

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

для студентов IV курса медицинского факультета,

специальность «Лабораторная диагностика»

Запорожье

2014

УДК 579.61(075)

ББК 52.64я73

К 49

*Рекомендовано Центральным методическим Советом Запорожского
государственного медицинского университета
(протокол №2 от 27.11.2014 г.)*

РЕЦЕНЗЕНТ:

Зав. кафедрой нормальной физиологии, д.мед.н., профессор *Филимонов В.И.*

АВТОРЫ:

Еремина А.К., старший преподаватель кафедры, к.биол.н.

Камышный А.М., зав. кафедрой, доцент, д.мед.н.

Войтович А.В., ассистент кафедры, к.биол.н.

Сухомлинова И.Е., ст. преподаватель кафедры нормальной физиологии, к.мед.н.

Соколовская И.А., ст. преподаватель кафедры общей гигиены и экологии, к.мед.н.

Клиническая микробиология : учебное пособие для студентов IV курса
медицинского факультета, специальность «Лабораторная диагностика» [и др.].
– Запорожье : [ЗГМУ], 2015. – 74 с.

Клиническая микробиология является одной из наиболее важных областей знаний, которая широко используется в работе бакалавров.

В настоящее время проблема гнойно-воспалительных заболеваний в неинфекционной клинике является одной из приоритетных в практическом здравоохранении. Для современной инфекционной патологии характерно увеличение частоты и удельного веса гнойных инфекций, а также появление новых возбудителей с измененными и ранее неизвестными свойствами.

Студентам необходимы знания о своевременной микробиологической диагностике оппортунистических и внутрибольничных инфекций, рациональной химиотерапии и решении ряда эпидемиологических вопросов. Особенно важна правильная трактовка полученных результатов.

В настоящее время проблема гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) в неинфекционной клинике является одной из приоритетных в практическом здравоохранении.

Для современной инфекционной патологии характерно увеличение частоты и удельного веса гнойных инфекций, а также появление новых возбудителей с измененными и ранее неизвестными свойствами.

Причины увеличения частоты и тяжести течения гнойных инфекций многообразны.

Прежде всего это очень широкое и порой неоправданное использование химиотерапевтических препаратов, нарушающих нормальный биоценоз организма и приводящих к формированию антибиотикоустойчивых штаммов, интенсивное развитие оперативной и другой инвазивной техники, что привело к появлению новых путей передачи, использование для лечения иммунодепрессантов, распространение аллергических и ятрогенных заболеваний, нарушение правил асептики и антисептики и возникающее на фоне всего перечисленного снижение иммунологической реактивности организма.

Повышение удельного веса ГВЗ, несомненно, связано с повышением чувствительности новых методов, с внедрением в лабораторную диагностику новых экспресс-методов, с разработкой и внедрением тест-систем и амплификационных тестов для диагностики.

Все эти причины отразились на этиологической структуре современных гнойно-воспалительных заболеваний в неинфекционной клинике, возбудителями которых являются условно-патогенные микроорганизмы, а также привели к широкой циркуляции полирезистентных штаммов бактерий и как следствие этого к увеличению удельного веса и тяжести течения внутрибольничных инфекций.

*Основные тенденции изменения этиологической структуры
гнойно-воспалительных заболеваний:*

- * снижение ведущей роли энтеробактерий и повышение частоты встречаемости грамотрицательных неферментирующих бактерий (*Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp*);
- * увеличение роли грамположительных бактерий, таких как *Enterococcus spp.*, *Sireptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, в том числе —

метициллинорезистентных *Staphylococcus aureus* (MRSA),

метициллинорезистентных *S. epidermidis* (MRSE);

★ появление возбудителей, которые редко встречались раньше

Stenotrophomonas maltophilia, *Flavobacterium spp.*, грибов рода *Candida*.

Успешное решение вопроса борьбы с госпитальными гнойно-воспалительными и септическими заболеваниями связано в первую очередь с их своевременной микробиологической диагностикой, рациональной химиотерапией и решением ряда эпидемиологических вопросов.

Особенно важна правильная трактовка полученных результатов.

Клиническая микробиология исследует микробиологические аспекты патогенеза, лабораторной диагностики, специфической профилактики и химиотерапии инфекционных болезней в неинфекционной клинике.

Клиническая микробиология - раздел медицинской микробиологии, изучающий взаимоотношения, складывающиеся между организмом и микробами в норме, при патологии, в динамике воспалительного процесса с учетом проводимой терапии до констатации клиницистом состояния клинического или полного выздоровления.

Задачи клинической микробиологии:

1. Изучение биологии и роли условно-патогенных микроорганизмов в этиологии и патогенезе гнойно-воспалительных заболеваний человека.
2. Разработка и использование методов лабораторной диагностики, специфической профилактики и этиотропной терапии инфекционных заболеваний в неинфекционном стационаре.
3. Исследование эпидемиологических аспектов внутрибольничных инфекций, микробиологических проблем дисбактериоза, лекарственной устойчивости микробов.
4. Микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятиями в больничных стационарах.

Для решения данных задач специалист по клинической лабораторной диагностике должен располагать необходимой информацией о составе и свойствах представителей нормальной микрофлоры, характерной для различных биотопов тела человека, и возбудителях инфекций различных систем организма.

Одно из обязательных условий – правильный забор материала, поскольку это обеспечивает достоверность получаемых результатов.

В клинической микробиологии наряду с условно-патогенными микроорганизмами, вызывающими оппортунистические инфекции, рассматривают патогенные микроорганизмы и вызываемые ими инфекции.

Диагностический процесс в клинической микробиологии складывается из четырех основных этапов:

- формулировка задачи и выбор метода исследования;
- выбор, взятие исследуемого материала, его хранение и транспортировка;
- проведение исследований;
- анализ полученных результатов.

Из четырех указанных этапов только один, да и то не всегда, полностью ложится на персонал лаборатории.

Формулировка задачи исследования является прерогативой лечащего врача. В выборе метода исследования, вида исследуемого материала функции врача-микробиолога сугубо консультативные.

Взятие и транспортировку материала, чаще всего, осуществляет персонал лечебного учреждения и только в особых случаях - персонал лаборатории.

Анализ полученных результатов проводится совместно лечащим врачом и врачом микробиологом, однако право и обязанность постановки диагноза больному принадлежат лечащему врачу. Поэтому ответственность за успех микробиологического исследования не может быть возложена исключительно на лабораторию.

