Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого»

Министерства здравоохранения Российской Федерации

Фармацевтический колледж

**Клиническая микробиология**

Курс лекций для обучающихся

по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика

(углубленной подготовки)

Красноярск

2018

УДК 576.8(042.4)

ББК 52.64

К49

Составители**:** Жукова М. В, Донгузова Е.Е.

**Клиническая микробиология** : курс лекций для обучающихся по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика (углубленной подготовки) / сост. М. В. Жукова, Е. Е. Донгузова ; Фармацевтический колледж. – Красноярск : тип. КрасГМУ, 2018. – 73 с.

Курс лекций предназначен для обучающихся с целью организации самостоятельной работы по овладению теоретическим материалом. Курс лекций составлен в соответствии с ФГОС СПО (2014 г.) по специальности 31.02.03 Лабораторная диагностика (углубленной подготовки), рабочей программой дисциплины (2018 г.) и СТО СМК ФК 8.3.02-17. Выпуск 3.

Рекомендован к изданию по решению методического совета Фармацевтического колледжа (Протокол № от «\_\_\_\_»\_\_\_\_2018).

© ФГБОУ ВО КрасГМУ

им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого

Минздрава России, Фармацев-

тический колледж, 2018

© Жукова М. В, Донгузова Е.Е.,

составление, 2018

**Пояснительная записка**

Курс лекций предназначен для обучающихся по специальности 31.02.03 – Лабораторная диагностика, при составлении комплекса учтены основные требования, предъявляемые к усовершенствованию теоретических знаний. Переход на новые образовательные стандарты ускоряет введение инновационных технологий, использование активных форм проведения занятий с применением электронных образовательных ресурсов, внедрение новых форм организации образовательного процесса.

В сборник включены темы:

* Определение и содержание дисциплины «Клиническая микробиология».
* Работа с клиническим материалом.
* Условно-патогенные возбудители
* Нормальная микрофлора. Дисбактериоз.
* Этиология оппортунистических инфекций.
* Внутрибольничные инфекции.
* Микробиологическое исследование сердечнососудистой системы.
* Микробиологическое исследование мочеполовой системы.
* Микробиологические методы исследования отделяемого дыхательных путей.
* Микробиологическое исследование пищеварительной системы.
* Микробиологическое исследование ЦНС.
* Микробиологическое исследование глаз, ушей, инфицированных ран.

Курс лекций содержит лекционный материал, вопросы для закрепления.

Содержание теоретического материала представлено по каждой теме. С целью самоконтроля ответьте на предложенные контрольные вопросы.

Целесообразность создания методического сборника обусловлена тем, что содержательно соответствует требованиям образовательного стандарта по специальности и квалификации.

Содержание

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **№ п/п** |  | **стр** |
| **Пояснительная записка** | | 3 |
| 1 | Определение и содержание дисциплины «Клиническая микробиология». | 5 |
| 2 | Работа с клиническим материалом. | 10 |
| 3 | Условно-патогенные возбудители | 18 |
| 4 | Нормальная микрофлора. Дисбактериоз. | 28 |
| 5 | Этиология оппортунистических инфекций. | 34 |
| 6 | Внутрибольничные инфекции. | 41 |
| 7 | Микробиологическое исследование сердечнососудистой системы. | 46 |
| 8 | Микробиологическое исследование мочеполовой системы. | 50 |
| 9 | Микробиологические методы исследования отделяемого дыхательных путей. | 58 |
| 10 | Микробиологическое исследование пищеварительной системы. | 61 |
| 11 | Микробиологическое исследование ЦНС. | 64 |
| 12 | Микробиологическое исследование глаз, ушей, инфицированных ран. | 68 |
| **Учебно-методическое и информационное обеспечение учебной**  **дисциплины** | | 74 |

**Тема: Определение и содержание дисциплины «Клиническая микробиология».**

**План лекции:**

1. Задачи клинической микробиологии.
2. Методы микробиологического исследования для диагностики инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами.

**Клиническая микробиология** *–* раздел частной медицинской микробиологии, в котором изучаются представители нормальной микрофлоры организма человека и условно-патогенные микроорганизмы, не имеющие существенного эпидемиологического значения, но в определенных условиях служащие причиной заболеваний.

*Цель клинической микробиологии* – клинико-лабораторная диагностика, специфическая профилактика и химиотерапия инфекционных болезней, часто встречающихся в широкой медицинской практике в неинфекционных клиниках.

*Задачи клинической микробиологии:*

1. Изучение роли условно-патогенных микроорганизмов в патогенезе инфекционных заболеваний;

2. Разработка методов лабораторной диагностики, специфической профилактики и этиотропной терапии инфекционных заболеваний в неинфекционных лечебных учреждениях;

3. Исследование эпидемиологии внутрибольничных инфекций;

4. Мониторинг лекарственной устойчивости возбудителей в ЛПУ.

*Признаки, отличающие клиническую микробиологию от инфекционной:*

* Углубленное изучение структуры и важнейших биологических свойств условно-патогенных микроорганизмов;
* Выявление причин появления факторов вирулентности у представителей нормальной микрофлоры организма человека;
* Анализ взаимоотношений условно-патогенных микроорганизмов с организмом человека при определенных условиях природной и социальной среды.

**Методы лабораторной диагностики заболеваний инфекционной природы**

1. Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов (бактерий, грибов, вирусов, простейших и т.д.)

а) микроскопические методы (в том числе, бактериоскопический), базирующиеся на прямом наблюдении возбудителя в патологическом материале с помощью различных приемов микроскопии;

б) культуральные методы (в том числе, бактериологический), главной составляющей которых является культивирование возбудителя на питательных средах, в организме лабораторных животных или на культурах тканей с целью выделения его в чистой культуре и последующей идентификации;

в) методы, позволяющие обнаружить в исследуемом материале продукты, синтезированные микроорганизмами (например, летучие жирные кислоты при диагностике инфекций, обусловленных не спорообразующими анаэробами или токсин, при диагностике ботулизма);

г) иммунологические методы поиска антигенов возбудителей в исследуемом материале;

д) генетические методы, основанные на обнаружении нуклеиновых кислот возбудителя в пробе

2. Методы выявления активного иммунного ответа, чаще всего нарастания титра антител к возбудителю (серодиагностика) или сенсибилизации (аллергодиагностика).

3. Неспецифические лабораторные тесты, по характеру отклонения которых можно заподозрить патологические изменения, характерные для инфекционных процессов определенной этиологии (например, изменение активности трансаминаз при вирусных гепатитах)

Выбор метода исследования необходимо проводить с учетом всего комплекса диагностических и лечебных процедур, проводимых данному больному. Например, на фоне антибиотикотерапии использование бактериологического метода будет заведомо мало эффективным. Методы, не позволяющие дифференцировать живые и убитые микроорганизмы (ПЦР, РИФ и др.) следует с осторожностью использовать при контроле излеченности. Подобные исследования необходимо проводить не ранее чем через несколько недель после окончания этиотропной терапии, так как погибшие микробные клетки или их антигены могут длительное время сохраняться в организме и выявляться с помощью указанных методов. Постановка кожной аллергической пробы в интервале между взятием двух парных сывороток при проведении серодиагностики может привести к увеличению титра антител, связанному не с развитием заболевания, а с экзогенным введением аллергена.

**Полимеразная цепная реакция.**

В настоящее время широко используют новые методические подходы в диагностике заболеваний человека. Среди них ведущее место заняли молекулярно – генетические методы исследования. Они позволили по-новому подойти к решению ряда основных вопросов инфекционной и инвазионной патологии. Принципиальный шаг в диагностике, связан с амплификационным методом выявления генетического материала инфекционных и инвазионных агентов. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Одной из важнейших областей применения ПЦР является идентификация патогенных микроорганизмов, являющихся возбудителями заболевания людей, животных и растений.

Полимера́зная цепна́я реа́кция (ПЦР) — экспериментальный метод [молекулярной биологии](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%BE%D0%BB%D0%B5%D0%BA%D1%83%D0%BB%D1%8F%D1%80%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%B1%D0%B8%D0%BE%D0%BB%D0%BE%D0%B3%D0%B8%D1%8F), позволяющий добиться значительного увеличения малых концентраций определённых фрагментов нуклеиновой кислоты ([ДНК](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A)) в биологическом материале (пробе).

Помимо амплификации (увеличения числа копий) [ДНК](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%94%D0%9D%D0%9A), ПЦР позволяет производить множество других манипуляций с нуклеиновыми кислотами (введение [мутаций](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D1%83%D1%82%D0%B0%D1%86%D0%B8%D1%8F), сращивание фрагментов ДНК) и широко используется в биологической и медицинской практике, например, для диагностики заболеваний (наследственных, инфекционных), для установления отцовства, для [клонирования](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%BB%D0%BE%D0%BD%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%B8%D0%B5) [генов](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD), выделения новых [генов](http://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%93%D0%B5%D0%BD).

Преимущества ПЦР как метода диагностики инфекционных, инвазивных заболеваний человека.

* Прямое определение наличия возбудителей.

Выявление специфического участка ДНК возбудителя методом ПЦР дает прямое указание на присутствие возбудителя инфекции.

* Высокая чувствительность.

ПЦР в настоящее время является наиболее совершенным диагностическим методом, позволяющим при необходимости выявлять единичные клетки возбудителей инфекционных, инвазионных инфекций заболеваний независимо от их природы, даже в тех случаях, когда другими методами (иммунологическими, бактериологическими, микроскопическими и др.) их выявление невозможно.

**Чувствительность ПЦР**

**Тест** – систем составляет 10 – 100 клеток возбудителя в анализируемой пробе, в то время как чувствительность иммунологических тестов колеблется в пределах 103 – 105 клеток.

* Высокая специфичность.

Высокая специфичность метода обусловлена, тем что в исследуемом материале выявляется уникальный, характерный только для данного вида фрагмент ДНК либо РНК.

* Простота исполнения, возможность полной автоматизации и быстрота получения результатов.

Диагностика с помощью ПЦР состоит из трех частей: обработка исследуемого материала, т.е. приготовление образца ДНК или РНК, амплификация, заданного фрагмента и регистрация результатов реакции. За счет автоматизации данных процессов эти процедуры занимают около 6 – 8 часов.

В настоящее время для выявления возбудителей практически всех заболеваний может быть использован один набор приборов и незначительно различающиеся наборы реактивов.

* Использование для анализа непосредственно клинического и патологического материала.

Метод ПЦР позволяет проводить определение возбудителя заболеваний непосредственно в клиническом материале (кровь, сыворотка крови, мазки, смывы, соскобы, слюна, мокрота, спинномозговая жидкость и т.д.) различном патологическом материале (образцы тканей и органов), а также в материале, получаемом из объектов окружающей среды (вода, почва и т.д.) для проведения анализа не требуется выделения и выращивания культур возбудителя.

Постоянно совершенствующиеся методы обработки исследуемого материала позволяют сократить затрачиваемое время до минимума.

* Малое количество используемого материала для исследования.

Количество исследуемого материала может составлять несколько десятков микролитров, так как в результате проведения ПЦР концентрация анализируемого участка ДНК (РНК) выявляемого возбудителя увеличивается в сотни и тысячи раз.

ПЦР позволяет осуществлять диагностику острых, хронических, латентных инфекций и паразитарных инвазий.

ПЦР тест-системы особенно эффективны при диагностики некультивируемых, трудно культивируемых или персистирующих форм патогенных микроорганизмов, с которыми часто приходится сталкиваться при хронических и латентных инфекциях, при тестировании организмов в объектах внешней среды. При диагностике с помощью ПЦР достигается размножение не тестируемого организма, а только специфического фрагмента его ДНК, являющегося маркерным для данного вида.

* Исключение возможности инфицирования персонала в процессе проведения ПЦР.

Исследуемый материал может быть дезинфицирован химической или термической обработкой в момент его взятия, следовательно, исключается возможность инфицирования персонала в процессе проведения ПЦР.

Задачи, решаемые с помощью ПЦР.

* ПЦР - незаменимый инструмент при идентификации всех микроорганизмов, находящихся в различном биологическом материале на разных стадиях патологического процесса;
* ПЦР позволяет проводить определение антибиотикорезистентности медленнорастущих и трудно культивируемых организмов;
* технология ПЦР изменила способы маркирования штаммов организмов для целей эпидемиологического анализа, тем самым расширив его возможности;
* таксономия микроорганизмов. В последние годы с этой целью начали применять метод ПЦР с произвольными праймерами, которые имеют преимущества перед другими методами (ДНК-гибридизация, геномная дактилоскопия и т.д.);
* в качестве исследуемых образцов в реакцию можно брать любые клетки, биологические жидкости, ткани и объекты внешней среды, причем не только содержащие свежую ДНК (РНК), но и содержащие фрагментированную ДНК.

**Вопросы для закрепления:**

1. Что изучает клиническая микробиология?
2. Дайте характеристику микробиологическим методам исследования.
3. Какие современные методы диагностики вы знаете?
4. Какое значение имеет ПЦР в диагностике?

**Тема: Работа с клиническим материалом.**

**План лекции:**

1. Правила забора, хранения и транспортировки материала
2. Методы и правила проведения микробиологического исследования для диагностики инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами.
3. Виды контроля качества

**Правила забора, хранения и транспортировки материала**

Результаты микробиологической диагностики зависят от правильного выбора материла и соблюдения условий его забора, доставки, хранения и обработки.

Вид материала определяется клинической картиной заболевания и должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя с учетом патогенеза болезни.

Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости.

Материал берут по возможности в начальном периоде болезни.

Взятие материала должно осуществляться до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после ее назначения, необходимый для выведения препарата из организма.

Материал необходимо брать непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мочу, желчь и др.).

Забор материала необходимо проводить во время наибольшего содержания в нем микробов.

Необходимо предупредить контаминацию материала нормальной микрофлорой больного и микробами окружающей среды.

Следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, асептиков, антибиотиков), исключить контакт с металлами, обладающими олигодинамическим свойством, с ватой, содержащей свободные жирные кислоты.

Любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека. Поэтому при его заборе, хранении, доставке, обработке во избежание заражения должны соблюдаться такие же меры техники безопасности, как при работе с патогенными микробами.

Транспортировку клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки.

К клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, фамилию, имя и отчество больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предположительный диагноз заболевания, предшествующую антимикробную терапию, дату и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал на исследование).

В процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений.

После исследования остатки материала подлежат уничтожению (автоклавированию или сжиганию), а посуда, контейнеры, инструменты - обеззараживанию.

Результаты микробиологической диагностики зависят от правильного выбора материла и соблюдения условий его забора, доставки, хранения и обработки.

Вид материала определяется клинической картиной заболевания и должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя с учетом патогенеза болезни.

Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости.

Материал берут по возможности в начальном периоде болезни.

Взятие материала должно осуществляться до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после ее назначения, необходимый для выведения препарата из организма.

Материал необходимо брать непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мочу, желчь и др.).

Забор материала необходимо проводить во время наибольшего содержания в нем микробов.

Необходимо предупредить контаминацию материала нормальной микрофлорой больного и микробами окружающей среды.

Следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, асептиков, антибиотиков), исключить контакт с металлами, обладающими олигодинамическим свойством, с ватой, содержащей свободные жирные кислоты.

Любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека. Поэтому при его заборе, хранении, доставке, обработке во избежание заражения должны соблюдаться такие же меры техники безопасности, как при работе с патогенными микробами.

Транспортировку клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки.

К клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, фамилию, имя и отчество больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предположительный диагноз заболевания, предшествующую антимикробную терапию, дату и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал на исследование).

В процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений.

После исследования остатки материала подлежат уничтожению (автоклавированию или сжиганию), а посуда, контейнеры, инструменты - обеззараживанию.

**Гной, серозно-гнойный экссудат, некротические массы** берут из закрытых очагов пункцией шприцем, из открытых – пипеткой, шприцем, сухим тампоном, ложечкой Фолькмана, желательно из глубины патологического очага, после очистки от поверхностных масс. Гной лучше брать в пробирку с МПБ, можно просто в стерильную пробирку, в количестве 1 мл (при подозрении на анаэробную инфекцию желательно взять 8–15 мл). Из гноя сразу же делается мазок и посев во избежание лизиса бактерий.

**Слизь из зева и носа** исследуют при подозрении на дифтерию, менингококковую инфекцию, ангину, коклюш или другие респираторные заболевания. Материал берут стерильным тампоном.

Мазок из зева берут натощак или не ранее, чем через 2 часа после полоскания, питья или еды под визуальным контролем с использованием шпателя. Корень языка придавливают книзу и кпереди шпателем, держа его левой рукой, а правой рукой осторожно вводят в ротовую полость тампон и снимают налёт, не касаясь тампоном слизистых оболочек рта, языка, зубов. Лучше всего снять налёт или слизь на границе поражённого участка, где возбудителей больше и жизнеспособность их выше.

Перед взятием слизи из носа необходимо предложить больному высморкаться или очистить нос сухим ватным фитилем и удалить корки. Тампон вводят в каждую ноздрю, плотно прикасаясь всеми сторонами его к стенкам и перегородке носа. Полученный материал с тампона немедленно высевают на плотные питательные среды, а также наносят на предметное стекло, подсушивают и направляют в лабораторию.

**Мокроту** забирают на раннем этапе болезни, утром, натощак. Если мокроты выделяется мало, секрецию её можно усилить ингаляцией тёплого гипертонического или щелочного раствора, назначением бронхолитиков. Для снижения контаминации мокроты микрофлорой глотки и полости рта их многократно прополаскивают стерильной водой или физ.-раствором. После этого больной откашливает мокроту в стерильную банку и сразу же закрывает её стерильной крышкой.

При поступлении на исследование мокроты особое внимание следует обратить на оценку качества доставленного образца. Критериями пригодности мокроты для бактериологического исследования является наличие более 25 сегментоядерных лейкоцитов и не более 10 эпителиальных клеток в поле зрения при просмотре, как минимум, 20 полей зрения мазка, окрашенного по Граму.

**Промывные воды бронхов** забирают специально или в сочетании с лечебными процедурами. Больной тщательно ополаскивает глотку и полость рта стерильной водой или физ.-раствором. Под контролем гортанного зеркала в дыхательные пути вводят 4 мл физ.-раствора. Откашливаемое содержимое собирают в стерильные широкогорлые банки.

**Кровь** исследуют при отсутствии или неясности локальных очагов, исследование лучше проводить в начале болезни или в разгаре. При транзиторной бактериемии выявить возбудителя в крови с помощью бак. посева иногда не удаётся. Для повышения выявляемости возбудителя кровь следует брать во время озноба или на высоте лихорадки. Следует помнить, что озноб и лихорадка – наиболее частые явления, побуждающие к выделению гемокультуры, обычно запаздывают на 30–90 мин по отношению к эпизоду бактериемии, поэтому исследование должно проводиться неоднократно.

**Сыворотка или плазма** крови для серологического исследования берется натощак. Накануне взятия крови необходимо исключить физические нагрузки, приём алкоголя, жирной пищи и психологические стрессы. За час до взятия крови исключается курение. Во время взятия обследуемый должен находиться в положении сидя или лёжа.

