іллівна

Відповідальний за випуск В. В. Мінухін

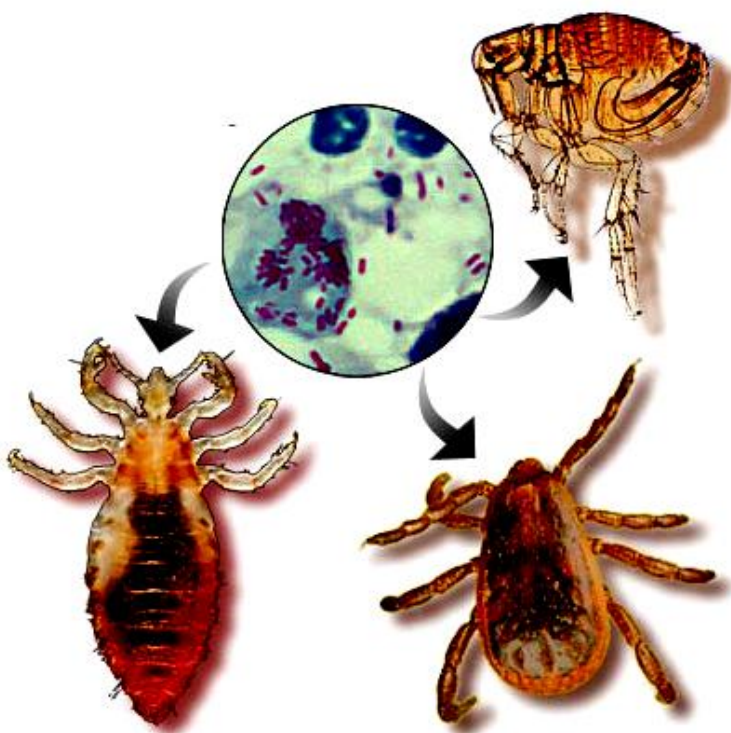


Редактор М.В. Тарасенко
Комп'ютерний набір Т. М. Замазій
Комп'ютерна верстка О. Ю. Лавриненко

Формат А 5. Ум. друк. арк. 5,0. Зам. № 16-33327.

**Редакційно-видавничий відділ
ХНМУ, пр. Науки, 4, м. Харків, 61022
izdatknmu@mail.ua**

Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи до Державного реєстру видавництв, виготівників і розповсюджувачів видавничої продукції серії ДК № 3242 від 18.07.2008 р.



Рикетсії

*Методичні вказівки
з дисципліни «Мікробіологія, вірусологія та імунологія
з мікробіологічною діагностикою»
для студентів-бакалаврів II–IV курсу
за спеціальністю «Лабораторна діагностика»*