Достоверность и клиническая значимость получаемой информации определяется согласованностью действий лечащего врача и врача-микробиолога.

Согласованные действия возможны только на основе взаимопонимания, когда обе стороны понимают потребности друг друга и трудности, которые возникают при решении своей составляющей общей задачи каждым из них.

ОРГАНИЗАЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Бактериологическая (микробиологическая) лаборатория — комплекс помещений, специально оборудованных для проведения бактериологических исследований. При лечебно-профилактических учреждениях бактериологические лаборатории проводят исследования диагностического и профилактического характера: обследуют организованные коллективы и отдельных лиц на носительство патогенных бактерий.

В бактериологической лаборатории выполняют следующие виды работ.

- ✦ Выполняют анализы, необходимые для постановки, уточнения диагноза заболевания.

Материалом для исследования в бактериологических лабораториях служат:

- моча, фекалии, мокрота, гной, кровь, спинномозговая жидкость, слизь из зева и носа, трупный материал;
- объекты окружающей среды: вода, воздух, почва, продукты питания, смывы с рук, инвентаря и т.д.

- ✦ Исследуют степень микробной обсемененности объектов внешней среды: воздух, воду, почву, продукты питания.
- ✦ Осуществляют контроль состояния внешней среды в хирургических стационарах, отделениях реанимации, аптеке, а также осуществляют контроль стерильных материалов, смывов с рук персонала и оборудования, операционных и перевязочных 1 раз в неделю.

Функции бактериологической лаборатории:

- прием, регистрация и посев поступающего на исследование материала;
- выделение чистых культур и определение их чувствительности к антибактериальным препаратам;
- уничтожение инфицированного материала;
- выдача результатов исследований;
- проведение инструктажа медицинского персонала о показаниях, методике забора, хранения и транспортировке взятого материала.

Лаборатория должна располагаться в отдельном здании или в изолированной части здания и иметь не менее двух входов. Все помещения лаборатории условно делят на «чистую» и «заразную» зоны. В «заразной» зоне осуществляют манипуляции с патогенными биологическими агентами III—IV групп и их хранение, в «чистой» зоне не проводят работы с микроорганизмами.

В «чистой» зоне располагаются: гардероб для верхней одежды, помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, комната для приготовления и разлива питательных сред), комната для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная), комната с холодильной камерой или холодильником для хранения питательных сред и диагностических препаратов, комната для работы с документами, помещение для отдыха и приема пищи, кабинет заведующего, помещение для хранения и одевания, подсобные помещения и туалет.

В «заразной» зоне располагаются:

- + помещение для приема и регистрации материала;
- + боксированные помещения с предбоксниками (или боксы биологической безопасности);
- + комнаты для проведения бактериологических (вирусологических) исследований;
- + комната для проведения иммунологических исследований;
- + помещение для люминисцентной микроскопии;
- + помещение для работы с лабораторными животными;
- + помещения для ПЦР-диагностики, термостатная комната;
- + комната, в которой происходит обеззараживание (автоклавная). Остатки патогенных биологических агентов, использованная посуда, твердые отходы из «заразной» зоны лаборатории собирают в закрывающиеся емкости и передают в автоклавную.

Правила забора, хранения и транспортировки материала.

Результаты микробиологической диагностики зависят от правильного выбора материала 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 материала 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.

Формулировка задачи исследования подразумевает создание рабочей гипотезы о возможной этиологии патологического процесса у данного больного.

Задача исследования определяет как выбор метода исследований, так и вид исследуемого материала и отражается в бланке направления, который прикладывается к материалу, доставляемому в лабораторию.

Многообразие мира патогенных микроорганизмов порождает многообразие методов, используемых для диагностики инфекционных заболеваний.

Успех выделения чистой культуры микроорганизма определяется правильностью выбора питательной среды и условий культивирования.

Универсальной питательной среды, использование которой гарантировало бы выделение любого микроорганизма из любого материала, не существует.

Кроме того, обнаружение возбудителей в объектах, содержащих значительное количество сопутствующей флоры, таких как, например, испражнения требует применения селективных сред, предназначенных для выделения конкретных видов микробов.

Для некоторых бактерий необходимы особые условия культивирования:

- микроаэрофильные - для кампилобактеров;
- анаэробные - для клостридий и бактероидов;
- атмосфера, обогащенная углекислым газом - для нейссерий).

Все это следует учитывать при направлении материала в лабораторию, так как успех исследования во многом определяется правильностью предварительного диагноза клинициста и, следовательно, правильностью поставленного перед лабораторией вопроса.

Методы лабораторной диагностики заболеваний инфекционной природы.

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 неспорообразующими 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.

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

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.

МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Цель микроскопического исследования — обнаружение в исследуемом материале микроорганизмов. Обнаружение в приготовленном мазке микроорганизмов при некоторых бактериальных (гонорея, туберкулез, возвратный тиф, сифилис), грибковых инфекциях и протозойных (малярия, трихоманиоз, лямблиоз) инвазиях имеет определенное диагностическое значение.

Если при исследовании стерильных в норме жидкостей, при первичной микроскопии выявляют микроорганизмы, это дает возможность постановки предварительного диагноза, назначения и проведения адекватной терапии.

В бактериологических лабораториях применяют не только обычные *методы оптической микроскопии* в проходящем свете, но и специальные: *в темном поле зрения, фазово-контрастной и люминесцентной микроскопии*.

Иммерсионная микроскопия

Иммерсионная микроскопия предполагает использование иммерсионного объектива с высокой разрешающей способностью (разрешающая способность — минимальное расстояние между двумя точками, при котором они еще видны отдельно). Фронтальную линзу объектива погружают в иммерсионное масло, показатель преломления которого близок к показателю преломления стекла, что увеличивает разрешающую способность микроскопа. В этом случае лучи света, которые проходят через препарат, не меняют своего направления и не рассеиваются, а попадают в объектив, что позволяет рассмотреть объекты увеличенными в 1000 раз.

Темнопольная микроскопия

Микроскопию в темном поле зрения проводят с использованием специального приспособления — конденсора темного поля. При этом исследуемый препарат освещается сбоку косыми лучами, которые не попадают в объектив. В объектив попадают только отраженные от объекта лучи.