Для серологического исследования достаточно 1 мл сыворотки (плазмы) или 2 мл крови.

Кровь берут в чистую, сухую, пластмассовую или стеклянную пробирку. При необходимости транспортировки отделяют сыворотку или плазму, которые тотчас замораживают. При постановке серологических реакций возможны повторные замораживания и оттаивания сывороток до 3 раз при хранении их при -200С. После размораживания сыворотку или плазму следует тщательно перемешать.

**Ликвор** (8–10 мл) берут при спинномозговой пункции в две пробирки: для биохимического анализа и для бактериологического исследования при подозрении на менингит, нейросифилис.

**Рвотные массы** собирают в стерильные банки с притёртыми крышками и нейтрализуют 10% Na2CO3.

**Промывные воды желудка** (20–50 мл) собираются в стерильную ёмкость после промывания желудка стерильным физ.-раствором без добавления антисептиков (натрия гидрокарбоната, калия перманганата и др.).

**Испражнени**я исследуют при подозрении на кишечные инфекции (брюшной тиф, паратифы А и В, дизентерию, сальмонеллёзы, эшерихиозы и др.). Испражнения (2–3 г) берут стерильным деревянным шпателем или стеклянной палочкой из судна, горшка или непосредственно из прямой кишки с помощью ватных тампонов, металлических петель или через трубку ректоскопа. В судне или горшке не должно оставаться следов дезинфектанта, для чего их необходимо тщательно промыть горячей водой. Нужно стремиться взять слизь, гной, фибринные плёнки и избегать примесей крови в связи с её бактерицидным действием. Взятие материала из не зависит от числа дефекаций и может быть проведено в любой момент. Больного просят лечь на бок с приведёнными к животу бёдрами и ладонями развести ягодицы. Петля или тампон осторожным движением вводится в задний проход на глубину 5–6 см и также осторожно вынимается. Лучше всего сразу же сделать посев материала на питательную среду. Если это невозможно, материал с петли или тампона смывают в пробирку со стерильным физ.-раствором и отправляют в лабораторию.

**Желчь** (10–20 мл) забирают во время дуоденального зондирования. В отдельные пробирки собирают все три порции желчи (А, В и С). Конец зонда предварительно обрабатывают спиртом, затем после выделения 1–2 мл желчи (для исследования не используется) наполняют пробирки непосредственно через зонд или с помощью стерильного шприца. При наличии кислой реакции (примеси желудочного сока), хлопьев, белесоватого оттенка жидкости материал считается непригодным.

**Мочу** (20–30 мл) собирают в стерильную, плотно закрывающуюся посуду при помощи стерильного катетера после предварительного обмывания половых органов с мылом и ополаскивания их стерильным физ.-раствором.

У мужчин допустим сбор мочи при естественном мочеиспускании после туалета наружных половых органов. Для посева используется вторая порция мочи. Мочу, взятую при естественном мочеиспускании, засевают только на элективные среды.

**Выделения из половых органов**.

У мужчин исследуют отделяемое уретры (выделения из мочеиспускательного канала и пара уретральных ходов), а также центрифугат свеже выпущенной первой порции мочи.

Перед взятием материала из мочеиспускательного канала больной не должен мочиться в течение 4–5 часов для накопления в уретре достаточного количества отделяемого слизистой оболочки. Головку полового члена в области наружного отверстия уретры протирают стерильным ватным тампоном, смоченным стерильным изотоническим раствором хлорида натрия. Так как в свободно стекающей капле из уретры возбудителей можно обнаружить не всегда, первые капли свободно стекающих выделений, появляющихся при надавливании на уретру, удаляют, а последующие наносят на предметные стекла и делают мазки или используют для посева на питательную среду. При скудных выделениях или при их отсутствии предварительно проводят массаж уретры, а затем - соскоб со слизистой её передне - боковых стенок с помощью ложки Фолькмана, тупой ушной ложки или желобоватого зонда, а для посева - с помощью бактериологической петли. Для этого дистальная часть полового члена берётся между третьим и четвёртым пальцами левой руки, указательным и большим той же руки раздвигаются губки наружного отверстия уретры. Тупая ложка или петля вводится в мочеиспускательный канал примерно на 3–4 см и лёгким поскабливанием берётся соскоб. Материал из парауретральных ходов (при их поражении) получают при надавливании на них.

У женщин исследуют соскобы со стенок влагалища в области заднего свода, переднебоковых стенок уретры, отделяемое шейки матки (цервикального канала). Из парауретральных ходов и больших вестибулярных желез материал забирают по показаниям.

Перед взятием мазков область уретры и парауретральных ходов вытирают сухим стерильным тампоном. Затем уретру массируют пальцем со стороны влагалища, прижимая её к лобковой кости. Ложку Фолькмана, тупую ушную ложку или желобоватый зонд вводят вглубь уретры на 1,5–2 см, стараясь получить отделяемое лёгким поскабливанием передней и боковых стенок уретры. Манипуляцию проводят осторожно, чтобы не поранить слизистую.

После того, как шейка матки открыта в зеркалах и протерта сухим ватным тампоном, отделяемое забирают длинным гинекологическим пинцетом, вводя его в цервикальный канал на глубину 1 см и захватывая отделяемое со стенок канала.

Если при надавливании на переднюю часть уретры появится отделяемое из парауретральных ходов, его собирают ложечкой Фолькмана и делают мазки. Секрет для изготовления мазков из большой вестибулярной железы осторожно выдавливают пальцами, один из которых введен во влагалище, а другой располагается снаружи на нижней трети большой половой губы.

Во второй половине беременности материал из цервикального канала берут без ввода пинцета в канал.

У девочек исследуют отделяемое слизистой оболочки уретры, влагалища и прямой кишки. Методика взятия материала та же, что и у женщин, только материал из влагалища берут осторожно, без зеркал, ушной ложкой или желобоватым зондом через гименальное отверстие.

Значительно повышают выявляемость возбудителей урогенитальных инфекций повторные анализы, особенно с использованием провокаций, а также применение культурального метода в комплексе с другими методами исследования. Обследование женщин лучше проводить во время менструации, или за 2–3 дня до её начала, или через 2–3 дня после её окончания, так как менструация является физиологической провокацией и вероятность обнаружения возбудителей в этот период возрастает.

При хронических воспалительных процессах необходимо делать мазок-соскоб со слизистых мочеполового тракта (для исследования на хламидии, микоплазмы, уреаплазмы). Мазки, в которых обнаружены возбудители, должны сохраняться в лаборатории 3 месяца.

При показаниях (указание на ректально-генитальный или урогенитальный контакт) исследуют **материал из прямой кишки, глотки и миндалин**. Из анального канала прямой кишки материал для лабораторного исследования берут путём соскоба со слизистой оболочки и её складок с помощью тупой ложки Фолькмана. Можно использовать и метод промывных вод: через катетер с двойным током, введенный на глубину 4–6 см, нижний отдел прямой кишки промывают водой комнатной температуры или изотоническим раствором натрия хлорида (60–80 мл). Из воды вылавливают комочки гноя и слизи, которые затем наносят на одно предметное стекло и растирают другим, либо производят посев.

**Биоптаты тканей.** Их исследование актуально при гранулематозном воспалении, связанном, например, с туберкулёзом или бластомикозом.

**Секционный материал** забирается при вскрытии, вид его определяется нозологической формой. Поверхность внутренних органов прижигают раскалённым пинцетом, затем вырезают кусочки органов 1–2 см3. Взятие и транспортировку материала при подозрении на ООИ (холера, чума и др.) производят по специальной инструкции.

**Особенности взятия материала при подозрении на анаэробную инфекцию**.

Этиологическую роль облигатных анаэробов предполагают при наличии следующих признаков:

* неприятный запах отделяемого вследствие продукции анаэробами летучих жирных кислот (описывают как фекальный, для клостридий характерен запах прогорклого масла);
* гнилостный характер поражения (мёртвые ткани в виде бесструктурного детрита серого или серо-зелёного цвета);
* экссудат серо-зелёный или чёрный, содержит маленькие капельки жира;
* наличие газа в тканях (синдром крепитации);
* развитие инфекции на фоне лечения аминогликозидами;
* близость очага к местам естественного обитания анаэробов.

При подозрении на анаэробную инфекцию следует учитывать, что неправильное взятие материала приведёт к искажению результата исследования. Материал лучше брать до начала химиотерапии, во время вскрытия или дренирования очага. Вегетативные формы анаэробов погибают при доступе кислорода, поэтому биологический материал берут в строго анаэробных условиях, исключительно из пораженных инфекционным процессом зон. Содержимое замкнутых полостей пунктируют стерильным шприцем и 3–5 мл материала вносят, путём прокола резиновой пробки, во флакон с бескислородной газовой смесью (80% азота, 10% водорода, 10% углекислого газа) либо в специальную транспортную среду для анаэробов. При отсутствии транспортных флаконов материал забирают в большем количестве, например, гной берут в объёме 8–15 мл, немедленно доставляют в лабораторию и сразу же исследуют.

При подозрении на анаэробную бактериемию на высоте лихорадки берут 8–10 мл крови и, прокалывая резиновую пробку, вносят в 80–100 мл среды для анаэробов.

Неприемлемыми для анаэробного культивирования являются пробы, отобранные тампонами, собранные с поверхности кожи и слизистых, с поверхности ран, отхаркиваемая мокрота, моча, выделения из половых органов, желудочное и кишечное содержимое.

Для транспортировки исследуемого материала используют транспортные среды, предотвращающие токсическое действие кислорода (Amies, Cary&Blair, Stuart).

Достоверность результатов определяется не только качеством работы лаборатории, но и соблюдением правил взятия материала и его доставки. К сожалению, далеко не всегда с помощью лабораторных методов удается выявить ошибки, допущенные на этом этапе исследований, но иногда это возможно. Например, обнаружение в пробе мокроты при микроскопии букального эпителия и отсутствие лейкоцитов, указывает на примесь значительного количества слюны. Бактериологическое исследование такого образца не целесообразно.

Внутренний контроль качества должен непрерывно проводится в лаборатории и призван оградить пациента и лечащего врача от ложноположительных или ложноотрицательных результатов исследования, возникающих вследствие допущенных в ходе работы ошибок, неисправностей в работе оборудования, применения некачественных реактивов. Он осуществляется путем проведения входного контроля реактивов и питательных сред, использования эталонных штаммов микроорганизмов, исследования заведомо положительных и отрицательных проб и т.д. В ряде случаев исследование контрольных образцов проводится параллельно с исследованием каждой пробы. В этом случае учет результатов опыта осуществляют только при соответствующим ожидаемым результатам контролей.

**Вопросы для закрепления**

* 1. Какие общие требования предъявляются к сбору проб биологического материала для микробиологического исследования.
  2. Перечислите материалы, подлежащие микробиологическому исследованию.
  3. Какие виды контроля качества исследований Вы знаете?
  4. Какова цель проведения внутреннего контроля качества?

**Тема: Условно-патогенные возбудители**

**План лекции:**

1. Характеристика основных условно-патогенных возбудителей и их роль в возникновении и распространении оппортунистических инфекций.
2. Особенности условно-патогенных микроорганизмов.

**УПМ (оппортунистические, потенциально-патогенные) –**большая группа разнородных по систематическому положению микробов, которые вступают с организмом человека в одних случаях в отношения симбиоза, комменсализма или нейтрализма, в других – в конкурентные отношения, нередко приводящие к развитию заболевания.

УПМ встречаются среди всех групп микробов: бактерий, грибов, простейших и, вероятно, вирусов. В современной патологии человека большое значение имеют представители родов Escherichia, Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Staphylicoccus, Streptococcus, Peptococcus, Haemophilus, Vibrio, Bacillus, Bacteroides, Clostridium, Mycobacterium, Treponema, Candida, *Helicobacter*, *Acinetobacter*, *Listeria*, *Legionella.*

Большинство видов УПМ являются нормальными обитателями кожи и слизистых оболочек тела человека, не оказывая на здоровый организм патогенного влияния. Они часто обнаруживаются в воде, почве, пищевых продуктах, на предметах и других объектах внешней среды, что связано с их массовым выделением из организма хозяина, способностью переживать относительно долгое время во внешней среде, а при определенных условиях и размножаться в ней. Патогенное действие на организм человека УПМ оказывают в условиях пассивного проникновения во внутреннюю среду в больших количествах, или резкого снижения общего и местного иммунитета человека.

**Особенности условно-патогенных микроорганизмов:**

* Экологическая неоднородность (средой обитания являются организм человека, продукты питания, вода, почва, отходы деятельности человека, лекарственные препараты и т. д.);
* Преимущественно являются постоянными обитателями (симбионтами) разных биотопов организма человека;
* Высокая адаптация в соответствующем биотопе;
* Конкурентоспособность по отношению к аутохтонной микрофлоре (аутохтонная микрофлора – совокупность микроорганизмов, для которых данный объект является основной естественной средой обитания);
* Отсутствие факторов подавления и интерференции фагоцитарного и других элиминирующих механизмов организма хозяина (отсутствие капсул, синтеза антифагоцитарных и антикомплементарных веществ и т.д.)
* Способность продуцировать эндотоксин – универсальный токсический фактор;
* Полиорганотропность (этим объясняется многогранность и сходство вызванных поражений);
* Гетерогенность популяций по различным признакам;
* Высокие темпы эволюции микроорганизмов;
* Устойчивость к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам, бактериоцинам, бактериофагам, физическим факторам.

**Кишечная палочка** (**эшерихия коли**, лат. *Escherichia coli*; общепринятое сокращение *E. coli*) — вид грамотрицательных палочковидных бактерий, факультативных анаэробов, входящий в состав нормальной микрофлоры [желудочно-кишечного тракта](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/3139) человека.

Вид эшерихия коли (*E. coli*) включён в род [эшерихии](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3231) (лат. *Escherichia*), семейство [энтеробактерии](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3201) (лат. *Enterobacteriaceae*), порядок энтеробактерии (лат. *Enterobacteriales*), класс гамма-протеобактерии (лат. *γ proteobacteria*), тип протеобактерии (лат. *Proteobacteria*), царство бактерии.

Существует большое число разновидностей кишечной палочки (*Escherichia coli*), в том числе, более 100 патогенных («энтеровирулентных») типов, объединенных в четыре класса: энтеропатогенные, энтеротоксигенные, энтероинвазивные и [энтерогеморрагические](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3200). Морфологические различия между патогенными и непатогенными эшерихиями отсутствуют.

**Протей** (лат.*Proteus*) — род грамотрицательных, споронеобразующих, факультативно анаэробных бактерий. Представитель нормальной, условно-патогенной микрофлоры [кишечника](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/355) человека.

Протеи имеют вид мелких, 0,3 на 3 мкм, нитевидных палочек. Они отличаются очень активной подвижностью. Протеи обладают токсическими (вырабатывают эндотоксин) и гемолитическими свойствами.

Протеи считаются санитарно-показательными бактериями. Количество обнаруживаемых *Proteus mirabilis* рассматривают как показатель фекального загрязнения, а *Proteus vulgaris* — как показатель загрязнения объекта органическими веществами.

В зависимости от способности продуцировать индол, протеи делятся на индол-отрицательные (*Proteus mirabilis, Proteus hauseri, Proteus penneri*) и индол-положительные (*Proteus vulgaris, Proteus inconstans* и другие).

**Клебсиелла** (лат. *Klebsiella*) — род грамотрицательных факультативно-анаэробных условно-патогенных бактерий. Имеют форму коротких тол­стых эллипсовидных палочек размером 0,6–6,0 на 0,3–1,0 мкм. Клебсиеллы неподвижны, не образуют спор, имеют выраженные капсулы, благодаря которым клебсиеллы устойчивы к воздействию окружающей среды и могут долго сохраняться в почве, в воде, на предметах в помещениях.

По современной классификации род *Klebsiella* входит в семейство [энтеробактерии](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3201) (лат. *Enterobacteriaceae*), порядок энтеробактерии (лат. *Enterobacteriales*), класс гамма-протеобактерии (лат. *γ proteobacteria*), тип протеобактерии (лат. *Proteobacteria*), царство Бактерии. Клебсиеллы относятся к так называемым *колиформным* бактериям.

В состав рода клебсиеллы входят следующие виды:

[*Klebsiella*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3171)[*pneumoniae*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3171)(клебсиелла пневмонии)

[*Klebsiella*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase_id=154805)[*ozaenae*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase_id=154805) (клебсиелла озена)

[*Klebsiella*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase_id=154805)[*rhinoscleromatis*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase_id=154805) (клебсиелла риносклеромы)

*Klebsiella ornithinolytica*

[*Klebsiella*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3313)[*oxytoca*](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3313) (клебсиелла окситока)

*Klebsiella planticola*

*Klebsiella terrigena*

**Энтеробактер** (лат. *Enterobacter*) — род грамотрицательных палочкообразных перитрихиальных споронеобразующих бактерий, факультативных анаэробов. Энтеробактеры входят в состав нормальной микрофлоры [кишечника](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/355) человека.

Энтеробактер также обитает в кишечнике некоторых видов животных, встречается в почве, воде, пищевых продуктах.

Род энтеробактер (*Enterobacter*) входит в семейство [энтеробактерии](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/3201) (*Enterobacteriaceae*), порядок энтеробактерии (*Enterobacteriales*), класс гамма-протеобактерии (*γ proteobacteria*), тип протеобактерии (*Proteobacteria*), царство бактерии.

*Serratia* – грамотрицательная, факультативная анаэробная, палочковидная бактерия семейства Enterobacteriaceae.

Серрация может вызывать инфекцию мочевыводящих путей, сепсис или пневмонию.

Кроме того, бактерия принадлежит к ESBL-продуцирующим штаммам (ESBL = бета-лактамазы расширенного спектра), и поэтому обладает множественной устойчивостью ко многим антибиотиками широкого спектра, таким как цефалоспорины или цефтазидим.

Основным [путем передачи](http://www.bode-science-center.ru/centr/glossarii/puti-peredachi.html) является прямой или непрямой контакт с зараженными лицами и объектами окружающей среды

**Стафилококки** (лат. *Staphylococcus*) — род повсеместно распространённых грамположительных бактерий - кокков.

Стафилококки встречаются в норме на всем протяжении [желудочно-кишечного тракта](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/3139) человека, включая [желудок](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/633), а также на коже, слизистой оболочке респираторных органов и в урогенитальном тракте.

Стафилококки представляют собой неподвижные шарообразные клетки диаметром от 0,5 до 1,5 мкм, располагающиеся одиночно, парами или гроздьями. Не образуют спор.

Стафилококки лучше других бактерий переносят воздействие высокой температуры, света, высушивания и химических агентов. Они выдерживают нагревание до 60°С в течение часа, а отдельные штаммы — до 80°С в течение получаса и 10 минут при нагревании до 150°С, солнечный свет в течение 10–12 часов, сухой жар — до 2-х часов. Стафилококки устойчивы к повышенному содержанию хлористого натрия (поэтому они хорошо сохраняются в консервированных продуктах), чистому этанолу и фенолу. Оптимальная температура для развития стафилококков 30–37 °С.