При проведении темнопольной микроскопии применяют специальный конденсор — параболоид, в котором центральная часть линзы непрозрачная, а боковая поверхность конденсора зеркальная; он задерживает центральные лучи и образует темное поле зрения. Отраженные лучи попадают на боковую поверхность конденсора, отражаются от нее и концентрируются в фокусе. В связи с этим микроорганизмы видны ярко светящимися на черном фоне.

В практических лабораториях лечебно-профилактических учреждений темнопольную микроскопию используют для обнаружения в нативных препаратах возбудителей сифилиса, возвратного тифа, лептоспироза и для изучения подвижности бактерий.

Фазово контрастная микроскопия

При проведении фазово-контрастной микроскопии пользуются специальным устройством, которое позволяет превратить изменение фазы лучей, проникающих через частицы неокрашенного препарата, в изменения амплитуды, которые можно воспринимать человеческим глазом.

Используемое для фазово-контрастной микроскопии приспособление включает конденсор с набором кольцевых диафрагм, фазово-контрастных объективов и окуляров. При микроскопии свет, который проходит через участки препарата, проникает через фазовое кольцо и дает светлое изображение фона. А клетки микроорганизмов становятся темными на светлом фоне.

Этот метод используют для обнаружения и характеристики подвижности холерного вибриона и лептоспир.

Люминесцентная микроскопия

Этот вид микроскопии основан на регистрации люминесценции, т.е. способности некоторых веществ светиться под действием коротковолновых (например, ультрафиолетовых) лучей света.

При люминесцентной микроскопии препараты окрашивают специальными светящимися люминесцентными красителями-флюорохромами (акридиновый оранжевый, изоацетат флюоресцента).

Этим методом выявляют флюоресценцию анаэробных бактерий (*Fusobacterium*, *Prevotella*), что обусловлено присутствием флюорохромных веществ в их клетке. Флюорохромы, связавшись с белками, образуют стойкие комплексы, которые можно обнаружить в люминесцентном микроскопе: они оранжево-красного или коричнево-красного цвета.

Электронная микроскопия

В микробиологии электронную микроскопию используют для изучения ультраструктуры бактерий, грибов, простейших, а также для изучения вирусов.

Виды электронной микроскопии

Трансмиссивная, при которой изображение получают благодаря прохождению электронов через образец.

Сканирующая (растровая), при которой пучок электронов быстро сканирует поверхность объекта и вызывает излучение, которое формирует изображение на светящемся экране микроскопа. Источником света является источник электронов, источником электронов — электронная лампа.

Электроны, проходящие через объект за счет его разной толщины и электронной плотности, отклоняются под разными углами и попадают в объектив, где формируется первое полезное увеличение объекта. Линза объектива дает промежуточное увеличение изображения. Проекционная линза позволяет увеличить изображение во много раз.

Это увеличенное изображение попадает на флюоресцирующий экран, и его можно фотографировать.

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Классическое бактериологическое исследование — «золотой» стандарт микробиологической диагностики.

Цель бактериологического исследования — выделение чистой культуры возбудителя и ее идентификация.

Алгоритм бактериологического исследования:

- первичная микроскопия исследуемого материала (необязательный этап, в зависимости от характера материала);
- первичный посев с целью выделения чистой культуры;
- накопление чистой культуры;
- изучение комплекса биологических свойств выделенной культуры;
- окончательная идентификация возбудителя.

1-й день исследования

1. Первичная микроскопия

Результат первичной микроскопии дает ориентировочное представление о наличии в клиническом материале различных морфологических форм

микроорганизмов, а также позволяет провести их первичную идентификацию по морфологическими и тинкториальными свойствам и осуществить выбор сред для первичного посева.

Гнойное отделяемое — первичная микроскопия обязательна.

Спинномозговая жидкость — первичная микроскопия осадка обязательна.

Мокрота — первичную микроскопию проводят из разведений 10^4 - 10^5 .

Моча — первичную микроскопию не проводят.

Мазки из зева и носа — первичную микроскопию не проводят.

Кровь — первичную микроскопию не проводят.

Фекалии — первичную микроскопию не проводят.

2. Первичный посев

Исследуемый материал после первичной микроскопии или без нее (фекалии, моча, мазок из носа и зева, кровь) засевают на соответствующие среды, для выделения чистой культуры:

- сахарный бульон, кровяной агар — для стрептококков;
- желточно-солевой агар, кровяной агар — для стафилококков;
- среда Эндо — для бактерий семейства *Enterobacteriaceae*;
- МПА (мясо-пептонный агар) — для грамотрицательных бактерий;
- МПА (посев по методу Шукевича) — для выделения протей;
- среда Китта-Тароцци — для выделения анаэробов;
- среда Сабуро — для выделения грибов.

Посев является *первым этапом* бактериологического исследования (если не проводят первичную микроскопию).

Посев осуществляется следующим образом:

- **Посев штрихом с обжигом петли.** Материал забирают прокаленной бактериологической петлей и штрихом густо засевают верхнее поле чашки. Далее петлю опять прокаливают и вносят в густо засеянный сектор и проводят 2-3 вертикальные линии по всей чашке. После этого чашку переворачивают, густо засеянный сектор остается на нижнем поле чашки. Петлю опять прокаливают, и посев разносят по чашке 2-3 горизонтальными штрихами.
- **Посев шпателем.** Материал наносят на поверхность среды шпателем или пипеткой, а затем шпателем рассеивают по всей поверхности.
- **Посев тампоном.** Для посева тампон с исследуемым материалом вносят в чашку и круговыми движениями втирают его содержимое в питательную среду.

- **Посев по секторам.** При таком посеве дно чашки расчерчивают на секторы, посев проводят штриховыми движениями от края чашки к центру и по секторам.

2-й день исследования

1. Проводят учет роста на питательных средах как однородный или неоднородный.

2. Проводят описание культуральных свойств.

Алгоритм описания колоний

В результате роста на питательной среде образуются колонии (потомки одной клетки).

Отбирают изолированные колонии и изучают их — начинается *второй этап* исследования, направленный на изучение культуральных свойств бактерий. Знания этих свойств необходимы для идентификации полученной чистой культуры, так как каждому виду микроорганизмов при росте на определенной питательной среде соответствуют определенные культуральные свойства.

Колонии изучают:

- **макроскопически:** невооруженным глазом в проходящем и отраженном свете;
- **микроскопически:** при малом увеличении сухой системы микроскопа.