**Стрептококки** (лат. *Streptococcus*) — род грамположительных факультативно анаэробных бактерий. Клетки шарообразной формы диаметром менее 2 мкм располагаются попарно или цепочками. Абсолютное большинство штаммов неподвижно. Среди стрептококков есть и возбудители различных болезни человека, и представители нормальной микрофлоры, обитающей в ротовой полости, [желудочно-кишечном тракте](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/3139), мочеполовых и дыхательных путях, и широко применяемые в пищевой и фармацевтической промышленности штаммы.

**Пептококки** (лат. *Peptococcus*) — род грамположительных анаэробных споронеобразующих бактерий. Пептококки имеют шарообразную форму, располагаются поодиночке, парами, тетрадами или в виде скоплений.

Основная популяция пептококков у здорового человека располагается в полости рта, главным образом в налете на зубах. Пептококки в норме также встречаются в носоглотке, в кишечнике, в урогенительном тракте.

Пептококки выделяются при воспалительных процессах: [аппендиците](http://www.gastroscan.ru/handbook/311/8026), плеврите, тонзиллите, послеродовой септицемии и других, как правило, вместе с другими микробами. При кариесе, пульпите, парадонте они чаще встречаются в ассоциациях с [фузобактериями](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/4020) и спирохетами. Точных данных о роли пептококков при тех или иных заболеваниях нет.

**Вибрионы** ([лат.](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9B%D0%B0%D1%82%D0%B8%D0%BD%D1%81%D0%BA%D0%B8%D0%B9_%D1%8F%D0%B7%D1%8B%D0%BA) *Vibrio*)  — род [бактерий](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%91%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%B8) семейства *Vibrionaceae*, включает более 40 видов.

Прямые или изогнутые палочки (0,4—0,7 × 1,5—2,3 мкм). Подвижны, подвижность обеспечена одним или несколькими жгутиками, расположенными полярно (моно - и лофотрихи). [Спор](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%BF%D0%BE%D1%80%D1%8B_%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%B9) и [капсул](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9A%D0%B0%D0%BF%D1%81%D1%83%D0%BB%D0%B0_(%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B5%D1%80%D0%B8%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%B0%D1%8F)) не образуют, однако большинство видов покрыто снаружи оболочкой, образованной выростом наружного слоя клеточной стенки.

[По Граму](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9C%D0%B5%D1%82%D0%BE%D0%B4_%D0%93%D1%80%D0%B0%D0%BC%D0%B0) представители рода окрашиваются отрицательно, большинство видов оксидаза - положительно. Среди представителей рода наиболее распространены факультативные анаэробы. В медицинской литературе описано, что возникновению и распространению вибрионов на водных объектах способствует содержание азота более 1 мг на 1 л воды, а закисление вод обратимо ведёт к гибели микроорганизмов.

**Бациллюс субтилис** или **cенная палочка** (лат. *Bacillus subtilis*) — вид грамположительных спорообразующих аэробных бактерий, представителей рода [бациллы](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/5623) (*Bacillus*). *Bacillus subtilis*— один из наиболее хорошо изученных микроорганизмов.

Название сенная палочка происходит из-за того, что ранее Bacillus subtilis изолировался исключительно из сенных отваров. Bacillus subtilis имеет вид бесцветной прямой палочки, размером примерно 0,7 мкм в толщину и 2—8 мкм в длину. Bacillus subtilis может размножаться делением и спорами. Иногда отдельные Bacillus subtilis, после поперечного деления, остаются соединенными в нити.

**Bacillus subtilis (сенная палочка),** благодаря продуцируемым антибиотикам и способности закислять среду обитания, является антагонистом патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как сальмонелла, протей, стафилококки, стрептококки, дрожжевые грибки; продуцируют ферменты, удаляющие продукты гнилостного распада тканей; синтезируют аминокислоты, витамины и иммунноактивные факторы.

**Бактероиды (лат. Bacteroides)** — род грамотрицательных анаэробных бактерий, наиболее типичные нормальные обитатели кишечника человека, составляющие около половины всей его микрофлоры. Бактероиды полиморфны, часто имеют форму палочки с закругленными концами размером 1–3 на 0,5–0,8 мкм. Бактероиды не образуют спор, но могут образовывать капсулы.

В связи с трудностью анаэробного культивирования и, следовательно, с высокой стоимостью исследования бактероиды при анализах во многих лабораториях не определяются. Бактероиды — антагонисты шигелл, сальмонелл, некоторых видов эшерихий.

Основными продуктами брожения являются уксусная кислота, изовалериановая кислота, янтарная кислота.

**Клостридии (лат. Clostridium) —** род грамположительных спороносных бактерий. Клостридии входят в состав нормальной микрофлоры человека. Однако некоторые виды клостридий могут быть причиной заболеваний. Название «клостридии» происходит от греческого κλοςτεδ (веретено), так как при спорообразовании клостридии раздуваются в центре и приобретают форму веретена.

Большинство клостридий не патогенны, но некоторые виды клостридий могут быть причиной различных болезней человека, часть которых протекает тяжело и может приводить к летальному исходу. В частности, клостридии вида Clostridium botulinum могут быть причиной ботулизма Clostridium tetani — столбняка, Clostridium perfringens, Clostridium novyi, Clostridium oedematiens и Clostridium septicum — газовой гангрены.

**Микобактерии (Mycobacterium)** — род аэробных грамположительных медленнорастущих кислотоустойчивых палочкообразных бактерий, содержащий большое количество сапрофитных и болезнетворных видов.

Микобактерии — аэробны и неподвижны, и характеризуются кислото- и спирто-устойчивостью. Не образуют спор и капсул. Микобактерии могут являться возбудителями инфекционных заболеваний [желудочно-кишечного тракта](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/3139), в частности, туберкулёза различных отделов [кишечника](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/355), инфекционных [гастрита](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/01/) и [дуоденита](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/10/).

**Кандида** (*Candida*) — род дрожжеподобных грибков. Дрожжеподобные грибки рода *Candida* — одноклеточные микроорганизмы размером 6–10 мкм. Грибки рода *Candida* диморфны: в различных условиях они образуют бластоспоры (клетки-почки) и псевдомицелий (нити удлиненных клеток). Грибки рода *Candida* широко распространены в окружающей среде. Они имеются в почве, питьевой воде, пищевых продуктах, на коже и слизистых оболочках человека и животных. Благоприятными условиями для роста грибков *Candida* считаются температура 21–37 °С и [кислотность](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/2846) среды 5,8–6,5 рН.

**Листерии (англ. Listeria)** — род грамположительных бактерий.

Наиболее известным представителем является Listeria monocytogenes — возбудитель листериоза, менингита, абсцесса головного мозга и других смертельно опасных болезней человека. Остальные виды листерий для человека или не опасны, или информация о вызванных ими заболеваний встречается очень редко. Предположительно, бактерии видов Listeria ivanovii, Listeria grayi, Listeria seeligeri также могут быть причиной заболеваний человека (известны только единичные случаи).

Более 90 % заболевших — представители групп риска: беременные, младенцы, лица старше 65 лет или страдающие имуннодефицитом.

*Listeria ivanovii* является патогеном жвачных животных, в основном, овец.

**Легионеллы (лат. Legionella)** — род патогенных грамотрицательных бактерий из класса Gammaproteo bacteria. Включает виды Legionella pneumophila, вызывающий «Болезнь легионеров», и Legionella longbeachae, вызывающий понтиакскую лихорадку. Legionella встречается во многих средах, включая почву и водные системы. По крайней мере 50 видов и 70 серотипов описано на сегодняшний день.

**Ацинетобактер** (англ. *Acinetobacter*) — род грамотрицательных споронеобразующих неферментирующих строго аэробных бактерий.

*Acinetobacter* — повсеместно встречающаяся бактерия. У здоровых людей, в частности, он обитает на коже, также выделяется из [кишечника](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/355).

*Acinetobacter* может вызывать у госпитализированных пациентов инфекции дыхательных путей (синусит, трахеобронхит, пневмония), кровотока (сепсис, эндокардит естественных и искусственных клапанов), мочевыводящих путей, раневой и хирургической инфекций, инфекций кожи и мягких тканей (включая некротизирующий фасциит), нервной системы (менингит, вентрикулит, абсцесс мозга), интраабдоминальные (абсцессы различной локализации, перитонит), опорно-двигательного аппарата (остеомиелит, артрит). Наиболее значимым клинически видом рода *Acinetobacter* является [Acinetobacter](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/7717) [baumannii](http://www.gastroscan.ru/handbook/118/7717), который вызывает 2–10% грамотрицательных инфекций в Европе и США и до 1% всех нозокомиальных инфекций.

Хорошо растут на обычных средах, образуя колонии, напоминающие колонии энтеробактерий. Ацинетобактеры широко распространены в природе, их выделяют из воды, почвы, пастеризованного молока, замороженных продуктов, а также из воздуха стационаров и смывов с различного медицинского оборудования, растворов и препаратов (в том числе крови). Они обнаружены на кожных покровах 25% клинически здоровых людей (особенно медицинского персонала), а также на слизистой оболочке носоглотки (более 7% обследованных индивидуумов).

**Гемофилюс** (*Haemophilus*) — род грамотрицательных бактерий. *Haemophilus* имеют вид небольших палочек и неподвижны. Многие *Haemophilus*являются комменсалами в человеческом организме.

*Haemophilus*обнаруживается в [желудке](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/633) здоровых людей.

Род *Haemophilus*входит в семейство *Pasteurellaceae*, порядок *Pasteurellales*, класс гамма-протеобактерии (лат. *γ proteobacteria*), тип протеобактерии (лат. *Proteobacteria*), царство Бактерии.

**Бактериологический метод** является основным в лабораторной диагностике гемофильной инфекции. Исследуемый материал (мокрота, кровь, спинномозговая жидкость, серозную жидкость) засевают на МПА с 6 - 10 % нативной крови или на «шоколадный» агар с прогретой или кипяче­ной кровью. Если возможности немедленно посеять матери­ал на среды нет, используют транспортную полужидкую среду с активированным углем и ниацином.

**Хеликобактер, геликобактер, геликобактерии** или **хеликобактерии** (лат. *Helicobacter*) — род спиралевидных грамотрицательных подвижных микроаэрофильных бактерий, разные виды которого могут инфицировать слизистую оболочку [желудка](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/633) или [кишечника](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/355), [ануса](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/11/), [желчного пузыря](http://www.gastroscan.ru/handbook/117/358), желчевыводящих путей, а также печень человека и/или животных и могут вызывать различные воспалительные заболевания, такие как [гастриты](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/01/), [язвенную болезнь желудка](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/03/) и [двенадцатиперстной кишки](http://www.gastroscan.ru/patient/disease/11/), колиты, проктиты и другие.

Первая особенность хеликобактер заключается в противостоянии чрезвычайно кислой среде желудка.

Благодаря высокой кислотности, большинство бактерий и вирусов гибнут в желудке. Хеликобактер сопротивляется кислотности с помощью двух механизмов:

* c момента попадания в желудок, бактерия, благодаря своим жгутикам, может перемещаться и скрываться в слизи, которая покрывает стенки желудка и защищает клетки.
* кроме того, хеликобактер усиливает защитную секрецию аммиака, нейтрализующего кислую среду желудка.

Вторая особенность хеликобактер заключается в том, что бактерия является причиной болезней желудка и двенадцатиперстной кишки.

По большому счету, размножаясь, бактерия способна разрушать клетки нашего желудка. А именно, высвобождение вредных веществ вызывает хронические воспаления и приводит к гастриту.

Третья особенность хеликобактер заключатся в ее уничтожении посредством курса лечения с применением антибиотиков и лекарственных средств, регулирующих уровень кислотности.

**Микробиологический метод.**

Материалом исследования для микробиологической диагностики Helicobacter являются биоптаты из слизистой оболочки желудка или двенадцатиперстной кишки, полученной в условиях максимальной стерильности. Инкубация посевов осуществляется я в микроаэрофильных условиях при содержании кислорода не более 5%. Такие условия создаются путем заполнения герметически закрывающихся сосудов газовой смесью (5% кислорода, 10% углекислого газа, 85% азота), при использовании специальных газогенераторных химических пакетов. На кровяной питательной среде геликобактер на 3-5 сут. формирует мелкие круглые, гладкие, прозрачные, росинчатые колонии диаметром 1—3 мм.

*Pseudomonas aeruginosa* – грамотрицательные палочки, образуют пигмент (пиоционин – окрашивает гнойное отделяемое, перевязочный материал), способны вызывать значительную деструкцию тканей при проникновении через кожные покровы, является основной причиной летальных исходов у ожоговых пациентов, часто инфицирует лиц, страдающих сахарным диабетом и пациентов с нейтропенией, вызывает остеомиелит, инфекции мочевых путей и диссеминированные инфекции, выделяют ее из дыхательных путей больных муковисцидозом.

Бактерии рода *Serratia* – грамотрицательные пигментообразующие (продигиозан – красного цвета) палочки, обитающие в почве, воде, пищевых продуктах, ЖКТ. У человека чаще всего заболевания вызывает *Serratia marcescens* – яркий пример адаптации и приобретения патогенных свойств при инфицировании пациентов с иммунологическими нарушениями. Ранее их считали безвредными сапробионтами и в 50-х гг. прошлого столетия активно использовали в качестве маркера при изучении движения воздуха в метрополитенах, а также для определения миграции микроорганизмов в мочеиспускательный канал через постоянные катетеры. В настоящее время доказано, что способны вызывать сепсис, пневмонии, инфекции мочевыводящих путей, устойчивы к большинству антибиотиков, применяемым в клинике.

*Nocardia asteroids* – грамположительные ветвящиеся бактерии, обитающие в почве, оппортунистические патогены; нокардиозы наблюдаются у больных с аллотрансплантантами на фоне длительного приема иммунодепрессантов в виде множественных абсцессов в легких с диссеминацией в любой орган.

*Veillonella* – грамотрицательные анаэробные кокковидные бактерии, располагающиеся парами, реже – по одиночке, в норме обитающие в полости рта, кишечнике и верхних дыхательных путях. Самостоятельно не вызывают развития патологических процессов, но в ассоциации с другими микроорганизмами вызывают абсцессы мягких тканей, раневые инфекции и септические состояния.

*Mobiluncus* – тонкие изогнутые грамвариабельные (чаще грамотрицательные, но строение клеточной стенки, как у грамположительных) палочки, выявляются при вагинитах при повторных искусственных прерываниях беременности.

Бактерии родов *Prevotella, Porphyromonas, Bacteroides* представляют собой грамотрицательные неспорообразующие анаэробные палочки, обитающие в кишечнике и влагалище, вызывают ГВЗ эндогенного характера, отличающиеся множественной природной устойчивостью к антибиотикам.

*Leptotrichia* – грамотрицательные неспорообразующие анаэробные палочки, представляют микрофлору зубных бляшек, десневых карманов и женских половых путей; маркеры скрыто протекающего трихомониаза.

*Gardnerella* – грамвариабельные полиморфные палочки, представители нормальной микрофлоры влагалища (у мужчин не живут, т.к. нет клеток для адгезии), могут вызывать дисбактериоз влагалища (вагиноз).

В последнее время бактерии рода *Enterococcus* (грамположительные кокки, располагающиеся парами или короткими цепочками, обитают в кишечнике, наибольшее значение в патологии человека имеет вид *E. faecalis*) признаны возбудителями раневых инфекций, гнойных хирургических заболеваний, гнойных осложнений у рожениц и гинекологических больных; могут вызывать сепсис, эндокардиты, воспалительные процессы почек и мочевыводящих путей.

*Streptococcus agalactia* – наиболее часто вызывает заболевания у новорожденных (1:500-1:900): в первые сутки после рождения – заболевания дыхательных путей, септицимию, менингит; источник – матери (персистирует на слизистые родовые пути), персонал родильных домов (на руках).

**Вопросы для закрепления:**

1. Какие условно-патогенные энтеробактерии вы знаете?
2. Какие грамм (-) кокки являются возбудителями оппортунистических инфекций?
3. Какие грамм (+) кокки являются возбудителями оппортунистических инфекций?
4. Какие методы микробиологических исследований проводятся при диагностике условно-патогенных микроорганизмов.

**Тема: Дисбактериоз. Нормальная микрофлора**

**План лекции:**

1. Особенности нормальной микрофлоры.
2. Причины развития, клинические проявления, лечение дисбактериоза.
3. Микробиологическая диагностика дисбактериоза.

**1. Особенности нормальной микрофлоры.**

**Нормальная микрофлора** (**эубиоз**) - это качественное и количественное соотношение разнообразных популяций микробов отдельных органов и систем, поддерживающее биохимическое, метаболическое и иммунологическое равновесие, необходимое для сохранения здоровья человека. Важнейшей функцией микрофлоры является ее участие в формировании резистентности организма различным заболеваниям и обеспечение предотвращения колонизации организма человека посторонними микроорганизмами.

**Вся микрофлора кишечника подразделяется на**:

* [**облигатную**](http://propionix.ru/obligatnaya-mikroflora-kishechnika) - главная или индигенная микрофлора (в ее состав входят бифидобактерии и бактероиды), которые составляют около 90% от общего числа микроорганизмов;
* [**факультативную**](http://propionix.ru/fakultativnaya-mikroflora-kishechni) - сапрофитная и условно–патогенная микрофлора (лактобактерии, эшерихии, энтерококки), которая составляет около 10% от общего числа микроорганизмов;
* **остаточную** (в том числе и транзиторную) - случайные микроорганизмы (протеи, дрожжи, клостридии, стафилококки, аэробные бациллы и др.), которая составляет менее 1% от общего числа микроорганизмов.

**Функция микрофлоры**

1. Колонизационная резистентность – нормальная микрофлора, предотвращает колонизацию биотопов организма посторонними в т. ч. патогенными микроорганизмами;
2. Переваривание и детоксикация экзогенных субстратов и метаболитов;
3. Иммунизация организма;
4. Синтез витаминов, аминокислот, белков;
5. Участие в обмене желчных кислот, мочевой кислоты, липидов, углеводов, стероидов;
6. Антиканцерогенное действие.

**Наибольшей обсемененностью характеризуются:**

**1) *толстый кишечник*.** В составе нормальной микрофлоры преобладают анаэробные бактерии (96–99 %) (бактероиды, анаэробные молочнокислые бактерии, клостридии, анаэробные стрептококки, фузобактерии, эубактерии, вейлонеллы), аэробные и факультативно-анаэробные бактерии (1–4 %) (грамотрицательные колиформные бактерии – кишечная палочка, энтерококки, стафилококки, протеи, псевдомонады, лактобациллы, грибы рода Candida, отдельные виды спирохет, микобактерий, микоплазм, простейших и вирусов);

**2) *ротовая полость*.** Нормальная микрофлора разных отделов ротовой полости различна и определяется биологическими особенностями обитающих здесь видов. Представители микрофлоры ротовой полости делятся на три категории:

а) стрептококки, нейссерии, вейлонеллы;

б) стафилококки, лактобактерии, нитевидные бактерии;

в) дрожжеподобные грибы;

**3) *мочевыделительная система*.** Нормальная микрофлора наружной части уретры у мужчин и женщин представлена коринебактериями, микобактериями, грамотрицательными бактериями фекального происхождения и неспорообразующими анаэробами (это пептококки, пептострептококки, бактероиды). На наружных половых органах у мужчин и женщин локализуются микобактерии смегмы, стафилококки, микоплазмы и сапрофитные трепонемы;

**4) верхние дыхательные пути.** Собственная микрофлора носа состоит из коринебактерий, нейссерий, коагулазо-отрицательных стафилококков и α-гемолитических стрептококков; в качестве транзиторных видов могут присутствовать S. aureus, E. coli, β-гемолитические стрептококки. Микрофлора зева более разнообразна из-за смешивания микрофлоры полости рта и воздухоносных путей и состоит из: нейссерий, дифтероидов, α– и β-гемолитических стрептококков, энтерококков, микоплазм, коагулазо-отрицательных стафилококков, моракселл, бактероидов, боррелий, трепонем и актиномицетов. В верхних дыхательных путях преобладают стрептококки и нейссерии, встречаются стафилококки, дифтероиды, гемофильные бактерии, пневмококки, микоплазмы, бактероиды;

**5) кожа**, особенно ее волосистая часть. В связи с постоянным контактом с внешней средой кожа является местом обитания транзиторных микроорганизмов, при этом имея постоянную микрофлору, состав которой различен в разных анатомических зонах и зависит от содержания кислорода в окружающей бактерии среде, а также от близости к слизистым оболочкам, особенностей секреции и других факторов. Состав резидентной микрофлоры кожи и слизистых оболочек характеризуется наличием Staphylococcus epidermidis, S. aureus, Micrococcus spp., Sarcinia spp., Propionibacterium spp., коринеформными бактериями. В состав транзиторной микрофлоры входят: Streptococcus spp., Peptococcus cpp., Bacillus subtilis, Escherichia coli, Enterobacter spp., Acinebacter spp., Moraxella spp., Pseudomonadaceae, Lactobacillus spp., Nocardiodes spp., aspergillus spp., Candida albaicans.

* 1. **Причины развития, клинические проявления, лечение дисбактериоза.**

**Дисбактериоз (дисбиоз)** – это любые количественные или качественные изменения типичной для данного биотопа нормальной микрофлоры человека, возникающие в результате воздействия на макро– или микроорганизм различных неблагоприятных факторов.

**Причины дисбактериоза кишечника**

**Антибиотики**, длительное и бесконтрольное их применение, низкое качество препаратов, неправильный их путь применения, необоснованный приём (например, при насморке, без назначения врача), приводит к снижению иммунитета, который в свою очередь усиливает размножение грибов (типа Кандида), и других условно-патогенных микробов (например, стафилококки), приводя к нарушению равновесия между полезными микробами и «плохими» микробами. Кроме того, антибиотики, обладают антимикробным действием, т.е. убивают бактерии, как чужеродные, так и полезные;

**Химиопрепараты, гормонотерапия, радиотерапия, воздействие радиации,**так же приводят к снижению иммунитета, вследствие чего нарушается нормальная флора кишечника;

**Нерациональное питание,**приводит к возможному развитию дисбактериоза, в тех случаях, если в рационе преобладают углеводы, белки животного происхождения и жиры и отсутствуют свежие овощи и фрукты. В этом случае происходят бродильные процессы в кишечнике, с последующим развитием гнилостной флоры. Употребление фруктов и овощей, которые были выращены с неконтролируемым количеством пестицидов и удобрений, которые способствуют уничтожению микробов в кишечнике. Отсутствие в рационе кисломолочных продуктов;

**Острые или хронические кишечные инфекции**, приводят к вытеснению нормальной флоры кишечника и размножению патогенной;

**Паразитарные заболевания кишечника (аскаридоз)**, выделяют вещества, которые уничтожают микробы нормальной флоры кишечника;

**Состояния, сопровождающие снижением иммунитета** (онкологические заболевания, [сахарный диабет](http://www.polismed.com/subject-sakharnyjj-diabet.html), [цирроз печени](http://www.polismed.com/subject-cirroz.html), [СПИД](http://www.polismed.com/subject-spid-vich-infekcija.html), и другие);

**Недоношенные дети, старческий возраст,**связаны со слабой иммунной системой и возрастными особенностями кишечной флоры.

**Симптомы дисбактериоза**

Диспепсический синдром – диарея (иногда –чередование [запоров](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_proctology/constipation) и [поносов](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_proctology/diarrhea)), метеоризм, вздутие живота, отрыжка и неприятный привкус во рту, урчание в кишечнике.

У многиx (особенно у детей), страдающих кишечным дисбактериозом, возникают не характерные ранее аллергические реакций на продукты питания. Реакции могут быть как обычного аллергического характера ([крапивница](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_dermatologia/urticaria), кожный зуд, [бронхоспазм](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_pulmonology/asthma), ангионевротический отек), так и кишечного (жидкий пенящийся стул, резкая боль в животе, тошнота вплоть до рвоты, [понижение артериального давления](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_cardiology/arterial-hypotension)).

Синдром [мальабсорбции](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_gastroenterologia/malabsorption) – нарушение всасывания в кишечнике различных необходимых питательных веществ проявляется недостаточностью субстратов обмена – белково-энергетическая недостаточность, различные [гиповитаминозы](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_gastroenterologia/hypovitaminosis), в первую очередь, как правило, по группе витаминов В, анемия, нарушения ионного баланса, недостаточность кальция и др.

Интоксикация организма – слабость, отсутствие аппетита, субфебрилитет, [головные боли](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_neurology/headache).

Снижение иммунитета – учащение инфекционных заболеваний (ОРЗ, [ОРВИ](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/infectious/respiratory-viral-infections), [герпес](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/infectious/herpetic-infection)), [грибковые заболевания](http://www.krasotaimedicina.ru/diseases/zabolevanija_dermatologia/fungus_infection).

**3. Микробиологическая диагностика дисбактериоза.**

**Бактериологическое исследование.**

Данная диагностика позволяет выявить до 25 видов бактерий. Этот анализ помогает установить соотношение патогенных и полезных бактерий.

**Посев кала на дисбактериоз.**

Данный анализ позволяет установить степень размножения болезнетворных бактерий в кишечнике, а также чувствительность микрофлоры к антибиотикам.

**Копрограмма.** Данное исследование определяет наличие воспалительного процесса в кишечнике.

**Экскреторный тест.** Этот метод в течение нескольких часов позволяет идентифицировать состав бактерий, которые населяют кишечник.

**Схема проведения анализа по дням исследования.**

Для выявления анаэробной микрофлоры рекомендуется разводить испражнения физиологическим раствором в 10 раз. Из этого основного разведения делают ряд последующих (1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000).

1 день: приготовление разведений фекалий и засев материала на плотные элективные и дифференциальные питательные среды (Плоскирева, ЖСА, Эндо, Эндо кровяной, желчно-кровяной, Сабуро, скошенный МПА по Шукевичу), на среды Вильсона — Блера (2 пробы: гретая и негретая), Блаурокка. Параллельно с прямым посевом испражнений делают посев на среды обогащения. Производится подготовка чашки с глюкозной средой для определения антагонистической активности исследуемой флоры.

2 день: просмотр чашек Петри, изучение выросших колоний, пересев подозрительных колоний со сред Эндо, Плоскирева на среду Клиглера; характеристика роста на скошенном МПА по Шукевичу (наличие или отсутствие ползучего роста), высев со среды накопления на плотные питательные среды (висмут-сульфитная среда); снятие подозрительных колоний с желчно-кровяного агара, с Эндо с кровью на кровяной агар; просмотр пробирок со средой Вильсона — Блера, пересев подозрительных колоний.

3 день: просмотр чашек со средами ЖСА (микроскопия, постановка тестов: плазма, маннит и др.), Сабуро (микроскопия; дальнейшая идентификация), кровяной агар (микроскопия, дальнейшая идентификация, биохимический ряд для идентификации энтерококков: молоко с синькой, маннит, ЭДДС, EF-агар), просмотр чашек на анаэробы, учет результатов роста на скошенной среде Клиглера (мазки, агглютинация), постановка пестрых рядов.

4 день: учет результатов биохимических тестов на стафилококки, энтерококки, энтеробактерии, анаэробы. Определение вида кандид. Постановка чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Просмотр чашек с висмут-сульфитной средой, снятие подозрительных колоний на среду Клиглера. Посев на чашку с глюкозной средой музейных патогенных культур (S. typhi murium, Sh. sonnei, St. aureus и др.) для определения антагонистической активности исследуемой микрофлоры.

5 день: просмотр пробирок со средой Блаурокка (микроскопия), учет чувствительности к антибиотикам выделенных культур; отбор подозрительных культур со среды Клиглера, агглютинация, постановка пестрых рядов, чувствительности к антибиотикам выделенных культур; просмотр среды Вильсона — Блера, при почернении среды с гретой культурой — постановка пестрого ряда (молоко с синькой, глюкоза, лактоза, маннит, сахароза, дульцит, мальтоза; МПА кровяной, ЖСА). Учет антагонистической активности.

6 день: идентификация выделенных культур, высеянных со среды накопления, учет чувствительности к антибиотикам выделенных культур. Идентификация клостридий по классическим методикам. Выдача окончательного ответа. Все штаммы, подозрительные по культуральным и биохимическим признакам в отношении принадлежности к патогенным энтеробактериям, должны быть идентифицированы серологически.

**Питательные среды**

Среда Блаурокка – для выделения бифидобактерий,

МРС агар для выделения лактобактерий,

Среда Эндо, Плоскирева, Левина – для выделения кишечных палочек и условно-патогенных энтеробактерий,

ЖСА – стафилококки,

Среда Вильсон – Блера – спорообразующие анаэробы – клостридии,

Среда Сабуро – дрожжеподобные грибы – рода Candida,

Кровяной МПА – гемолитические микроорганизмы.

**Лечение дисбактериоза**

**Пребиотики** — неперевариваемые составные части пищи, которые способствуют улучшению здоровья за счет стимуляции активности или роста определенных групп бактерий, обитающих в толстой кишке. Пребиотики подвергаются обработке пищеварительными ферментами и не впитываются в верхних отделах пищеварительного тракта. Пребиотики находятся в молочных продуктах, кукурузных хлопьях, крупах, хлебе, луке репчатом, цикории полевом, чесноке, фасоли, горохе, артишоке, аспарагусе, бананах и многих других продуктах. Их свойства наиболее выражены во фруктозо-олигосахаридах (ФОС), инулине, галакто-олигосахаридах (ГОС), лактулозе, лактитоле.

**Синбиотики** — это смесь пробиотиков и пребиотиков. Синбиотики оказывают положительный эффект на здоровье человека, одновременно улучшая выживаемость в кишечнике живых бактериальных добавок и избирательно стимулируя рост и активацию деятельности лактобактерий и бифидобактерий.

**Бактериофаги** – специальные вирусы, которые действуют на один строго определенный вид бактерий (протейный, колипротейный, стафилококковый, синегнойный и др.).

**Антибактериальные препараты** (противогрибковые, при стафилококковой инфекции, синегнойной палочке и т.д.).

**Вопросы для закрепления:**

1. Дайте определение понятию нормальная микрофлора.
2. Дайте определение понятию дисбактериоз.
3. Перечислите и охарактеризуйте м/о, относящиеся к факультативной и облигатной микрофлоре.
4. Дифференциально-диагностические среды, используемые при диагностике дисбактериоза.

**Тема: Этиология оппортунистических инфекций**

**План лекции:**

1. Понятие оппортунистические инфекции.
2. Этиология гнойно-воспалительных оппортунистических инфекций, бактериемия, сепсис.
3. Этиология бронхо-легочных, урологических, кишечных, оппортунистических инфекций.

**1. Понятие оппортунистические инфекции.**

Оппортунистические инфекции (лат. *opportunus* – склонный к заболеваниям) –инфекции, вызванные условно-патогенными микроорганизмами и развивающиеся на фоне иммунодефицитного состояния макроорганизма (иммунокомпрометированные хозяева).

*В возникновении оппортунистических инфекций играют роль 3 фактора:*

* Гетерогенная (измененная) по вирулентности доза возбудителя и наличие у него определенного набора факторов патогенности;
* Снижение защитных сил макроорганизма;
* Неблагоприятные условия окружающей среды (высокая обсемененность возбудителями воздуха и объектов в стационаре).

*Принципы лабораторной диагностики оппортунистических инфекций:*

* биоценотический (изучение всех видов микроорганизмов, присутствующих в патологическом материале);
* популяционный (исследование из каждого материала определенного числа культур одного вида микробов);
* количественный (определение численности микроорганизмов в материале);
* химиотерапевтический (изучение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам и антисептикам);
* эпидемиологический (фено- и генотипирование микроорганизмов).

Результаты микробиологической диагностики в клинической микробиологии зависят не только от правильно проведенного исследования, но и от правильной интерпритации анализа.

1. **Этиология гнойно-воспалительных оппортунистических инфекций, бактериемия, сепсис.**

**Бактериемия**как фаза патогенеза закономерна при заболева­ниях, передающихся кровососущими насекомыми, а также при брюшном тифе, лептоспирозе, бруцеллезе, листериозе, менингококковой инфекции. Инфекции, вызываемые условно – патогенными микроорганизмами, нередко осложняются бактериемией. В этих случаях при тяжелом течении болезни может развиться сепсис.

**Сепсис** - тяжелое генерализованное острое или хроническое инфекционное заболевание. Основным местом обитания и размножения возбудителя при сепсисе является кровь больного.

Различают септицемию и септикопиемию.

При септицемии (первичном сепсисе) возбудитель непосредственно из входных ворот, при отсутствии первичного локального очага проникает в кровь, размножается в ней, вызывая сепсис. Септикопиемия (вторичный, метастатический сепсис) возникает в результате генерализации локального инфекционного процесса. В зависимости от первичного очага выделяют раневой, послеродовый, пупочный, урогенный, стоматогенный, ожоговый, генитальный и другие формы сепсиса.

Для сепсиса в отличие от бактериемии характерны утрата кровью антимикробных свойств (что и позволяет микроорганизмам размножаться в крови), сочетание признаков инфекции, интоксикации и повышенной реактивности организма. Исход сепсиса тяжелый. Средняя летальность при хирургической форме сепсиса составляет 30—40%, а при полимикробном, ятрогенном, абдоминальном сепсисе и сепсисе у новорожденных почти в 2 раза выше.

Сепсис - полиэтиологическое заболевание. В этиологии большинства форм сепсиса ведущее место занимают эпидермальные и золотистые стафилококки, менее значимую роль играют эшерихии, протеи, клебсиеллы и другие условно-патогенные виды энтеробактерий, псевдомонады, стрептококки (пиогенные, пневмонии, фекальные), бактероиды, дрожжеподобные грибы Candida и др. Обычно сепсис вызывает какой-либо один вид микроорганизмов, но примерно в 7—10% случаев наблюдается ассоциация из двух и даже трех возбудителей.

Ведущее значение в развитии сепсиса принадлежит недостаточности иммунной системы, выражающейся, в частности, в ее неспособности локализовать возбудителя в месте первичного очага. Вероятность развития сепсиса также резко повышается при попадании в кровь больших количеств возбудителя и его высокой вирулентности. Часто возбудителями сепсиса являются больничные штаммы или эковары, обладающие не только высокой вирулентностью, но и лекарственной устойчивостью ко многим препаратам.

Микробиологическая диагностика сепсиса состоит в выделении культуры из крови (гемокультуры) и установлении пораженного звена иммунной системы организма.

**Этиология оппортунистических гнойно-воспалительных инфекций**

Гнойные (гнойно-воспалительные) инфекции могут быть острыми и хроническими, местными (локальными), системными и генерализованными. Локальные и системные в свою очередь делят на несколько групп, различающихся по происхождению, локализации и этиологии.

**Этиология раневой и ожоговой инфекции**

Этиологическая структура раневой инфекции зависит от типа и локализации раны, времени и места инфицирования. При бытовых, производственных, боевых ранениях микроорганизмы проникают в рану с поверхности ранящего орудия, одежды, поврежденного участка кожи и органов, содержащих собственную микрофлору. Эти условно-патогенные микроорганизмы обладают низкой вирулентностью и чувствительностью к антибиотикам и антисептикам. Во время пребывания в больничном стационаре может происходить инфицирование раны другими видами возбудителей или тем же видом, но иным вариантом. Как правило, вновь попавшие в рану микроорганизмы относятся к больничным эковарам, они устойчивы к факторам неспецифической защиты организма хозяина и антимикробным препаратам. В результате происходит вытеснение внебольничных вариантов из раны.

Возбудителями гнойно-воспалительных процессов при ране­ниях кожи и мягких тканей на первом этапе являются золотистый и эпидермальный стафилококки, реже — пиогенный стрептококк, протей, синегнойные бактерии, энтеробактерии, бактероиды. В этих случаях в ране нередко обнаруживаются монопопуляции. На последующих этапах возрастает процент смешанных инфек­ций, причем частыми компонентами микробных ассоциаций ста­новятся кишечная палочка, клебсиеллы, энтеробактер, протей, синегнойные бактерии, аспорогенные анаэробы.

При ранениях промежности, малого таза и брюшной полости с повреждением внутренних органов больший удельный вес име­ют бактероиды, энтеробактерии, псевдомонады и их ассоциации.

Операционные раневые инфекции делятся на эндогенные и экзогенные, первичные и вторичные. При эндогенном инфицировании возбудители попадают в рану с кожи в области операционного поля, вскрытых инфекционных очагов и полых органов, содержащих собственную микрофлору. Видовой состав возбуди­телей в этом случае соответствует таковому оперированных тка­ней и органов.

Первичная операционная инфекция раны может возникнуть в результате экзогенного заноса возбудителя при оперативном вмешательстве. В этих случаях возбудителями раневой инфекции становятся больничные штаммы, циркулирующие в данном отделении. Вторичная раневая инфекция, как и первичная на позднем этапе развития, в основном обусловлена больничными вариантами бактерий. Она чаще носит смешанный характер с преобладанием грамотрицательных бактерий.

Ожоговая инфекция во многом близка к раневой. Инфициро­вание раны сразу после ожога происходит с неповрежденных участков кожи или слизистой оболочки, с одежды, из воздуха и других объектов внешней среды. В стационаре внебольничная микрофлора заменяется больничными эковарами. Возбудителями ожоговой инфекции являются стафилококки, пиогенный стрептококк, синегнойные бактерии, кишечная палочка, энтеробактерии. При глубоких ожогах — анаэробные бактерии.