В *проходящем свете* изучают:

- величину колоний (крупные, средние, мелкие, карликовые);
- форму колоний (правильная, неправильная, круглая);
- прозрачность колоний (прозрачная, непрозрачная).

В *отраженном свете* определяют:

- цвет (бесцветные или окрашенные);
- характер поверхности (гладкая, бугристая, блестящая, шероховатая);
- высоту колоний над поверхностью среды (вдавленная, плоская, возвышающаяся).

Микроскопически оценивают:

- край (ровный, неровный);
- структуру (гомогенная, негомогенная).

Изучение колоний заканчивается приготовлением мазка, окраской его по методу Грама и микроскопией.

При взятии материала из колонии для приготовления мазка оценивают ее консистенцию (мягкая, слизистая, сухая).

Если при микроскопии культура оказалась чистая, то ее пересевают на скошенный агар для накопления.

3-й день исследования

1. Описание характера роста на скошенном агаре:

- однородный, неоднородный;
- по штриху, сплошной, сливной.

2. Проверка чистоты накопленной культуры. Готовят мазки, окрашивают по Граму и микроскопируют. Если накоплена чистая культура, то она подвергается дальнейшей идентификации.

Идентификация бактерий до рода и вида основана на изучении особенностей метаболизма — *биохимическая* идентификация и антигенного строения — *серологическая* идентификация.

3. Изучение биохимических свойств. Биохимические свойства — способность бактерий расщеплять те или иные субстраты за счет продукции соответствующих ферментов.

Для изучения биохимических свойств используют дифференциально-диагностические среды, содержащие различные субстраты (пестрый ряд). В их состав входят среды Гисса с углеводами, лакмусовое молоко, желатин, среды с аминокислотами, МПБ (мясо-пептонный бульон) с индикаторами на сероводород и индол.

• **Сахаролитические** свойства изучают на средах Гисса. В их состав входят пептонная вода, субстрат-углевод (различные моно- и полисахариды), многоатомные спирты и индикатор.

Если у бактерий есть ферменты, расщепляющие субстрат-углевод, то они выделяют продукты метаболизма (кислоту или кислоту и газ). При кислотообразовании индикатор меняет цвет среды, при газообразовании регистрируют разрывы среды.

- **Протеолитические** свойства изучают при посеве на желатин и лакмусовое молоко. Если у бактерий есть протеазы, то желатин разжижается. В молоке появляется сгусток кремового цвета, а над ним жидкость — пептонизация молока (за счет того, что протеазы бактерий расщепляют казеин молока до пептона).

- **Пептолитические** свойства. Чаще бактерии способны расщеплять промежуточные продукты распада белков — пептоны. Продукты этого процесса: амины (скатол, индол), аминокислоты, газы (сероводород, аммиак, углекислый газ).

Их можно обнаружить с помощью индикаторной бумаги:

—лакмусовая — для выявления аммиака;

—смоченная щавелевоуксусной кислотой — для выявления индола;

—смоченная ацетатом свинца — для выявления сероводорода.

Продукты дезаминирования и декарбоксилирования аминокислот обнаруживают с помощью тест-полос, изменяющих свой цвет при изменении pH среды.

4-й день исследования

1. Проводят учет результатов биохимических тестов. После того как культура идентифицирована до вида, у нее изучают ряд дополнительных признаков, таких как чувствительность к антибиотикам, токсигенность, наличие факторов вирулентности, плазмидный профиль, а также проводят внутривидовую дифференцировку.

2. Результаты биохимической идентификации служат основанием для проведения серологической идентификации. Серологическую идентификацию выделенной культуры проводят в реакции агглютинации на стекле с помощью соответствующих иммунных адсорбированных сывороток, выбор которых определяется результатами биохимической идентификации.

Внутривидовая дифференциация — определение принадлежности штамма к тому или иному фаговару, бактериоциногеновару, бактериоцнповару, биовару, резистовару и т.д. Она позволяет выявить эпидемиологические связи между штаммами одного вида.

Идентификация выделенной культуры позволяет сделать заключение о том, какой микроорганизм служит этиологическим фактором заболевания. При выделении условно-патогенных бактерий необходимо соблюдать критерии *этиологической значимости*:

- присутствие бактерий в материале из патологического очага в количестве не менее 10^5 КОЕ мл /г;
- повторное выделение из материала той же культуры;
- нарастания титра Ат в сыворотке крови больного к аутоштамму в 4 раза и более.

Определение фаговаров бактерий (фаготипирование)

Определение фаговаров проводят по эпидемиологическим показаниям для установления эпидемиологических связей между заболевшими. Для проведения исследования берут чашки Петри с МП А, подсушивают поверхность, расчерчивают дно на квадраты и маркируют. Далее 3—4-часовую культуру в бульоне засевают газоном, подсушивают и на каждый квадрат наносят каплю соответствующего типового фага в рабочем разведении.

Посевы помещают в термостат на сутки. Через 24 ч учитывают спектр чувствительности культуры к определенным фагам по литическому действию.

Определение бактериоциновара

Для определения бактериоциновара определяют чувствительность исследуемых штаммов к эталонным бактериоциноварам. Как и фаготипирование, его проводят по эпидпоказаниям.

Для проведения исследования соответствующие стандартные культуры-продуценты типовых бактериоцинов засевают на питательные среды. Посевы помещают в термостат при 37 °С на 48 ч.

Выросшие колонии индикаторных культур иннактивируют хлороформом, после чего на поверхность наливают 2—4 мл расплавленного агара, в который предварительно вносят 0,2 мл исследуемой 4-часовой бульонной культуры.

После того как агар застыл, посевы вновь помещают в термостат на 18—24 ч. Через указанное время учитывают наличие зон задержки роста вокруг индикаторных культур, тем самым определяют бактериоциновар изучаемых бактерий.

ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ

На современном этапе для биохимической идентификации микроорганизмов используют готовые тест-системы. Коммерческие тест-системы — это готовые полистироловые планшеты с сухими дифференциальными средами или субстратами.

Одни из наиболее востребованных — микротесты фирмы Плива-Лахема (производства Чехии).

В практических лабораториях широко используют диагностические системы API, производства фирм «*bioMerieux*» (Франция), «*Becton Dickinson*» и «*Micro Scan*» (США), идентификатор микроорганизмов «*MicroTax*» производства компании «*SY-LAB*» (Австрия).