Для ожоговой инфекции характерны частое присутствие в ране нескольких видов микроорганизмов, выраженная гетероген­ность их популяций, высокая устойчивость к антимикробным пре­паратам, постоянное изменение видового и вариантного состава возбудителей. Ожоговая инфекция нередко осложняется сепси­сом с высокой летальностью.

**Этиология гнойных воспалений различных органов и тканей**

Острый гнойный отит у взрослых вызывают различные виды стафилококков, пиогенный стрептококк, у детей – стрептококк пневмонии, клебсиелла пневмонии, кишечная палочка, а также анаэробные стрептококки.

Возбудителями хронического среднего отита являются ассоциации грамотрицательных бактерий (протеи, синегнойные бактерии), а также анаэробов (бактероидов, фузобактерий). Острые формы гайморита и фронтита обычно вызывают стафилококки, стрептококки, хронические – ассоциации видов, среди которых часто встречаются протеи, клебсиелла пневмонии, кишечная палочка, синегнойные бактерии.

Ограниченный гнойный паротит вызывают стафилококки, флегмонозный и гангренозный – пиогенный стрептококк.

В этиологии послеродового мастита главная роль принадлежит золотистому стафилококку. После самостоятельного или хирургического вскрытия гнойного очага состав возбудителей расширяется за счет грамотрицательных бактерий.

Ведущая роль в этиологии панариция принадлежит золотистому и эпидермальному стафилококкам. После вскрытия к основным возбудителям присоединяются грамотрицательные бактерии.

Гнойный аппендицит вызывают ассоциации аутохтонных для кишечника микроорганизмов: кишечная палочка, бактероиды, протеи, другие энтеробактерии. Во время операции возможен занос больничных штаммов стафилококков, кишечной палочки. Основными возбудителями холецистита и гнойного панкреатита являются кишечная палочка, стафилококк, протеи.

Гнойный парапроктит вызывают ассоциации грамотрицательных и грамположительных, аэробных и анаэробных бактерий, в которых ведущая роль принадлежит кишечной палочке и бактероидам.

Гнойный перитонит возникает в результате нарушения проницаемости или разрыва стенок органов брюшной полости, при заносе микроорганизмов гематогенным и лимфогенным путем из других органов больного, а также во время оперативных вмешательств и при ранениях. Возбудителями перитонита при эндогенной инфекции являются ассоциации кишечной палочки, бактероидов, протея, энтеробактера, клебсиелл, фекального стрептококка, часто в ассоциации со стафилококком. Послеоперационный перитонит вызывают больничные штаммы стафилококков, кишечной палочки, а также других грамотрицательных бактерий.

Острый гематогенный остеомиелит вызывают золотистый стафилококк, хронические и травматические – ассоциации стафилококков с грамотрицательными бактериями, часто больничные варианты, устойчивые к многим антимикробным препаратам.

Омфалит развивается обычно в первые 10 дней после рождения в результате инфицирования пупочной ранки эпидермальным и золотистым стафилококками, а также кишечной палочкой, синегнойными бактериями.

**Этиология оппортунистических бронхолегочных инфекций**

Оппортунистические инфекции бронхов и легких протекают в виде бронхита, пневмонии, абсцесса и гангрены легкого, эмпиемы плевральной полости. Заражение происходит главным образом воздушно-капельным путем из внешней среды, а также верхних дыхательных путей самого больного. Нередко возбудители проникают из крови (при сепсисе), при оперативных вмешательствах, эндоскопических процедурах, во время интратрахеального введения аэрозолей и растворов, контаминированных микроорганизмами.

Занос условно-патогенных микроорганизмов в дыхательные пути приводит к развитию инфекции при высокой инфицирующей дозе возбудителя, нарушении целостности слизистой оболочки и снижении самоочищающей функции Дыхательных путей. Иммунодефицитные состояния повышают риск развития инфекции.

Возбудителями острых бронхитов в большинстве случаев первоначально являются вирусы (гриппа, парагриппа, адено-, риновирусы). Но в ряде случаев первичным этиологическим агентом могут быть и бактерии (стрептококки пневмонии, гемофилы инфлюэнцы и др.). К вирусной инфекции обычно присоединяется вторичная бактериальная, микоплазменная, реже – грибковая, и процесс приобретает гнойно-воспалительный характер.

Хронический бронхит вызывают разнообразные микробные ассоциации, прежде всего стрептококк пневмонии, палочка инфлюэнцы, золотистый и эпидермальный стафилококки, нередко — кишечная палочка, клебсиеллы пневмонии, протеи, нейссерии, акинетобактерии, энтеробактеры, дрожжеподобные грибы рода Candida и др. Состав ассоциаций в течение болезни меняется, а если больной находится в условиях госпитального режима, то в патологических очагах присутствуют преимущественно больничные варианты условно-патогенных бактерий.

Абсцесс легкого вызывают гноеродные кокки (стафилококки, стрептококки) в ассоциации с анаэробными и грамотрицательными бактериями. Возбудителями гангрены легкого являются бактероиды, другие анаэробные бактерии в ассоциации с гноеродными кокками и энтеробактериями.

Острую пневмонию чаще вызывают стрептококки пневмонии в монопопуляции или в ассоциации со стафилококками и грамотрицательными бактериями. Около 10—30% острых пневмоний у детей вызывают вирусы и микоплазмы.

Хроническая пневмония чаще имеет полимикробную этиологию. Ассоциации состоят из тех же видов, которые встречаются при хроническом бронхите и острой пневмонии. По типу хронической пневмонии протекает заболевание, вызванное условно-патогенными микобактериями.

**Этиология оппортунистических урологических инфекций.**

Оппортунистические урологические инфекции протекают в виде гломерулонефрита, пиелонефрита, околопочечных абсцессов, цистита, простатита, уретрита.

Течение перечисленных инфекций нередко осложняется уретральной лихорадкой, уросепсисом.

В мочеполовой аппарат условно-патогенные бактерии проникают гематогенным путем, при травмах органов мочеполового аппарата, при их контакте с инфицированными органами малого таза, но наиболее часто — восходящим путем, через уретру. Дальнейшее развитие инфекции зависит от инфицирующей дозы возбудителя и особенно от состояния местного и общего иммунитета.

Гломерулонефрит обычно вызывают нефрогенные штаммы пиогенного стрептококка, а также стафилококки. Остальные урологические инфекции вызывают главным образом энтеро-бактерии, прежде всего эшерихии и протеи.

Уропатогенные кишечные палочки относятся к определенным серогруппам эшерихии, содержат Р-адгезины к эпителию мочевых путей, образуют капсулу, часто выделяют гемолизины. Острые инфекции обычно вызываются одним видом, хронические и послеоперационные — ассоциацией возбудителей.

Микробиологический диагноз оппортунистических уроинфекций так же, как гнойных и респираторных, устанавливают путем выделения чистой культуры с применением количественных методов.

**Этиология оппортунистических острых кишечных инфекций.**

Оппортунистические острые кишечные инфекции (заболевания — ОКЗ) вызывают кишечные палочки, цитробактеры, клебсиеллы, энтеробактеры, серрации, протеи, псевдомонады, кампилобактеры, гемолитические вибрионы, золотистые стафилококки, энтерококки, клостридии перфрингенс, а также многие другие бактерии.

Заболевания, вызванные перечисленными видами, чаще протекают по типу пищевой токсикоинфекции, реже — интоксикаци (стафилококковая, клостридиальная) и инфекционного заболевания (эшерихиозы, кампилобактериозы). Заражение происходит в результате приема контаминированной микроорганизмами пищи, в которую они попадают от больных и бактерионосителей, реже — от животных. В пищевых продуктах бактерии способны размножаться при комнатной температуре, а псевдомонады и клебсиеллы — при температуре бытового холодильника. Кроме алиментарного пути, возможна передача возбудителей контактно-бытовым путем и через воду, но эти пути менее эффективны, так как не обеспечивают попадания в организм достаточной инфицирующей дозы.

В развитии заболевания, кроме высокой инфицирующей дозы и патогенности возбудителя, большое значение имеют условия, способствующие быстрому и массовому его размножению в кишечнике. У стафилококков и клостридии главным фактором пато­генности является экзотоксин, у остальных микроорганизмов — эндотоксин, который выделяется в больших количествах при мас­совом распаде попавших в кишечник бактерий.

 Клиническая картина ОКЗ проявляется в виде гастрита, энтерита, колита, гастроэнтероколита.

Для лабораторной диагностики оппортунистических ОКЗ ис­пользуют количественный бактериологический метод. При затяж­ных и хронических формах в сыворотке крови больного опреде­ляют нарастание титра антител к доминирующей аутокультуре.

**Вопросы для закрепления:**

* + 1. Дать понятие оппортунистической инфекции.
    2. Какие УПБ вызывают гнойно-воспалительные заболевания.
    3. Какие УПБ вызывают острые кишечные инфекции.
    4. Какие УПБ вызывают бронхо-легочные инфекции

**Тема: Внутрибольничные инфекции**

**План лекции:**

1. Этиология и развитие ятрогенных инфекций.
2. Лабораторная диагностика ВБИ.
3. Антибиотикорезистентность природа этого явления.

Внутрибольничные (или нозокомиальные - инфекции – инфекционные заболевания, связанные с пребыванием, лечением, обследованием и обращением за медицинской помощью в лечебно-профилактическое учреждение. Присоединяясь к основному заболеванию, внутрибольничные инфекции ухудшают течение и прогноз болезни.

Внутрибольничные инфекции (ВБИ) в последние годы приобрели исключительно большое значение для всех стран мира, – как промышленно развитых, так и развивающихся. В этом отношении страны СНГ не являются исключением. Увеличение числа лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ), создание новых видов медицинского (терапевтического и диагностического) оборудования, применение новейших препаратов с иммунодепрессивными свойствами, искусственное подавление иммунитета при пересадке органов и тканей, а также многие другие факторы усиливают угрозу распространения инфекций среди больных и персонала ЛПУ. Совершенствование методов диагностики позволяет узнавать не изученные ранее особенности эпидемиологии, казалось бы, известных инфекций (вирусный гепатит В) и выявлять новые нозологические формы инфекций, относящихся к ВБИ (вирусные гепатиты С, D, F, G, СПИД, болезнь легионеров и др.). В связи с этим становятся вполне очевидными причины информационного взрыва в области ВБИ и борьбы с ними.

Проблема ВБИ приобрела еще большее значение в связи с появлением так называемых госпитальных (как правило, полирезистентных к антибиотикам и химиопрепаратам) штаммов стафилококков, сальмонелл, синегнойной палочки и других возбудителей. Они легко распространяются среди детей и ослабленных, особенно пожилых, больных со сниженной иммунологической реактивностью, которые представляют собой группу риска.

**Причины возникновения и распространения ВБИ**

Выделяют следующие основные причины развития внутрибольничных инфекций:

* Формирование и селекция госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью.
* Нерациональное проведение антимикробной химиотерапии и отсутствие контроля за циркуляцией штаммов с лекарственной устойчивостью.
* Значительная частота носительства патогенной микрофлоры (например, золотистого стафилококка) среди медицинского персонала (достигает 40%).
* Создание крупных больничных комплексов со своей специфической экологией – скученностью в стационарах и поликлиниках, особенностями основного контингента (преимущественно ослабленные пациенты), относительной замкнутостью помещений (палаты, процедурные кабинеты и т.д.).
* Нарушение правил асептики и антисептики, отклонения от санитарно-гигиенических норм для стационаров и поликлиник.

Спектр возбудителей внутрибольничных инфекции охватывает вирусы, бактерии, грибы и простейших. Он представлен наиболее вирулентными госпитальными штаммами. Ежегодно их число увеличивается, преимущественно за счёт условно-патогенных микроорганизмов. Основные возбудители бактериальных инфекций – стафилококки, пневмококки, грамотрицательные энтеробактерии, псевдомонады и анаэробы. Ведущую роль играют стафилококки (до 60% всех случаев внутрибольничных инфекции), грамотрицательные бактерии, респираторные вирусы и грибы рода Candida.

1. Бактерии:

a) Стафилококки

b) Стрептококки

c) Синегнойная палочка

d) Энтеробактерии

e) Эшерихии

f) Сальмонеллы

g) Шигеллы

h) Иерсинии

i) Мистерия

j) Кампилобактерии

k) Легионеллы

l) Клостридии

m) Неспорообразующие анаэробные бактерии

n) Микоплазмы

o) Хламидии

p) Микобактерии

q) Бордетеллы

2. Вирусы:

a) HBV, HCV, HDV

b) ВИЧ

c) Вирусы гриппа и другие ОРВИ

d) Вирус кори

e) Вирус краснухи

f) Вирус эпидемичесокго паротита

g) Ротавирусы

h) Вирус герпеса

i) Цитомегаловирусы

3. Простейшие:

a) Пневмоцисты

b) Криптоспоридии

4. Грибы:

a) Candida

b) Aspergilla

**Наиболее часто встречаемые возбудители ВБИ.**

**Микроорганизм и а/б резистентность.**

Enterobacteriaceae. Устойчивость ко всем цефалоспоринам, обусловленная беталактамазами широкого спектра действия (ESBL). Некоторые микробы (например, Klebsiella) становятся резистентными практически ко всем доступным антибиотикам. Ассоциированная устойчивость к гентамицину, тобрамицину; в некоторых ЛПУ тенденция к росту ассоциированной резистентности к фторхинолонам, амикацину.

Pseudomonas spp., Acinetobacter spp. Ассоциированная устойчивость к цефалоспоринам, амино-гликозидам, фторхинолонам, иногда карбапенемам.

Enterococcus spp. Ассоциация устойчивости к пенициллинам, высокого уровня устойчивости к аминогликозидам, фторхинолонам и гликопептидам. Опасная тенденция роста устойчивости к ванкомицину.

Staphylococcus spp. Опасная тенденция нарастания метициллин-резистентности. По всему миру появляются штаммы, устойчивые к ванкомицину. Ассоциированная устойчивость к макролидам, аминогликозидам, тетрациклинам, котримоксазолу, фторхинолонам.

Candida spp. Нарастание устойчивости к амфотерицину В, азолам.

Штаммы бактерий, выделенные от пациента с нозокомиальными инфекциями, как правило, более верулентны и обладают множественной химиорезистентностью. Широкое использование антибиотиков с лечебной и профилактической целями лишь частично подавляет рост устойчивых бактерий и приводит к селекции устойчивых штаммов. Происходит формирование «порочного круга» — возникающие ВБИ требуют применения высокоактивных антибиотиков, способствующих в свою очередь более устойчивых микроорганизмов.

Не менее важным фактором следует считать развитие дизбактериозов, возникающих на фоне антибиотикотерапии и приводящих к колонизации органов, и тканей условно-патогенными микроорганизмами.

Ятрогенная/нозокомиальная инфекция – заболевания, связанные с оказанием медицинской помощи.

Внутрибольничные/госпитальные инфекции – инфекционные заболевания, возникающие у больных после госпитализации (но, не ранее чем через 48 часов после госпитализации) либо посещения лечебного учреждения с целью лечения, а также у медицинского персонала в силу осуществляемой им деятельности.

*ВБИ или нозокомиальные инфекции делятся на следующие группы:*

1. Амбулаторная инфекция;

2. Госпитальная инфекция;

3. Лабораторная инфекция (чаще всего дизентерия и гепатиты);

4. Инфекция, связанная с профилактическими мероприятиями:

* инфекции, возникающие при профилактических осмотрах (трихомониаз, гепатиты, занесенные при заборе крови);
* инфекции, развивающиеся при вакцинации (например, постинъекционные абсцессы и другие заболевания).

**Микробиологическая диагностика**

Микробиологические методы имеют решающее значение в постановке этиологического диагноза оппортунистических инфекций, выработке рациональной схемы терапии и предупреждении развития рецидивов заболевания.

Микробиологические исследования при оппортунистических инфекциях направлены на выделение не одного, а нескольких основных микробов, находящихся в исследуемом материале, а не на индикацию одного специфического патогена, как это принято при заболеваниях, вызванных патогенными микробами.

Основным методом микробиологической диагностики оппортунистических инфекций является бактериологический.

При использовании этого метода следует учитывать:

•  в материале от больного, как правило, присутствует ассоциация микробов, в которую входят как возбудители заболевания, так и заносные из других органов и внешней среды виды, а также микробы, которые могут попасть в материал при его заборе и доставке;

•  количественный и видовой состав микрофлоры варьирует у разных больных и меняется в процессе болезни, особенно при использовании антибактериальных препаратов.

 Достоверность бактериологического исследования зависит: от правильного забора материала от больного; применения эффективного набора дифференциально-диагностических и селективных питательных сред; использования количественного посева материала; этажности идентификации выделенных чистых культур (семейство, род, вид и в необходимых случаях вариант); определения свойств, указывающих на патогенность культур и их принадлежность к госпитальным штаммам.

Обязательным должно быть определение антибиотикограммы, а также свойств культур, необходимых для эпидемиологического анализа, - фаговара, серовара, резистенсвара и др.

С целью определения смены возбудителей и изменения их свойств микробиологический мониторинг следует проводить через каждые 5-7 дней.

*Микроскопический метод*позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (105 КОЕ/мл и более) и из-за близости морфологии бактерий позволяет только ориентировочно судить о возбудителе, относя его к крупным таксонам (палочки, кокки, спирохеты, грамположительные или грамотрицательные и т.п.). Результаты микроскопии могут быть использованы при выборе питательных сред для дальнейшего выделения возбудителя. При идентификации грибов и простейших возможности микроскопического метода несколько шире. Введение в практику РИФ расширяет возможности микроскопического метода, но и в этом случае он не может заменить бактериологический метод, поскольку не позволяет определить чувствительность возбудителя к химиотерапевтическим препаратам и ряд других необходимых для практики свойств.

*Серологический метод*имеет вспомогательное значение. С его помощью не удается установить спектр и уровень активности антимикробных препаратов по отношению к возбудителю болезни и провести внутривидовое типирование. Возможности серологического метода ограничивают выраженная мозаичность антигенной структуры многих УПМ, наличие к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены УПМ. Тем не менее при затяжных и хронических формах болезни серологический метод иногда позволяет установить этиологию болезни. Серологические реакции ставятся с парными сыворотками больного и аутокультурой, результат оценивается по сероконверсии в 4 раза и более. На сегодняшний день слабо разработаны диагностические препараты, основанные на иммунных реакциях (ИФА, иммунофлюоресцентные диагностикумы, моноклональные антитела) к УПМ.

*Биологический метод*обычно не используется из-за неспецифичности клинической картины, вызываемой УПМ у лабораторных животных, и содержания в патологическом материале микробных ассоциаций, которые при заражении животных претерпевают изменения.

*Аллергологический метод*в связи с отсутствием сенсибилизации или ее малой специфичностью не используется.

**Вопросы для закрепления:**

1. Дать понятие внутрибольничным инфекциям.
2. Причины возникновения и источники внутрибольничных инфекций.
3. Микроорганизмы – возбудители внутрибольничных инфекций.
4. Микробиологическая диагностика оппортунистических ВБИ.

**Тема: Микробиологическое исследование сердечнососудистой системы.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции сердечнососудистой системы
2. Биологический материал, подлежащий исследованию при заболевании сердечнососудистой системы.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций сердечнососудистой системы

Воспалительные поражения сердечно-сосудистой системы возникают вследствие прямого повреждающего действия инфекционных и неинфекционных агентов или в результате косвенного воздействия токсинов, что приводит к формированию аллергических, иммунных и аутоиммунных реакций.

В зависимости от механизмов развития болезни выделяют инфекционные, инфекционно-аллергические и токсико-аллергические поражения ССС. Клиническое течение инфекционных поражений ССС зависят от этиологии заболевания, остроты течения, вида и количества экссудата.

Инфекционные поражения сердца в настоящее время остаются одной из актуальных задач в кардиологии, так как смертность от СС заболеваний занимает первое место в структуре общей заболеваемости.

**Патогенез.** Механизм поражения сердца и сосудов при инфекционном заболевании и развивающихся клинических симптомах его сложен. Ведущее значение принадлежит микробным токсинам. Немалую роль играют аутотоксины - продукты распада пораженных тканей. Указанные токсические вещества влияют на рабочий (сократительный) миокард, вызывая в мышечных волокнах дистрофические или дегенеративные изменения вплоть до ценкеровского перерождения (при дифтерии) и появления очагов некоронарогенного некроза.

**Симптомы.** При раннем параличе сердца на фоне выраженного токсикоза возникают симптомы раздражения токсинами адреналовой системы (надпочечников и гипофиза). Больной жалуется на слабость, становится беспокойным, затем заторможенным, появляются судороги. Кожа бледная, присоединяется рвота, повышается температура тела, развивается, эксикоз, ацидоз, тахипноэ. Поражаются печень (желтушное окрашивание склер и кожи, увеличение размеров, болезненность при пальпации) и почки (протеинурия). Артериальное давление не изменено или повышено. Наблюдается выраженная тахикардия; нарушение ритма выявляется редко. Границы сердца в пределах нормы, тоны звучные. При тяжелой форме дифтерии на передний план может выступать острая сосудистая (коллапс) или сердечная недостаточность.

**Эндокардит**- воспаление эндокарда, которое сопровождается локализацией микроорганизмов на клапанах или на подклапанных структурах, приводящее к деструкции, нарушению функции и формированию недостаточности клапана.

**Перикардит**- воспалительный процесс серозной оболочки перикарда.

Этиологический фактор. Чаще вызываются вирусами, микобактериями туберкулеза, реже грибами.

Бактерии, вызывающие перикардит: Streptococcus pneumoniae, Stapylococcus aureus, Neisseria spp, Mycoplasma pneumoniae, Mycobacterium tuberculosis и др. микобактерии.

**Ревматизм**- Системное воспалительное заболевание соединительной ткани с преимущественной локализацией изменений в ССС.

**Этиологический фактор.** B-гемолитический стрептококк группы А.

Микробиология бактериальных поражений крови. В норме кровь стерильна. И хотя микроорганизмы иногда проникают в кровь из дыхательной и пищеварительной систем, они очень быстро удаляются из нее клетками ретикулоэндотелиальной системы.

**Возбудители инфекций крови и сосудов.** Stapylococcus aureus и др. стафилококки, Esherichia coli, Enterococcus spp, Klebsiella spp, Streptococcus pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Mycobacterium tuberculosis, Treponema pallidum, Bacillus cereus, Borrelia spp.

**Исследование крови.** Кровь — один из наиболее распространённых образцов клинического материала, исследуемых в бактериологической лаборатории. Ежегодно в мире отмечают не менее миллиона клинически проявляющихся случаев проникновения бактерий в кровоток, 30-50% которых заканчивается летально.

Основные показания для проведения бактериологического исследования крови — лихорадка (38 °С и выше), гипотермия (36 °С и ниже), лейкоцитоз (особенно со сдвигом влево) и гранулоцитопения.

**Бактериемия** — присутствие бактерий в крови; она может проявляться клинически либо протекать бессимптомно. При этом в крови практически здоровых пациентов могут транзиторно циркулировать S. epider-midis, P. melaninogenica, С. Perfringens и др. Бактериемии разделяют на грамотрицательные и грамположительные.

**Септицемия** — циркуляция и активное размножение бактерий в крови, сопровождающиеся характерными клиническими проявлениями различной выраженности, течением процесса и склонностью к образованию вторичных очагов. Наиболее часто возбудители септицемии диссеминируют в кровоток из очагов инфекции.

**Грамотрицательные бактериемии.** Наиболее распространенные возбудители — Е. coli, виды Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Proteus и P. aeruginosa. Источники бактерий — ЖКТ, мочеполовая система и кожные покровы. Предрасполагающие факторы — оперативные вмешательства и медицинские манипуляции (например, катетеризация) на мочевыводящих путях и сопутствующие заболевания.

**Грамположительные бактериемии**. Основной возбудитель - коагулаза-положительный S. aureus. Коагулаза-отрицательные стафилококки (У. epidermidis и S. saprophyticus) редко вызывают поражения. В условиях стационара практически все случаи бактериемии обусловлены контаминацией медицинских инструментов. Основные возбудители — коагулаза-отрицательные стафилококки.

**Принципы микробиологической диагностики.** Точный диагноз устанавливают только при обнаружении возбудителей в крови пациентов. Важное условие — своевременный забор пробы. Для проведения анализа используют только венозную кровь-, наиболее адекватные результаты получают при двух или трёхкратном заборе крови по 20-30 мл с интервалом 3-4 ч.

Кровь немедленно помещают в сосуд с питательной средой (не меняя иглы) в соотношении 1:10 и перемешивают. Отобранный материал быстро доставляют в лабораторию, сохраняя при комнатной температуре. Образцы крови замораживать нельзя. Микроскопию мазков крови проводят при распознавании паразитарных инфекций (малярии, трипаносомозов. При бактериальных инфекциях микроскопию мазков крови обычно не проводят, так как число бактерий, циркулирующих в кровотоке, невелико. Единственная бактерия, обнаруживаемая в мазках, — Borrelia recurrentis. Для культивирования образцов используют обогащённые питательные среды.

При подозрении на конкретную инфекцию можно использовать соответствующие среды, например, среду для выращивания бруцелл. Посевы проводят в 2 сосуда (по 5 мл крови в каждом) для дальнейшего культивирования в аэробных и анаэробных условиях. Посевы инкубируют при температуре 35-37 °С и в течение 7 дней ежедневно осматривают. Помутнение среды указывает на рост бактерий; при отсутствии роста проводят повторное исследование на 14-й день. Факт циркуляции грибов в кровотоке устанавливают посевом крови больного на питательные среды. Для обнаружения простейших проводят микроскопию мазков крови, окрашенных по Романбвскому-Гимзе или Райту.

На бактериемию или септицемию указывают следующие признаки.  
Повторное выделение одних и тех же микроорганизмов (в том числе и в больших количествах) при заборе крови из разных мест.  
Обнаружение представителей кожной флоры (например, стафилококков или дифтероидов) в нескольких пробах, особенно при наличии сосудистых катетеров или протезов.

Выявление «ожидаемых» микроорганизмов (например, зеленящих стрептококков) при подозрении на эндокардит.

Посев крови на стерильность проводят в 50-100 мл сахарного б-на, а также параллельно в тиогликолевую среду, на гемокультуру (при подозрении на сальмонеллез и брюшной тиф) в желчный бульон (среда Раппопорта).

Обязательно выдерживают соотношение крови и среды1:10. посевы помещают в термостат и инкубируют в течение 10 сут. Просмотр посевов проводят ежедневно. О наличии микроорганизмов свидетельствуют помутнение среды, осадок эритроцитов и хлопьевидный осадок на их поверхности, пленка на поверхности, гемолиз эритроцитов.

При наличии роста делают высевы на чашки с 5%-ным кровяным агаром. Затем изучают колонии, делают посев на скошенный агар для накопления и идентификации культуры, определяют чувствительность к антибиотикам.

Интерпретация результатов:

* анализ можно считать отрицательным, если по пришествии 10 дней после посева крови роста микроорганизмов не обнаружено, выделение патогенных видов свидетельствует об их этиологической роли в заболевании,
* при выделении условно-патогенных микроорганизмов следует учитывая идентичность гемо культуры с культурами, выделенными из другого материала от этого больного.
* для определения истиной этиологической роли микроорганизмов необходимо учитывать следующие факторы:
* присутствие бактерий в материале из патологического очага в количестве не менее 105 КОЕ мл/г,
* обнаружение одного и того же микроорганизма в посевах двух и более проб крови,
* нарастание в 4 раза и более титра Ат в сыворотке больного к ауто штамму.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций ССС.
2. Каковы особенности проведения клинико-микробиологического исследования крови?
3. Оценка результатов при микробиологическом исследовании крови.

**Тема: Микробиологическое исследование мочеполовой системы.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции мочеполовой системы
2. О биологическом материале, подлежащем исследованию при заболевании мочеполовой системы.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций мочеполовой системы
4. **Оппортунистические инфекции мочеполовой системы**

Исследование мочи   направлено на выделение возбудителя заболевания и на количественное определение степени бактериурии. Моча здорового человека стерильна.  Однако при прохождении через мочеиспускательный канал она может загрязняться вегетирующей в нем микрофлорой. В дистальном отделе уретры в норме обнаруживают следующие микроорганизмы:

* Staphylococcus epidermidis,
* Streptococcus faecalis,

микроорганизмы семейства и родов:

* Corynebacterium,
* Lactobacillus,
* Enterobacteriaceae,
* Bacteroides

Возбудителями воспалительных   процессов   в мочевой системе наиболее часто являются условно-патогенные бактерии Escherichia coli, S. faecalis, Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis, Citrobacter, Klebsiella pneumoniae, Serratia, несколько реже – Staphylococcus aures, S. epidermidis, Staphylococcus saprophyticus, Streptococcus pyogenes, Mycoplasma. Представители рода Salmonella и семейства Mycobacteriaceae также могут быть выделены из мочи при заболеваниях мочевой системы.

**2. О биологическом материале, подлежащем исследованию при заболевании мочеполовой системы.**

**Взятие исследуемого материала**

Исследованию подлежит средняя порция свободно выпущенной мочи, взятой в количестве 3-5 мл в стерильную посуду после тщательного туалета наружных половых органов.  Катетеризация мочевого пузыря для рутинного исследования не применяется, так как она может привести к инфицированию мочевых путей.  К катетеризации мочевого пузыря прибегают в некоторых случаях для уточнения локализации инфекции - в мочевом пузыре или в почках.  С этой целью мочевой пузырь опорожняют катетером и промывают раствором антибиотика, после чего с интервалом в 10 минут берут пробы мочи для исследования. Если инфекция локализуется в почках, микроорганизмы содержатся во всех порциях мочи. При инфекции мочевого пузыря моча остается стерильной. В отдельных случаях делают надлобковую пункцию мочевого пузыря, при которой получают наиболее достоверные результаты.

**Материал для исследования** следует брать до начала антибактериальной терапии или в интервалах между курсами лечения. Содержащиеся в моче микробы быстро размножаются при комнатной температуре, что может дать ложные результаты при определении степени бактериурии.  В связи с этим от момента взятия пробы мочи до начала ее исследования в лаборатории должно проходить не более 1-2 часов при хранении при комнатной температуре и не более суток - при хранении в холодильнике.

**Посев исследуемого материала**

Выделение микроорганизмов из мочи (качественное исследование) не позволяет от дифференцировать бактериурию, возникающую   в результате загрязнения мочи нормальной микрофлорой дистального отдела уретры, от бактериурии, развивающейся при инфекционных процессах в мочевыводящей системе, возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы.   С   этой   целью    применяют количественные методы   исследования, основанные на определении числа микробных клеток в 1 мл мочи (степень бактериурии).

Метод секторных посевов.  Платиновой петлей, диаметром 2 мм, емкостью 0,005 мл, производят посев мочи (30-40 штрихов) на сектор А чашки Петри с простым питательным агаром.  После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор I и аналогичным образом - из сектора I во II и из II в III.  Чашки инкубируют при 37°С 18-24 часа, после чего подсчитывают число колоний, выросших в разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний производят согласно таблице.

Метод секторных посевов позволяет не только определить степень бактериурии, но и   выделить возбудителя заболевания в чистой культуре. При латентном течении уроинфекции, а также после лечения антибактериальными препаратами рекомендуется производить посев по 0,1 мл цельной мочи на плотные питательные среды и в пробирку с 0,25% сахарным бульоном.  Посевы инкубируют при 37°С 24 часа.  При отсутствии роста на 5% кровяном агаре чашки выдерживают 3 суток в термостате, т.к. может наблюдаться замедленный рост стрептококков. Подсчитывают количество колоний, выросших на   плотных питательных средах, и пересчитывают обсемененность на 1 мл мочи. Из сахарного бульона делают высев на чашку с 5% кровяным агаром. Колонии, выросшие на плотных питательных средах, отсевают в пробирки   со   скошенным   агаром, выделенную чистую культуру идентифицируют и определяют ее чувствительность к антибактериальным препаратам.

**Оценка результатов исследования**

Основной задачей при интерпретации полученных данных является доказательство этиологической   роли условно-патогенных микроорганизмов. Учитывают комплекс тестов: степень бактериурии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания, присутствие в моче монокультуры   или   ассоциации микроорганизмов. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в   мочевых   путях   от   контаминации   мочи нормальной микрофлорой.

При трактовке   результатов   исследования следует учитывать повторность выделения одного и того же вида микроорганизмов: повторное выделение из мочи культуры одного вида, типа, варианта говорит о наличии инфекционного процесса. Учитывается также   присутствие   в моче монокультуры или ассоциации микроорганизмов. Монокультура чаще   выделяется   при острых воспалительных процессах и коррелирует с высокой степенью бактериурии. Ассоциации микроорганизмов чаще встречаются при хронических процессах и коррелируют с низкой степенью бактериурии. При окончательной трактовке результатов микробиологического исследования необходимо учитывать данные клиники и другие лабораторные анализы.

В норме влагалищная микрофлора весьма разнообразна. Она представлена грамположительными и грамотрицательными аэробами, факультативно - и облигатно-анаэробными микроорганизмами. Большая роль в микробиоценозе принадлежит лакто - и бифидобактериям (палочкам Дедерлейна), которые создают естественный барьер для патогенной инфекции. Они составляют 90-95% микрофлоры влагалища в репродуктивном периоде. Расщепляя гликоген, содержащийся в поверхностных клетках влагалищного эпителия, до молочной кислоты, лактобактерии создают кислую среду (рН 3,8-4,5), губительную для многих микроорганизмов. Количество лактобактерий и соответственно образование молочной кислоты уменьшаются при снижении уровня эстрогенов в организме (у девочек в нейтральном периоде, постменопаузе). Гибель лактобацилл наступает в результате использования антибиотиков, спринцевания влагалища растворами антисептических и антибактериальных препаратов. К влагалищным палочковидным бактериям относятся также актиномицеты, коринебактерии, бактероиды, фузобактерии.

Второе место по частоте обнаружения бактерий во влагалище принадлежит коккам-эпидермальному стафилококку, гемолитическим и негемолитическим стрептококкам, энтерококкам. В небольших количествах и реже встречаются энтеробактерии, кишечная палочка, клебсиелла, микоплазма и уреаплазма, а также дрожжеподобные грибы рода Candida. Анаэробная флора преобладает над аэробной и факультативно-анаэробной. Вагинальная флора представляет собой динамичную саморегулирующуюся экосистему.

Развитие воспалительного процесса женских половых органов зависит от состояния защитных сил организма и от биологических особенностей возбудителя. Во влагалище здоровой женщины по­стоянно присутствуют разные виды микроорганизмов. Необходимо подчеркнуть, что в норме секрет влагалища имеет кислую реакцию, обусловленную содержанием в ней молочной кислоты, которая образуется в результате жизнедеятельности влагалищной палочки Дедерлейна, затрудняющей развитие патогенных бактерий. При­нято различать четыре степени чистоты влагалищного содер­жимого.

**I степень чистоты**. В материале влагалищного содержимого под микроскопом можно увидеть влагалищные палочки Дедерлейна, клетки плоского эпителия. Реакция кислая.

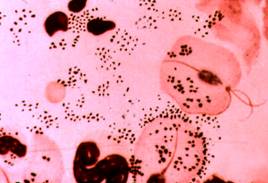


I степень чистоты. В мазке видны эпителиоциты, лейкоцитов нет. Флора – палочки Дедерлейна.

**II степень чистоты**. Превалируют влагалищные палочки Дедерлейна, клетки плоского эпителия (количество их меньше, чем при I степени), встречаются единичные лейкоциты, кокки. Реакция кислая. I и II степени чистоты влагалищного содержимого считают нормальными.

**III степень чистоты**. Влагалищных палочек мало, прева­лируют другие виды бактерий, в основном кокки, много лейко­цитов, реакция слабокислая.

**IV степень чистоты**. Влагалищные палочки отсутствуют, мно­го патогенных бактерий (кокков, трихомонад, гарднерел), мно­жество лейкоцитов, эпителиальных клеток мало. Реакция слабо­щелочная.



IV степень чистоты. В мазке видны трихомонады, мелкие внутриклеточные и внеклеточные коки (гонококки), большое количество сегментоядерных лейкоцитов, в т.ч. и погибших.

Наличие III и IV степеней чистоты влагалища свидетельствуют о патологических изменениях в половом аппарате.

# Возбудители женской половой системы.

***Бактериальный вагиноз***(БВ) - это не воспалительный клинический синдром, вызванный замещением лактобацилл вагинальной флоры условно-патогенными анаэробными микроорганизмами. В настоящее время БВ рассматривается не как инфекция, передаваемая половым путем, а как вагинальный дисбиоз. Вместе с тем БВ создает предпосылки для возникновения инфекционных процессов во влагалище, поэтому его рассматривают вместе с воспалительными заболеваниями половых органов. БВ - достаточно частое инфекционное заболевание влагалища, обнаруживаемое у 21-33% пациенток репродуктивного возраста.

**Этиология и патогенез.**Ранее причиной заболевания считали гарднереллы, поэтому его называли гарднереллезом. Однако в дальнейшем было установлено, что *Gardnerella vaginalis*- не единственный возбудитель БВ; кроме того, этот микроорганизм является составной частью нормальной микрофлоры. Нарушение микроэкологии влагалища выражается в снижении количества доминирующих в норме лактобацилл и бурной пролиферации различных бактерий *(Gardnerella vaginalis, Mycoplasma hominis),*но прежде всего - облигатных анаэробов *(Bacteroides spp., Prevotella spp., Peptostreptococcus spp., Mobiluncus spp., Fusobacterium spp.*и др.). Изменяется не только качественный, но и количественный состав вагинальной микрофлоры с увеличением общей концентрации бактерий.

К заболеванию предрасполагают применение антибактериальных препаратов, в том числе антибиотиков, прием оральных контрацептивов и использование ВМК, гормональные нарушения с клинической картиной олиго- и опсоменореи, перенесенные воспалительные заболевания половых органов, частая смена половых партнеров, снижение иммунитета и др.