С помощью тест-систем, выпускаемых этими фирмами, идентификация бактерий приводится в течение 3—48 ч.

Этапы идентификации микроорганизмов в тест-системах:

- 1-й этап: выделение чистой культуры;
- 2-й этап: подготовка бактериальной суспензии;
- 3-й этап: инокуляция культуры в лунки планшета;
- 4-й этап: оценка результатов;
- 5-й этап: идентификация культуры.

Данные этапы выполняют в соответствии с инструкцией производителя.

ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Иммунодиагностика — использование реакций иммунитета для диагностики инфекционных заболеваний.

Реакции иммунитета — реакции между антигеном (Аг) и антителом (Ат). Они описываются простым уравнением $Аг + Ат = \text{результат}$. Основная их характеристика — специфичность.

Реакции иммунитета и лаборатории применяют в двух направлениях:

- для **серологической диагностики**, т.е. для определения в исследуемом материале (чаще сыворотка крови) неизвестных Ат, используя для этого стандартный антигенный препарат - диагностикум, приготовленный, как правило, из эталонных штаммов микроорганизмов;
- для **иммуноиндикации**, т.е. для обнаружения в исследуемом материале микробных Аг, т.е. определения присутствия антигенов возбудителя с помощью известного Ат, содержащегося в иммунодиагностических сыворотках.

Реакция агглютинации и ее разновидности

Агглютинация — склеивание и осаждение микроорганизмов, эритроцитов или других клеток при действии на них специфических Ат в присутствии электролита.

Выделяют две фазы реакции.

- В первой, *специфической* фазе происходит взаимодействие Ат с Аг и образование комплекса Аг—Ат.
- Во второй, *неспецифической* фазе комплекс Аг—Ат выпадает в осадок. Это происходит только в присутствии электролита.

Реакцию агглютинации по идентификации ставят как в ориентировочном, так и в развернутом вариантах. Ориентировочную реакцию агглютинации ставят на предметном стекле с неразведенными или разведенными 1:10 адсорбированными агглютинирующими сыворотками, содержащими Ат одной специфичности. Результаты учитывают невооруженным глазом через 2-5 мин. Реакция считается положительной, если в результате отмечают появление хлопьев, жидкость становится прозрачной. При отрицательном результате жидкость остается мутной, хлопья не образуются.

При постановке реакции агглютинации по идентификации с неадсорбированными сыворотками на стекле необходим второй развернутый вариант: иммунную агглютинирующую сыворотку разводят до титра, обязательно используя разведение до 1/2 титра. Культуру считают идентичной взятой сыворотке, если она агглютинируется ей в разведении 1/2 титра и выше, так как в этих разведениях содержатся только видовые Ат.

Реакцию агглютинации ставят и с целью определения Ат в сыворотке больного, а также их количества. В качестве Аг используют диагностикум. В пробирках готовят ряд двукратных разведений сыворотки. В каждую пробирку вносят 1—2 капли диагностикума, помещают их на 2 ч в термостат при 37 °С, после чего предварительно учитывают результаты, начиная с контрольных пробирок. Отсутствие агглютинации в контрольных пробирках (помутнение) и появление хлопьев в опыте свидетельствуют о наличии Ат. Диагностически значимым считают нарастание титра Ат в парных сыворотках больного, взятых в разные дни болезни. Подобная динамика свидетельствует об инфекционном происхождении Ат.

Существуют разновидности реакции агглютинации — реакция пассивной гемагглютинации (РПГА), реакция коагглютинации, реакция торможения пассивной (непрямой) гемагглютинации (РТПГА).

Реакция пассивной гемагглютинации

Пассивная (непрямая) гемагглютинация — взаимодействие Ат (Аг) с Аг (Ат), предварительно адсорбированными на поверхности эритроцитов. Если

комплекс образовался, то эритроциты склеиваются и выпадают в осадок. Реакцию ставят в лунках полистироловых планшетов, в которых готовят разведение парных сывороток, в последних лунках 2 контроля: заведомо положительная сыворотка и физиологический раствор. Затем последовательно во все лунки с разведениями добавляют антигенный эритроцитарный диагностикум и инкубируют 2 ч.

Если произошла гемагглютинация, то эритроциты оседают на дне лунки, заполняя всю лунку (зонтик). Если результат отрицательный, эритроциты оседают в центре (пуговка). Это позволяет установить титр Ат и его нарастание.

Реакция коагглютинации

Реакцию коагглютинации чаще используют в вирусологии, так как она позволяет обнаружить невидимую на глаз вируснейтрализацию.

Она основана на том, что *Staphylococcus aureus* имеет в составе клеточной стенки белок А, способный связываться с Fc-фрагментом IgG и IgM.

Активные центры Ат свободны и могут взаимодействовать со специфическими детерминантами Аг.

При постановке реакции на предметное стекло наносят взвесь стафилококков, sensibilizированных соответствующими Ат, к которой добавляют каплю взвеси исследуемых вирусов. Если Аг соответствуют Ат, через 30—40 с происходит агглютинация между образовавшимися комплексами Аг—Ат, содержащими белок А.

Реакция торможения пассивной (непрямой) гемагглютинации

РТПГА используют для обнаружения Аг возбудителей в исследуемом материале при добавлении к нему диагностической иммунной сыворотки. При наличии гомологичного Аг происходит связывание Ат, а после добавления sensibilizированных Аг эритроцитов их агглютинации не происходит. Отсутствие гемагглютинации расценивается как положительный результат реакции. Реакцию РТПГА применяют и для обнаружения специфических Ат.

Для этого к исследуемой сыворотке добавляют Аг. Если в ней содержатся специфические Ат, то они связываются с Аг. При добавлении эритроцитов, sensibilizированных Ат, их склеивания не происходит.

Оценку результатов лучше проводить при работе с разведениями парных сывороток.

Реакция преципитации и ее разновидности

Реакция преципитации — осаждение (преципитация) Аг, находящегося в дисперсном, коллоидном состоянии под действием специфических Ат. Существует несколько разновидностей постановки этой реакции.

Кольцепреципитация

Эту реакцию ставят в преципитационных (узких) пробирках с иммунной преципитирующей сывороткой, на которую наслаивают растворимый Аг. При эквивалентном соотношении Аг и Ат на границе двух растворов образуется белое кольцо преципитации.