В результате нарушения микробиоценоза влагалища рН вагинального содержимого изменяется с 4,5 до 7,0-7,5, анаэробы образуют летучие амины с неприятным запахом гнилой рыбы. Описанные изменения нарушают функционирование естественных биологических барьеров во влагалище и способствуют возникновению воспалительных заболеваний половых органов, послеоперационных инфекционных осложнений.

**Клиническая симптоматика.**Основной у больных БВ является жалоба на обильные однородные кремообразные серые вагинальные выделения, которые прилипают к стенкам влагалища и имеют неприятный "рыбный" запах. Возможны появление зуда, жжения в области влагалища, дискомфорт во время полового акта.

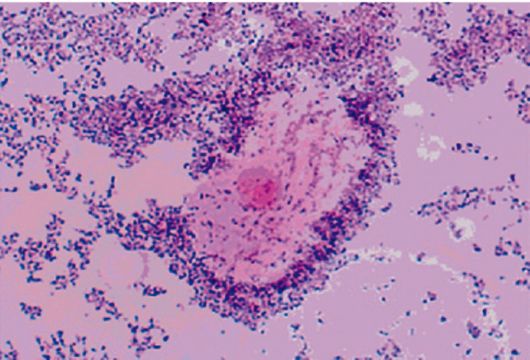
При микроскопии влагалищных мазков, окрашенных по Граму, выявляются "ключевые" клетки в виде слущенных влагалищных эпителиоцитов, к поверхности которых прикреплены характерные для БВ микроорганизмы.

Рис. Микроскопия влагалищного мазка. «Ключевая клетка»

У здоровых женщин "ключевые" клетки не обнаруживаются. Кроме того, типичными бактериоскопическими признаками заболевания служат небольшое количество лейкоцитов в поле зрения, снижение числа или отсутствие палочек Дедерлейна.

* Диагностическими критериями БВ (критерии Амсела) являются:
  + специфические вагинальные выделения;
  + обнаружение "ключевых" клеток во влагалищном мазке;
  + рН влагалищного содержимого >4,5;
  + положительный аминовый тест (появление запаха гнилой рыбы при добавлении гидроокиси калия к влагалищным выделениям).

Диагноз БВ можно установить при наличии трех из перечисленных критериев. Диагностику дополняют бактериологический метод исследования с определением качественного и количественного состава микрофлоры влагалища, а также микроскопическая оценка относительной пропорции бактериальных морфотипов в вагинальном мазке (критерий Нугента).

***Вагинальный кандидоз***является одним из самых распространенных заболеваний влагалища инфекционной этиологии, в последние годы его частота увеличилась. В США каждый год регистрируется 13 млн эпизодов заболевания - у 10% женского населения страны; 3 из 4 женщин репродуктивного возраста хотя бы 1 раз перенесли вагинальный кандидоз.

**Этиология и патогенез.**Возбудитель заболевания - дрожжеподобные грибы рода Candida. Наиболее часто (85-90%) влагалище поражается грибами *Candida albicans,*реже - *Candida glabrata, Candida tropicalis, Candida krusei*и др. Грибы рода Candida представляют собой одноклеточные аэробные микроорганизмы. Образуют псевдомицелий в виде цепей вытянутых клеток, а также бластоспоры - почкующиеся клетки в местах разветвления псевдомицелия, являющиеся элементами размножения. Оптимальные условия для роста и размножения грибов - температура 21-37 °C и слабокислая среда.

Генитальный кандидоз не относится к заболеваниям, передаваемым половым путем, но часто является их маркером. Грибы относятся к условно-патогенной флоре, обитающей в норме на поверхности кожных покровов и слизистых оболочек, в том числе влагалища. Однако при определенных условиях (снижение общей и местной резистентности, прием антибиотиков, оральных контрацептивов, цитостатиков и глюкокортикостероидов, сахарный диабет, туберкулез, злокачественные новообразования, хронические инфекции и др.) она может вызвать заболевание. При этом повышаются адгезивные свойства грибов, которые прикрепляются к клеткам эпителия влагалища, вызывая колонизацию слизистой оболочки и развитие воспалительной реакции. Обычно кандидоз затрагивает только поверхностные слои вагинального эпителия. В редких случаях преодолевается эпителиальный барьер и происходит инвазия возбудителя в подлежащие ткани с гематогенной диссеминацией.

Согласно полученным данным, при рецидивировании урогенитального кандидоза основным резервуаром инфекции является кишечник, откуда грибы периодически попадают во влагалище, вызывая обострение воспалительного процесса.

Различают острый (длительность заболевания до 2 мес.) и хронический (рецидивирующий; длительность заболевания - более 2 мес.) урогенитальный кандидоз.

**Клиника.**Вагинальный кандидоз вызывает жалобы на зуд, жжение во влагалище, творожистые выделения из половых путей. Зуд и жжение усиливаются после водных процедур, полового акта или во время сна. Вовлечение в процесс мочевыводящих путей приводит к дизурическим расстройствам.

В остром периоде заболевания в воспалительный процесс вторично вовлекается кожа наружных половых органов. На коже образуются везикулы, которые вскрываются и оставляют эрозии. Осмотр влагалища и влагалищной порции шейки матки с помощью зеркал выявляет гиперемию, отек, белые или серо-белые творожистые наложения на стенках влагалища. К кольпоскопическим признакам вагинального кандидоза после окраски раствором Люголя относятся мелкоточечные вкрапления в виде "манной крупы" с выраженным сосудистым рисунком. При хроническом течении кандидоза преобладают вторичные элементы воспаления - инфильтрация тканей, склеротические и атрофические изменения.

Наиболее информативно в диагностическом плане микробиологическое исследование. Микроскопия нативного или окрашенного по Граму вагинального мазка позволяет обнаружить споры и псевдомицелий гриба. Хорошим дополнением к микроскопии служит культуральный метод - посев влагалищного содержимого на искусственные питательные среды. Культуральное исследование позволяет установить видовую принадлежность грибов, а также их чувствительность к антимикотическим препаратам.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций мочеполовой системы.
2. Каковы особенности проведения клинико-микробиологических исследований мочи?

**Тема: Микробиологическое исследование дыхательной системы.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции дыхательной системы
2. Биологический материал, подлежащий исследованию при заболевании дыхательной системы.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций дыхательной системы
4. **Оппортунистические инфекции дыхательной системы**

Возбудителями гнойно-воспалительных процессов   дыхательных путей чаще всего являются условно-патогенные микроорганизмы следующих родов и видов:

Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Staphylococcus aureus, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, Neisseria, Corynebacterium, Klebsiella, Citrobacter, Proteus, Candida, Actinomyces и др.

При направленном исследовании могут быть выделены Mycobacterium tuberculosis и другие   микобактерии, Mycoplasma, Bacteroides.

Особенностью микробиологического исследования при инфекциях дыхательных путей является почти обязательное наличие в исследуемом материале нескольких видов микроорганизмов.  В отделяемом зева, трахеи, бронхов, носа в норме обнаруживаются следующие микроорганизмы:

Staphylococcus epidermidis,

Streptococcus viridans,

Neisseria,

Corynebacterium,

Lactobacillus,

Candida и некоторые другие.

При носительстве могут быть обнаружены S. aureus, S. pneumonia, S. pyogenes. Мокрота, проходя через верхние дыхательные пути и полость рта, может контаминироваться вегетирующей в них микрофлорой.

**2. Биологический материал, подлежащий исследованию при заболевании дыхательной системы.**

**Взятие исследуемого материала**

Материалом для   изучения этиологии заболеваний дыхательных путей служат: отделяемое зева и носа; мокрота; содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии или при отсасывании через трахеостому (у больных, находящихся на аппаратном дыхании); экссудаты; резецированные ткани и др.

Материал собирают с соблюдением правил асептики в предварительно простерилизованные баночки или пробирки и доставляют в лабораторию. Хранение материала способствует размножению сапрофитирующей микрофлоры, развитию процессов гниения и брожения, что искажает результаты анализа.  Интервал между взятием материала и его посевом не должен превышать 1-2 часа.

**3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций дыхательной системы**

**Микроскопия исследуемого материала**

Из мокроты или материала, взятого стерильным ватным тампоном, одновременно с посевом приготавливают мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют с иммерсионным объективом. При обнаружении микроорганизмов отмечают их морфологические и тинкториальные свойства (кокки, палочки, отношение к окраске по Граму).

Микроскопическое исследование является важным ориентиром. При просмотре мазков из мокроты оценивают общую картину микрофлоры:

* наличие скоплений   грамположительных кокков (Staphylococcus, Micrococcus);
* цепочек грамположительных кокков (Streptococcus);
* мелких ланцетовидных, окруженных зоной не окрасившейся капсулы (S.  pneumoniae);
* грамотрицательных кокков (Neisseria);
* грамотрицательных палочек с закругленными концами, окруженных капсулой в виде светлого ореола (Klebsiella и   др.);
* грамотрицательных палочек (E.  coli, P. aeruginosa и др.);
* мелких грамотрицательных палочек в виде скоплений (Haemophylus);
* мицелия и бластоспор гриба.

**Посев исследуемого материала**

Основная питательная среда: 5% кровяной агар, желточно-солевой агар. Агар с гретой кровью (шоколадный агар). Среда Эндо. Среда Сабуро.

Мокроту выливают   в чашку Петри. С помощью стерильных металлических толстых игл с утолщенными концами (типа зубного зонда) выбирают 2-3 гнойных комочка мокроты.  С целью очистки комочков мокроты от наслоившихся обитателей верхних дыхательных путей и ротовой полости их трехкратно отмывают в стерильном физиологическом растворе, после чего засевают на   питательные среды. Посевы помещают в термостат при 37°С.

Содержимое бронхов, полученное при бронхоскопии или при отсасывании через трахеостому, засевают как мокроту, но без предварительного отмывания гнойных комочков физиологическим раствором. При отсутствии комочков гноя и слизи производят посев материала, набирая его пастеровской пипеткой.

Материал из глотки, носа и ротовой полости засевают так же, как мокроту.

Посевы исследуемого материала (мокрота, содержимое бронхов, отделяемое зева, носа, ротовой полости) просматривают после 18-24-часовой инкубации при 37°С.  Учитывают количество выросших колоний, соотношение отдельных ассоциантов, описывают характер колоний. Выделяют чистые культуры микроорганизмов, проводят их идентификацию и определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

**Оценка результатов**

При воспалительных процессах дыхательных путей, когда высеваются условно-патогенные микроорганизмы, интерпретация полученных результатов    представляет   определенные   трудности. Следует учитывать, что наличие или отсутствие в   исследуемом материале микроорганизмов не может иметь решающего значения для диагноза. Особое значение принадлежит количественной   оценке роста   различных видов микроорганизмов, выросших при первичном посеве на плотных питательных средах. О возбудителе   необходимо   судить   на основании комплекса исследований: данных микроскопии первичных мазков, результатов посева на плотные питательные среды (количественная оценка роста   различных видов микроорганизмов, однородность популяции при посеве на плотные   питательные   среды), учета анамнеза, клинических проявлений заболевания и результатов комплексной терапии. Количественный метод обеспечивает выделение чистых культур микроорганизмов и дает возможность судить более точно об   этиологической значимости выделенных микроорганизмов.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций дыхательной системы.
2. Каковы особенности проведения клинико-микробиологических исследований биологического материала дыхательной системы?
3. Оценка результатов при микробиологическом исследовании мокроты.

**Тема: Микробиологическое исследование пищеварительной системы.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции пищеварительной системы
2. Биологический материал, подлежащий исследованию при заболевании пищеварительной системы.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций пищеварительной системы

**ОКИ – полиэтиологическая группа инфекционных заболеваний, преимущественно с фекально-оральным механизмом передачи, первичным размножением возбудителя в ЖКТ, часто сопровождающихся нарушением моторики ЖКТ с развитием диареи, интоксикации, а в ряде случаев – обезвоживания.**

Выявление случаев острых кишечных инфекций среди людей



**СП 3.1.1.3108-13**  
Выявление случаев острых кишечных инфекций среди людей

4.6. Доставка клинического материала в лабораторию с целью установления этиологии возбудителя и его биологических свойств проводится в течение 24-х часов.

При невозможности своевременной доставки в лабораторию материала он консервируется с применением методов, определяемых с учетом требований планируемых к применению диагностических тестов.

4.7. Диагноз устанавливается на основании клинических признаков болезни, результатов лабораторного исследования, эпидемиологического анамнеза.

4.8. В случае поступления больного из эпидемического очага ОКИ с доказанной этиологией диагноз может быть выставлен на основании клинико-эпидемиологического анамнеза без лабораторного подтверждения.

**Микробиологические методы исследования желчи.**

Желчь исследуют   при   воспалительных заболеваниях желчного пузыря и желчных протоков (холециститы, холангиты, желчнокаменная болезнь). В норме желчь стерильна, но при инфицировании желчи в 70%-80% случаев высевают Escherichia coli, Enterococcus, несколько реже Klebsiella pneumoniae, Enterobacter, а также Salmonella (при временном и хроническом бактерионосительстве). Из анаэробных микроорганизмов выделяют Clostridium perfringens, в 10%-20% случаев желчнокаменной болезни - Peptococcaceae. В отдельных случаях встречается смешанная аэробная и анаэробная инфекция.

**Взятие исследуемого материала**

Желчь собирают   при   зондировании   в процедурном кабинете отдельно по порциям А, В и С в три стерильные пробирки, либо во время операции с помощью шприца в одну пробирку, соблюдая правила асептики. Полученные порции желчи доставляют в лабораторию не позднее 1-2 часов от момента взятия, следя за тем, чтобы пробирки находились в строго вертикальном положении.

**Посев исследуемого материала**

Питательные среды для первичного посева: 1. 5% кровяной агар, среда Эндо, "среда для контроля стерильности" или среда Тароцци, селенитовый бульон для накопления сальмонелл или шигелл.

**Культивирование.** По 0,1 мл каждой порции желчи высевают на чашку с кровяным агаром; по 0,5 мл - на чашку со средой Эндо; в соотношении 1:9 -  в селенитовый бульон (среда накопления).  Для обеспечения роста анаэробов посев производят на "среду для контроля стерильности" или в две пробирки со средой Тароцци, одну из пробирок прогревают на водяной бане 20 минут при 80°С  для   уничтожения аэробной флоры.  Посев и исходный материал (все порции сливают в одну пробирку) помещают в термостат при 37°С.

На второй день. Учитывают   результаты   первичных   посевов.  В случае бактериального роста на кровяном агаре подсчитывают количество колоний каждого вида, пересчитывают на 1 мл исследуемого материала и после бактериоскопии окрашенных по Граму мазков проводят дальнейшую идентификацию культур и определяют чувствительность к антибиотикам. При подозрении на рост анаэробных культур посевы инкубируют в анаэростате, заполненном инертным газом. В случае выделения анаэробов проводят их дальнейшее изучение. При отсутствии роста на среде Тароши наблюдение ведут 5 дней. С целью выделения сальмонелл в последующие 3 дня делают высевы на элективные среды (висмут сульфитный агар) как со среды накопления, так и из нативной желчи, которая в течение трех дней выдерживается в термостате.

**Оценка результатов**

Наиболее достоверным является исследование желчи, полученной вовремя   операции.   При   дуоденальном   зондировании возможна контаминация желчи микрофлорой ротовой полости и верхних отделов пищеварительного тракта.  Так, стафилококки и стрептококки находят в дуоденальном содержимом значительно чаще, чем в желчном пузыре при оперативном вмешательстве.  Поэтому следует с особой осторожностью подходить к определению этиологической роли указанных   микроорганизмов при холециститах и холангитах. Необходимо проводить количественное определение каждого вида бактерий в 1 мл желчи, т.к.  по степени микробного обсеменения можно судить о локализации воспалительного процесса и более объективно оценивать его динамику при повторных исследованиях.    Выделение золотистого стафилококка в значительном количестве может свидетельствовать о наличии печеночного или диафрагмального абсцесса. Обнаружение в дуоденальном содержимом сапрофитных нейссерий и дрожжеподобных грибов свидетельствует о контаминации желчи микрофлорой ротовой полости.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций пищеварительной системы.
2. Каковы особенности проведения клинико-микробиологического исследования желчи?
3. Каковы пути передачи ОКИ?

**Тема: Микробиологическое исследование центральной нервной системы.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции ЦНС.
2. Биологический материал, подлежащий исследованию при заболевании ЦНС.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций ЦНС.
4. **Оппортунистические инфекции ЦНС.**

Представляют угрозу жизни, требуют госпитализации, проведения этиотропной и патогенетической терапии. Могут быть как самостоятельными заболеваниями, так и следствием других бактериальных инфекций, сопровождающихся бактериемией, либо контаминации мозга при открытых травмах черепа, нейрохирургических операциях, имплантации инородных тел (вентрикулярные дренажи и т.п.).

* Бактериальный менингит
* Бактериальные абсцессы мозга

**Бактериальные менингиты**

Воспаление мозговых оболочек мозга, проявляющееся характерной клинической картиной и сопровождается повышением лейкоцитов в ликворе.

- острые

- хронические

- первичные

- вторичные

Заболевания встречаются с частотой 3-4 случая на 100 тыс. населения. 40% менингитов развивается в стационарах и характеризуется наиболее высокой летальностью (35%).

**Этиология**

Наиболее частый возбудитель у детей 1-5 лет и у взрослых молодого возраста является N. meningitidis (до 50%).Чаще спорадическая заболеваемость связана с менингококками серогруппы В, однако эпидемиологическое значение принадлежит и менингококкам серогруппы С.

N. meningitidesвозбудитель нозоформы «менингококковая инфекция».

Колонизирует заднюю стенку носоглотки человека и в зависимости от вирулентности штамма и резистентности зараженного лица вызывает инфекционный процесс с широким диапазоном клинических проявлений: бессимптомное носительство, назофарингит и генерализованную форму- менингококцемию (сепсис) и менингит, иногда обе формы присутствуют одновременно.

**Пневмококковый менингит**

Чаще возникает у взрослых (30% гнойных менингитов, летальность 19-26%). Как правило, имеются очаги первичной пневмококковой инфекции: пневмония, средний отит, мастоидит, синусит и др. *Streptococcus pneumoniae*– наиболее частые возбудители менингитов, связанных с ликвореей (врожденной, в результате травмы – перелома основания черепа).

**Haemophilus influenzae**

Наиболее частый возбудитель менингита у детей первого года жизни (10%, летальность 3- 6%). Обычно это капсульные штаммы серотипа b. Выделение этого возбудителя у старших детей указывает на высокую вероятность хронической и сопутствующей патологии: синусита, среднего отита, эпиглоттита.

**Микробиологические методы исследования спинномозговой жидкости.**

Спиномозговую жидкость исследуют во всех случаях предполагаемого менингита, как первичного процесса, так и осложнения после черепно-мозговой травмы, нейрохирургической операции или наличия инфекционного очага в организме. Как правило, менингит вызывается только одним микроорганизмом.