Если в качестве Аг в этой реакции, используют прокипяченный и профильтрованный водный экстракт органов и тканей, то реакцию называют термопреципитацией (реакция Асколи для диагностики сибирской язвы).

Иммунодиффузия

Метод основан на взаимодействии гомологичных Ат и Аг в агаровом геле с образованием полос и колец преципитации. Иммунодиффузию используют для определения токсигенности дифтерийных бактерий, концентрации иммуноглобулинов в сыворотке и др.

В последнем случае на стеклянную пластинку строго определенного размера (или в чашку Петри) аккуратно заливают расплавленный агар, содержащий в определенной концентрации антисыворотку к тому или иному классу иммуноглобулинов. В центре слоя застывшего агара и по периферии пробойником делают лунки, располагая их на определенном, одинаковом расстоянии друг от друга. В центральную лунку вносят стандартную сыворотку с известной концентрацией иммуноглобулина, например IgG, а в периферические лунки — исследуемые сыворотки.

Из стандартных и исследуемых сывороток IgG диффундирует в агар. При образовании комплекса происходит его диффузия в агар, образуются кольца преципитации.

Диаметр кольца преципитации пропорционален концентрации иммуноглобулина. Величину диаметра соотносят с калибровочной прямой, построенной по стандартным сывороткам, и определяют содержание иммуноглобулина в исследуемых сыворотках.

Иммуноэлектрофорез

Иммуноэлектрофорез основан на электрофоретическом разделении Аг в геле с последующей их преципитацией Ат иммунной сыворотки. Иммуноэлектрофорез

позволяет провести углубленный анализ и идентификацию отдельных Аг в многокомпонентных системах.

На пластинку из стекла наносят слой агара. Вначале антигены, помещенные в центре такой пластинки, разделяют в электрическом поле. Затем в канавку агара, вырезанную параллельно линии разделения Аг, добавляют иммунную сыворотку, происходит диффузия компонентов реакции навстречу друг другу, и в месте встречи образуются дуги преципитации.

С помощью этого метода анализируют состав белков сыворотки крови, спинномозговой жидкости, мочи.

Иммуоблоттинг

Метод основан на сочетании электрофореза и иммуноферментного анализа (ИФА).

В полисахаридном геле с помощью электрофореза выделяют Аг, затем проводят блоттинг (наложение), т.е. переносят его из геля на активированную бумагу или нитроцеллюлозную мембрану и продолжают электрофорез.

После чего на пленку наносят сыворотку пациента и инкубируют. Далее отмывают несвязавшиеся Ат и проводят ИФА. Для этого на пленку наносят антисыворотку к иммуноглобулинам человека, меченную ферментом, и субстрат, который меняет окраску при взаимодействии с ферментом.

Если образуется комплекс Аг—Ат—антисыворотка к иммуноглобулинам, на носителе появляются окрашенные пятна.

Реакции лизиса

Реакция иммунного лизиса

Реакция основана на том, что Ат-лизины способны растворять микроорганизмы только в присутствии комплемента.

Для проведения реакции готовят ряд разведений инактивированной нагреванием сыворотки, затем добавляют взвесь микроорганизмов и комплемент. Всё инкубируют.

После инкубации в термостате проводят оценку результатов с помощью высевок с количественным учетом.

Для контроля используют исследуемую культуру микроорганизмов, нормальную сыворотку и комплемент.

Реакция связывания комплемента

Реакция связывания комплемента (РСК) — сложная, многокомпонентная реакция, состоящая из двух систем:

- *первая система* (тест-система): $Ag+At+комплемента$, где Ag или At — неизвестный компонент;
- *вторая система* (индикаторная, или гемолитическая, система): эритроциты барана + гемолитическая сыворотка.

Если на первом этапе реакции произошло специфическое взаимодействие Ag и At , то комплемент адсорбируется на образовавшемся комплексе.

Процесс связывания комплемента визуально не проявляется. В связи с этим используют вторую индикаторную систему — гемолитическую, состоящую из эритроцитов барана и гемолитической сыворотки (гемолитическую сыворотку получают при иммунизации кролика эритроцитами барана).

Эта индикаторная система высокочувствительна к свободному комплементу. В его присутствии происходит иммунный гемолиз.

В зависимости от присутствия обнаруживаемых Ag или At возможно два исхода.

1. Если на первом этапе образовался комплекс $Ag—At$, то на нем адсорбируется комплемент. При добавлении гемолитической системы гемолиза не происходит, так как комплемента в свободном состоянии не осталось. (Все компоненты реакции берутся в строго определенных рабочих дозах.)

2. Если в исследуемой сыворотке комплекс $Ag—At$ не образовался, то комплемент остался в свободном состоянии, и он адсорбируется на комплексе гемолитической системы. Визуально это проявляется в лизисе эритроцитов и образовании «лаковой» крови.

Перед постановкой РСК все компоненты, участвующие в реакции, титруют.

Титр гемолитической сыворотки — ее наибольшее разведение, которое вызывает полный гемолиз эритроцитов в течение 1 часа при $37^{\circ}C$.

Рабочая доза гемолитической сыворотки равна тройному ее титру.

Титр комплемента — наименьшее его количество, которое вызывает полный гемолиз эритроцитов.

Рабочая доза комплемента — в основном опыте РСК (в объеме 0,5 мл) должна быть выше титра на 20—30%.

Титр антигена — минимальная доза, не вызывающая задержку гемолиза.

Для РСК используют рабочую дозу $Ag = 1/2$ ее титра.

Реакции иммунитета с использованием метки

Реакция иммунофлюоресценции

Реакция иммунофлюоресценции (РИФ) основана на использовании флюорохромов, химически связанных с Ат. При этом меченные люминесцентной меткой Ат вступают во взаимодействие с корпускулярным Аг.

Образовавшиеся специфические комплексы обнаруживают по интенсивному свечению, регистрируемому с помощью люминесцентного микроскопа.

Существуют разновидности этой реакции.

При постановке *прямой* РИФ используют противомикробные флюоресцирующие Ат, т.е. реакция происходит против возбудителя.

Непрямая РИФ (РНИФ) проходит в два этапа. На первом этапе используют обычные антисыворотки к анализируемому возбудителю. Образовавшиеся при этом комплексы Аг-Ат на втором этапе выявляют с помощью люминесцентной сыворотки, которая содержит меченые Ат против иммуноглобулина того вида животного, сыворотка которого использована на первом этапе реакции.

Имуноферментный анализ

Метод основан на использовании меченных ферментом сывороток. Индикацию образовавшихся комплексов проводят по химической реакции между ферментом и субстратом, сопровождающейся изменением цвета.

Интенсивность окраски хромогена соответствует количеству образовавшихся комплексов Аг и меченных ферментом Ат. В качестве фермента чаще всего бывает пероксидаза или щелочная фосфатаза.

Для проведения анализа используют твердофазный носитель с сорбированным Аг или Ат. Реакцию можно ставить для обнаружения как Аг, так и Ат.

Основные этапы реакции по обнаружению Ат:

1. Сорбция известного Аг в лунке планшета.
2. Внесение исследуемой сыворотки; промывка.
3. Внесение меченой ферментом антиглобулиновой сыворотки; промывка.
4. Внесение хромогенного субстрата.
5. Регистрация реакции.

Основные этапы реакции по обнаружению Аг:

1. Сорбция известного Ат в лунке планшета.

2. Внесение Аг содержащего материала; промывка.
3. Внесение Ат той же специфичности, но другого вида животного.
4. Внесение меченной ферментом сыворотки против иммуноглобулинов того вида животного, сыворотка которого была использована последней; промывка.
5. Внесение хромогенного субстрата.
6. Регистрация реакции.

Радиоиммунный метод

В основе радиоиммунного анализа (РИА) лежит использование Ат, меченных радиоактивной меткой.

Материал, в котором ищут неизвестный Аг, обрабатывают такой сывороткой. Если в исследуемом материале есть соответствующий Аг, образуется комплекс Аг—Ат, обладающий радиоактивностью, которую легко выявить с помощью специального счетчика. Если соответствующих Аг в исследуемом материале нет, то меченные радиоактивной меткой Ат не связываются и легко удаляются на этапе промывания.

Как и реакция иммунофлюоресценции, радиоиммунный анализ может быть проведен в прямом и непрямом вариантах для обнаружения Аг.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

ДНК-гибридизация

Различают две методики гибридизации:

- ◆ гибридизация, проводимая в растворе;
- ◆ гибридизация, проводимая на твердой поверхности.

Гибридизация в растворе

При реализации этого метода искомая нуклеиновая кислота и зонд взаимодействуют в водной реакционной смеси, что повышает скорость процесса гибридизации.

Метод ДНК-гибридизации основан на способности денатурированной одноцепочечной ДНК достраивать гомологичную цепь в бесклеточной системе.

В качестве материала для второй цепи используют ДНК-зонды (коммерчески производимые фрагменты молекулы известной ДНК, гомологичные фрагментам искомой ДНК возбудителя, меченные радиоактивным изотопом или ферментом).

При наличии в исследуемом материале гомологичных участков ДНК по закону комплементарности ДНК-зонд взаимодействует с ним.

Учет результатов проводят по уровню радиоактивности или при добавлении к пробе субстрата, который соответствует используемому зонду ферменту. Образование специфического комплекса субстрат— фермент означает, что в исследуемом материале есть ДНК, соответствующая ДНК-зонду.

Гибридизация на твердом носителе (блот-гибридизация)

Основана на ДНК-гибридизации зонда на твердой поверхности, и качестве которой используют полимерный мембранный фильтр.

Основные этапы исследования:

- исследуемый образец обрабатывают ультразвуком для получения коротких фрагментов находящихся в нем ДНК;
- проводят денатурацию нуклеиновой кислоты;
- денатурированные нуклеиновые кислоты наносят на мембранный фильтр и фиксируют;
- проводят предварительную гибридизацию со специальным буфером при 65 °С;
- добавляют гибридный буфер, который содержит денатурированный зонд, и проводят гибридизацию при 65 °С.

«Сэндвич»-гибридизация

Этот метод предполагает использование двух видов ДНК-зондов, которые гомологичны различным участкам искомой нуклеиновой кислоты. Чтобы связать искомую нуклеиновую кислоту, присутствующую в исследуемом образце, один зонд фиксируют на мембране.

После окончания процесса гибридизации мембрану отмывают от исследуемого материала и добавляют раствор, который содержит второй зонд, несущий метку. После этого процесс гибридизации повторяют, при этом меченый зонд взаимодействует с искомым участком нуклеиновой кислоты.

Окончательная детекция зависит от характера меток, которые могут быть ферментногибридизационными, флюоресцентными и т.д.

Гибридизация

Процесс гибридизации проводят непосредственно на срезе или в мазке с использованием зондов. Основу метода составляет принцип твердофазной гибридизации или гибридизации в растворе. Используемый в реакции зонд содержит флюоресцентную метку.

После окончания процесса гибридизации связавшиеся молекулы в исследуемом мазке или срезе выявляют под флюоресцентным микроскопом. При данном методе возможен количественный анализ.

Полимеразная цепная реакция

Принцип метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) основан на естественной репликации ДНК, которая включает денатурацию спирали ДНК, расхождение нитей и комплементарный синтез новых нитей ДНК. ПЦР обеспечивает амплификацию фрагментов генома и быстрое накопление определенной последовательности ДНК.

В результате получают большое количество ДНК, которое достаточно для проведения анализа различными методами детекции.

Для реакции используют набор праймеров фрагментов ДНК, которые являются маркерами данного возбудителя. При добавлении такого праймера к пробе исследуемого материала, содержащей денатурированную одноцепочечную ДНК возбудителя, происходит их соединение с комплементарным участком ДНК.

Образовавшиеся дунитевые фрагменты ДНК служат матрицей для синтеза новых нитей в следующем цикле амплификации, и так повторяется много раз, поэтому реакция носит цепной характер. За 2—3 ч происходит 30-40 циклов амплификации, что приводит к образованию большого количества соответствующих копий нуклеотидных последовательностей, которое можно зарегистрировать.

Компоненты реакции:

- ❖ Праймеры-олигонуклеотиды, состоящие из 15-30 нуклеотидов, комплементарных участкам на идентифицируемой матричной ДНК.
- ❖ Смесь дезоксинуклеотидтрифосфатов — строительный материал, используемый Таq-полимеразой для синтеза второй цепи ДНК.
- ❖ Таq-полимераза, обладающая ДНК-пол и меразной активностью.
- ❖ Буферный раствор, катализатор фермента Таq-ДНК-полимеразы.
- ❖ Исследуемый образец — препарат, который служит мишенью для последующей амплификации.