**Взятие исследуемого материала.**

Для бактериологического анализа обычно используют спинномозговую жидкость, взятую при люмбальной пункции или при пункции боковых желудочков мозга. Проба отбирается со строгим соблюдением правил асептики. Свеже взятый ликвор из шприца без иглы над спиртовкой вносят в стерильную пробирку в количестве 1-2мл. Ликвор для исследования немедленно доставляют в лабораторию, где тотчас, пока жидкость теплая, ее подвергают анализу. При отсутствии такой возможности материал сохраняют при 37 градусах в течении нескольких часов.

**Микроскопия исследуемого материала.**

Спиномозговую жидкость центрифугируют 5 минут при 3500 об/мин и из осадка делают мазки. Если присланная жидкость мутная, мазки готовят без центрефугирования.

**Посев исследуемого материала.**

Так как гнойные менингиты имеют различную этиологию, то при исследовании спинномозговой жидкости с неопределенным возбудителем необходимо производить посев ликвора на несколько питательных сред с целью выделения более широкого спектра возбудителей.

**Питательные среды для первичного посева.**

1. Сывороточный агар
2. 5% кровяной агар
3. «Среда для контроля стерильности»
4. Шоколадный агар
5. Простой агар.

**Культивирование.** Проводят посев 2-4 капель гнойного ликвора на чашку со свежеприготовленным сывороточным агаром, на чашку с кровяным агаром, простым агаром, на среду для контроля стерильности. Капли материала слегка растирают подогретым шпателем на поверхности агара. После этого одну чашку с простым агаром помещают в термостат в обычной атмосфере при 37 градусах, а 2 другие инкубируют при повышенной концетрации СО2. Для этого чашки помещают в эксикатор, в котором создается повышенное содержание СО2 за счет горящей свечи.

В пробирку, к оставшимся от посева и микроскопирования осадку, добавляют 5мл стерильного 0,1% полужидкого агара и помещают в термостат для накопления.

**На второй день** просматривают сделанные накануне посевы спинномозговой жидкости. При появлении роста на плотных питательных средах изучают характер роста, морфологию выросших бактерий при окраске по Грамму.

У бактерий, выросших на плотных питательных средах, определяют чувствительность к антибиотикам, а также проводят отсевы на элективные среды для получения чистой культуры с последующей их идентификацией.

При отсутствии роста колоний на твердых средах делают высев из среды накопления на чашку с сывороточным агаром и кровяную чашку.

Твердые среды с посевами ликвора при отсутствии роста на протяжении 24 часов надо инкубировать в течении 306 дней. При отрицательных результатах высевы повторяют через 8-10 дней.

**Оценка результатов исследования.**

Спино-мозговая жидкость является стерильной средой, поэтому выделение любого микроорганизма должно расцениваться как положительный результат. Редко нахождение условно-патогенных микроорганизмов и сапрофитов, которые ранее никогда не выявлялись, может вызывать сомнение и расцениваться как загрязнение или в момент пробы, или при повторных высевах со среды обогащения. В таких случаях большое значение имеют клинические данные.

При вторичных менингитах, обусловленных инфекцией гнойно воспалительных процессов различной локализации необходимо провести микробиологическое исследование этого очага, потому что возможна вероятность обнаружения идентичных микроорганизмов и в спинномозговой жидкости.

У детей параллельно с исследованием спинномозговой жидкости необходимо проводить исследование гемокультур, так как менингиты часто связаны с бактериемией, и она предшествует появлению м/о в спинномозговой жидкости. При хронических процессах с временным улучшением желательно провести МБ исследование ликвора после окончания антибактериального лечения.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций ЦНС.
2. Каковы особенности проведения клинико-микробиологических исследований биологического материала ЦНС?
3. Оценка результатов при микробиологическом исследовании спино-мозговой жидкости.

**Тема: Микробиологическое исследование глаз, ушей, инфицированных ран.**

**План лекции:**

1. Оппортунистические инфекции глаз, ушей, инфицированных ран.
2. О биологическом материале, подлежащем исследованию при заболевании глаз, ушей, инфицированных ран.
3. Особенности проведения клинико-микробиологического исследования при развитии оппортунистических инфекций глаз, ушей, инфицированных ран.

**Микробиологические методы исследования, отделяемого открытых инфицированных ран**

При появлении гнойно-воспалительного процесса в ране раневое отделяемое, гной, кусочки инфицированных тканей (грануляции, мышцы и т.п.) подвергают микробиологическому исследованию. Возбудителями гнойно-воспалительных   процессов могут быть представители различных родов, подавляющее большинство которых относят к так называемой "условно-патогенной" микрофлоре (аэробной, микроаэрофильной и анаэробной).

Среди них чаще встречаются виды родов:

* Staphylococcus,
* Streptococcus,
* Pseudomonas,
* Escherichia,
* Proteus,
* Citrobacter,
* Klebsiella,
* Enterobacter,
* Hafnia,
* Serratia,
* Aeromonas,
* Alcaligenes,
* Acetobacter,
* Haemophilus,
* Peptococcus,
* Bacillus,
* Clostridium,
* Corynebacterium,
* Propionobacterium,
* Bacteroides,
* Nocardia,
* Listeria,
* Fusobacterium,
* Neisseria,
* Mycrococcus,
* Mycoplasma.

Реже - Yersinia, Ervinia, Salmonella, Acinetobacter, Moraxella, Brucella, Candida, Actinomyces микроорганизмы могут вызывать и поддерживать гнойный процесс как в монокультуре, так и в ассоциации.

**Взятие исследуемого материала**

Взятие материала производит лечащий врач при соблюдении правил асептики. При взятии материала из раны стерильным ватным тампоном кожу вокруг раны предварительно обрабатывают спиртом или другим антисептиком, некротические   массы, детрит   и   гной   удаляют стерильной салфеткой.   Взятие   материала   стерильным   тампоном производят круговыми   вращательными   движениями   от   центра к периферии поверхности раны.  Материал берут двумя тампонами, один из которых используют для микроскопии, а другой - для посева.

 При наличии   в   ране   дренажей   для   активной   аспирации отделяемого, последнее отсасывают шприцем и в количестве 1-2 мл помещают в стерильную пробирку.  Кусочки тканей, гной, промывную жидкость из дренажа также берут в стерильные пробирки при соблюдении всех правил асептики. Не более чем через 1 час после взятия весь материал доставляют в микробиологическую лабораторию для немедленного посева. При невозможности доставить материал в течение этого времени, он должен храниться в холодильнике, но не более двух часов.

**Микроскопия исследуемого материала**

Материал, взятый одним из стерильных ватных тампонов, "размазывают" по стерильному предметному стеклу, окрашивают по Граму и просматривают под микроскопом. При обнаружении микроорганизмов отмечают их морфологическую   характеристику (грамположительные и грамотрицательные палочки, кокки и др.)  и степень обсемененности. В соответствии с результатами микроскопии могут быть   внесены   коррективы   в   ход    бактериологического   исследования.

**Посев исследуемого материала**

**Питательные среды.**   1. 5% кровяной агар.   Сахарный бульон. "Среда для контроля стерильности"

Материал, взятый другим ватным стерильным тампоном из того же участка раны, засевают на чашку с 5% кровяным агаром, на "среду для контроля стерильности" и сахарный бульон, а твердые кусочки тканей (секвестры, кусочки кожи, мышц и пр.) засевают на "среду для контроля стерильности" и сахарный бульон. Посев на чашку с агаром производят методом "тампон-петля": тампоном проводится "дорожка" по диаметру чашки, затем другой стороной тампона в обратном направлении засевается еще одна" дорожка", параллельная первой.  После этого материал рассевают по чашке при помощи петли штрихами, перпендикулярными к "дорожкам". Такой посев позволяет выделить микроорганизмы в виде отдельных колониеобразующих единиц даже из ассоциации микроорганизмов. Засеянные жидкие и плотные питательные среды термостатируют при 37°С в течение 18-24 часов.  При обнаружении роста производят отсев отдельных колоний на элективные среды с целью их идентификации. Отмечают, растут ли микроорганизмы в виде монокультуры или в ассоциации. При обнаружении ассоциации на плотной питательной среде отмечают преимущественный рост какого-либо представителя ассоциации (если это наблюдается). При отсутствии роста в первые сутки посевы оставляют в термостате, ежедневно просматривают и при визуальном обнаружении роста также производят соответствующие отсевы. Ответ об отсутствии роста выдают через 5 суток термостатирования.    В ответе лаборатории указывают, какие виды микроорганизмов выделены, в каком количестве (слабый, умеренный или обильный рост на плотной питательной среде). При выделении ассоциации микроорганизмов в ответе перечисляют все виды микроорганизмов, входящие в ассоциацию, и отмечают, имеется ли преимущественный рост какого-либо из представителей   ассоциации.

**Микробиологические методы исследования, отделяемого глаз.**

Микробиологическое исследование проводится при заболеваниях конъюнктивы, век, слезных мешков, роговицы. Следует учитывать, что в норме только с конъюнктивы и в небольшом количестве регулярно выделяются Staphylococcus epidermidis, Corynebacterium xerosis, Corynebacterium pseudodiphteriticum, непатогенные микроорганизмы семейства Neisseriaceae, Sarcina. У отдельных лиц временно могут выделяться Staphylococcus   aureus, микроорганизмы семейства Streptococсaceaе (S. pneumoniae, S. feacalis, S. viridans), представители семейства Enterobacteriaceae, рода Haemophilus, микоплазмы. Причиной конъюнктивитов в преобладающем количестве случаев являются стафилококки (79,2%). Staphylococcus aureus чаще обнаруживается при остром (43,6%), а Staphylococcus epidermidis хроническом конъюнктивите (83,5%). Другими возбудителями острых гнойных и хронических   конъюнктивитов   являются    Neisseria gonorrhoeae, Moraxella lacunata, Branhamella catarrhalis, Corynebacterium diphteriae, Streptococcus pyogenes, Streptococcus viridans, Streptococcus faecalis, Haemophilus aegyptiсus, Haemophilus influenzae, Pseudomonas aeruginosa, микроорганизмы семейств Enterobacteriaceae, родов Proteus, Klebsiella, Escherichia. Реже встречаются Listeria monocytogenes, грибы рода Candida, Aspergillus.

**Взятие материала**

Материал забирают с пораженных мест в разгар воспалительного процесса с соблюдением правил асептики.  Не менее чем за 5-6 часов до исследования отменяют все медикаменты и процедуры.  Взятие материала производит врач-окулист.

**Микроскопия исследуемого материала**

Присланные в лабораторию мазки фиксируют на пламени   и окрашивают по методу Грама или метиленовым синим.  Микроскопия окрашенных мазков позволяет предположить наличие тех или иных видов бактерий, вызвавших заболевание глаз.  Для обнаружения Mycobacterium tuberculosis окраску проводят по методу Циль-Нильсона. Бактериоскопию нативного материала проводят при подозрении на    кандидоз методом "раздавленной капли". Результаты бактериоскопии могут быть сообщены врачу в виде предварительного ответа. Дальнейший ход микробиологического исследования в ряде случаев определяется видом предполагаемых возбудителей.

**Посев исследуемого материала**

5% кровяной агар. "Среда для контроля стерильности".

Первичные посевы на жидких питательных средах, присланные в лабораторию, помещают в термостат при 37°С. Материал, взятый тампоном, с обильным гнойным   отделяемым засевают на чашки с 5% кровяным агаром и "среду для контроля стерильности". Термостатирование проводится при 37°С в эксикаторе со свечой. На второй день при появлении роста в бульоне изучают характер роста и проводят бактериологическое исследование с окраской по Граму. В зависимости от морфологии микроорганизмов делаются высевы на элективные питательные среды для выделения чистых культур с   последующей идентификацией и определением чувствительности.  При наличии роста на 5% кровяном агаре изучают тинкториальные свойства выросших колоний; морфологию бактериоскопическим методом   с окраской по Граму.  Проводят качественную и количественную оценку бактериального роста (единичные колонии, умеренный, обильный   рост). Производят отсев отдельных колоний на элективные среды с целью их идентификации и   определения чувствительности. При отсутствии роста в первые сутки посевы оставляют в термостате, ежедневно просматривают их.  При обнаружении роста   производят соответствующие отсевы.  Окончательный ответ об отсутствии роста выдают через трое суток.

**Оценка результатов**

При интерпретации результатов микробиологического исследования глаз необходимо учитывать контингент обследованных больных, анамнез, клинические проявления болезни. Необходимо учитывать, что гонококки являются одной из частых причин острых гнойных конъюнктивитов у взрослых и особенно у детей.

Кератоконъюнктивитам, вызванным нормальной микрофлорой конъюнктивы, носоглотки, ротовой полости часто предшествует вирусная инфекция верхних дыхательных путей, аллергические риниты, травмы, оперативные вмешательства, а также использование промывных растворов, инфицированных госпитальными штаммами. Конъюнктивит наружных углов глаза (Кох-Уикса) часто вызывается микроорганизмами рода Moraxella lacunata. Слабая воспалительная   реакция   может быть вызвана и непатогенными микроорганизмами рода Corynebacterium, но в таких случаях наблюдается более обильный рост микроорганизмов, чем при исследовании нормальной конъюнктивы. Длительное местное применение антибиотиков приводит к выделению грибов рода Candida и Aspergillus.

**Микробиологические методы исследования, отделяемого ушей.**

При воспалительных заболеваниях   наружного, среднего и внутреннего уха исследуют гнойное или серозное отделяемое.  При этом следует учитывать, что в норме в наружном ухе, слуховом проходе присутствует нормальная микрофлора, представленная сапрофитными и условно-патогенными бактериями - обитателями кожи. Это Staphylococcus epidermidis, Corynebacterium pseudodiphtheriticum. В среднем и внутреннем ухе микрофлора отсутствует. При остром воспалительном процессе возбудителем может быть Staphylococcus aureus, S. epidermidis, Streptococcus pyogenes, Streptococcus viridans, Streptococcus pneumoniae, а также Haemophilusin fluenzae, E. coli, C. diphtheriae, Bacteroides. При хронически протекающей инфекции чаще обнаруживают ассоциации   грамотрицательных микроорганизмов рода Proteus, Klebsiella, Enterobacter, Escherichia, Pseudomonas, а также Mycobacterium tuberculosis, Actinomyces и плесневые грибы Aspergillus, Mucor.

**Взятие исследуемого материала**

При поражении   наружного уха проводят обработку кожи 70% спиртом с последующим промыванием физиологическим раствором, затем отделяемое из очага собирают на стерильный ватный тампон. При поражениях среднего и внутреннего уха исследуют пунктаты материал, полученный во время оперативных вмешательств, собранный в стерильную посуду.

**Микроскопия исследуемого материала**

Бактериоскопия нативного материала.  Проводят с целью обнаружения друз и элементов гриба при подозрении на микоз методом "раздавленной капли".  Исследуемый материал помещают на предметное стекло в каплю физиологического раствора и покровным стеклом осторожно накрывают так, чтобы жидкость была без пузырьков воздуха.

Правильно сделанная капля заполняет все пространство между покровным и предметным стеклом, но при этом жидкость не выступает за края покровного стекла.  Микроскопию проводят при    опущенном конденсоре сначала при малом увеличении (объектив х8), затем при большом (объектив х40).

Бактериоскопия нативного окрашенного материала.  Во всех случаях исследования окрашивание мазков проводят по Граму. При подозрении   на   туберкулез - окрашивают методом Циль-Нильсена, на актиномикоз - по Романовскому-Гимзе. При положительных находках может быть дан ориентировочный ответ. Дальнейший ход    микробиологического исследования   определяется видом предполагаемого возбудителя.

**Посев исследуемого материала**

 Так как хронические гнойные отиты вызываются различными микроорганизмами, в первый день    исследования   необходимо   производить посев на несколько питательных сред: 1. 5% кровяной агар, Среда Сабуро, "Среда для контроля стерильности, Шоколадный агар (при грудных детях)

**Оценка результатов**

При выявлении специфических возбудителей интерпретация результатов не вызывает трудностей. В других случаях, когда процесс вызывается условно-патогенными бактериями, необходимо применение количественных критериев оценки. Преобладающий в мазке нативного материала, окрашенного по Граму, вид микроба, массивность роста однотипных колоний, повторность выделения культур дают возможность сделать заключение о возможном возбудителе процесса. Необходимо иметь в виду, что в процессе лечения антибактериальными средствами нередко происходит замена бактериальной флоры на грибковую.

**Вопросы для закрепления:**

1. Этиология оппортунистических инфекций глаз.
2. Этиология оппортунистических инфекций ушей.
3. Этиология оппортунистических инфекций ран, экссудатов.

**Учебно-методическое и информационное обеспечение учебной**

**дисциплины**

|  |  |
| --- | --- |
| 1. Борисов, Л. Б. [Медицинская микробиология, вирусология, иммунология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=72252) : учебник / Л. Б. Борисов. - 5-е изд., испр. - М.: Мед. информ. агентство, 2016. 2. Левинсон, У. [Медицинская микробиология и иммунология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=61217) [Электронный ресурс] : пер. с англ. / У. Левинсон ; ред.-пер. В. В. Белобородов. - эл. изд. - М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – Режим доступа : https://e.lanbook.com/reader/book/66169/#1 3. Черкес, Ф. К. [Микробиология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=43360) : учебник / Ф. К. Черкес, Л. Б. Богоявленская, Н. А. Бельская ; ред. Ф. К. Черкес. - Стер. изд. - М. : Альянс, 2014. - 512 с. 4. [Микробиология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=61031) : учебник / ред. В. В. Зверев, М. Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. - 608 с 5. [Медицинская микробиология, вирусология и иммунология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=59551) [Электронный ресурс] : учебник : в 2 т. / ред. В. В. Зверев, М. Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Т. 1. - 448 с. – Режим доступа : <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970436417.html> 6. **.** [Медицинская микробиология, вирусология и иммунология](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=59552) [Электронный ресурс] : учебник : в 2 т. / ред. В. В. Зверев, М. Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2016. - Т. 2. - 480 с. – Режим доступа : http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970436424.html 7. [Микробиология, вирусология: руководство к практическим занятиям](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=61810) [Электронный ресурс] : учеб. пособие / ред. В. В. Зверев, М. Н. Бойченко. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – Режим доступа : <http://www.studmedlib.ru/ru/book/ISBN9785970434956.html> 8. [Основы микробиологии и иммунологии](http://krasgmu.ru/index.php?page%5bcommon%5d=elib&cat=catalog&res_id=49615) : учебник / ред. В. В. Зверев, Е. В. Буданова. - 8-е изд., стер. - М. : Академия, 2014. - 281 с. |  |

**Электронные ресурсы:**

ЭБС КрасГМУ «Colibris»

ЭБС Консультант студента ВУЗ

ЭБС Консультант студента Колледж

ЭМБ Консультант врача

ЭБС Айбукс

ЭБС Букап

ЭБС Лань

ЭБС Юрайт

СПС КонсультантПлюс

НЭБ eLibrary