ДНК-чипы

Технология ДНК-чипов основана на гибридизации нуклеотидной последовательности исследуемого материала с известными ДНК-последовательностями, расположенными в определенном порядке, иммобилизованными на поверхности стекла или кремня.

Результат реакции детектируют по флюоресценции зонда, предварительно меченного флюорохромом и гибридизированного с одной из проб.

Биочип — матрица, состоящая из ячеек. В каждой ячейке закреплен олигонуклеотид (последовательность из нескольких нуклеиновых кислот).

Каждый нуклеотид имеет одинаковую длину и отличается от другого последовательностью аминокислот.

Исследуемый образец наносят на все ячейки чипа, а затем через некоторое время сливают. Если имеется нуклеотид комплементарный и закрепленному в ячейке, то между ними образуется связь, и после промывания они не удаляются. Затем образец исследуют под флюоресцентным микроскопом, который регистрирует результат образования комплекса по световому сигналу.

Свечящиеся ячейки кодируют олигонуклеотиды исходной пробы. Таким образом, зная нуклеотиды, которые были изначально помещены в данной ячейке, можно сделать вывод о составе фрагмента исследуемой ДНК.

Выбор вида исследуемого материала зависит от вида заболевания и преимущественной локализации возбудителя на данном этапе его развития.

Классическим примером, подтверждающим значение обоснованного выбора материала в зависимости от этапа патогенеза болезни, является брюшной тиф. При этой инфекции на разных этапах её развития для бактериологического исследования используют вначале кровь, а затем испражнения. Важно осуществить взятие материала в оптимальные сроки.

Процедуры взятия материала для бактериологического исследования зачастую достаточно технически сложны, а правильность их выполнения имеет решающее значение. Например, нарушение правил взятия крови ведёт к её контаминации микроорганизмами с кожи или из окружающей среды и может стать причиной ошибочного этиологического диагноза. Тяжесть процедуры должна оправдывать ценность получаемой информации.

В большинстве случаев время от момента взятия материала до начала исследования лимитировано, и чаще всего не должно превышать 2 часов. Если необходимо увеличить время от момента взятия до начала работы, то при использовании некоторых методов материал можно законсервировать.

Так, материал для бактериологического исследования можно забирать с использованием транспортных сред, что обеспечивает сохранение

жизнеспособности микроорганизмов в процессе транспортировки. Наиболее универсальными транспортными средами (консервантами), подходящими для сохранения подавляющего большинства видов бактерий являются среды Амис и Кэри-Блер.

Ряд зарубежных фирм выпускает эти среды в готовом виде в пробирках, укомплектованных тампонами или другими приспособлениями для взятия материала. Кроме того, имеется широкий перечень транспортных сред, применяемых для выделения определенных видов микроорганизмов.

Наиболее строгие требования предъявляются к транспортировке материала, подлежащего бактериологическому исследованию на неспорообразующие анаэробные микроорганизмы.

Эти бактерии быстро погибают при контакте с кислородом воздуха, что заставляет использовать для транспортировки материала сосуды, заполненные инертным газом.

ТРАНСПОРТНЫЕ СРЕДЫ АМИС И КЭРИ-БЛЕР

Среда	Состав (г/л)			Исследуемый материал
Транспортная среда Амиса (Amies Transport Medium)	NaCl	-	8,0	Гной, экссудаты, материал из половых органов
	Калия хлорид	-	0,2	
	Кальция хлорид	-	0,1	
	Магния хлорид	-	0,1	
	Калия монофосфат	-	0,2	
	Натрия фосфат двузамещенный	-	1,15	
	Натрия тиогликолят	-	1,0	
	Агар	-	3,6	
	Уголь	-	10,0	
Транспортная среда Кэри-Блэр	Натрия тиогликолят	-	1,5	Испражнения
	Натрия фосфат двузамещенный	-	1,1	
	Натрия хлорид	-	5,0	
	Агар	-	1,6	

В случаях, когда условия доставки материала не могут быть выполнены, следует отказаться от использования данного вида исследований и попытаться найти метод, менее зависящий от особенностей транспортировки проб.

Например, не целесообразно определять количество неспорообразующих анаэробов при диагностике дисбактериоза кишечника, если пробы доставлены в лабораторию более чем через 2 часа после дефекации, так как полученный результат будет заведомо недостоверен.

Проведение исследований в лаборатории регламентировано национальными стандартами и инструкциями фирм изготовителей реагентов.

Строгое соблюдение правил, определяющих технологию диагностических процессов, обеспечивает унификацию исследований и возможность сопоставления данных, полученных в различных учреждениях.

Основным документом, регламентирующим технику исследований в области клинической микробиологии в нашей стране, являются "Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях", а также из многочисленных пособий по выделению и идентификации отдельных видов клинически значимых микроорганизмов.

Анализ результатов исследований включает оценку:

- достоверности результатов;
- полноты полученной информации;
- этиологической значимости обнаруженных микроорганизмов.

Достоверность полученных результатов обеспечивает осуществление в лабораториях работ по внешнему и внутреннему контролю качества исследований.

Внешний контроль осуществляется путем внешних инспекций, включающих решение диагностических задач. По результатам таких инспекций лаборатории проходят лицензирование на право проведения диагностических исследований.

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 эпителия и отсутствие лейкоцитов, указывает на примесь значительного количества слюны.

Бактериологическое исследование такого образца не целесообразно.

Анализ полноты полученной информации в первую очередь подразумевает решение вопроса: достаточно ли результатов поставленных тестов для постановки этиологического диагноза. А если нет, то какие исследования могут быть выполнены дополнительно. В ряде случаев дополнительные исследования могут быть выполнены без повторного взятия материала.

Диагноз больному ставит в конечном счете врач-клиницист на основании всего комплекса многообразной информации, включающего как данные объективных методов исследования, так и жалобы больного, анамнез и т.д.

При оценке диагностической значимости бактериологического исследования необходимо, прежде всего, помнить о неравнозначности положительного и отрицательного результатов исследования. Если обнаружение микроорганизма в исследуемом материале однозначно говорит о его присутствии в организме больного в момент исследования (конечно, если исключить случайную контаминацию пробы персоналом), то отрицательный результат не всегда свидетельствует об их отсутствии.

Причины, по которым возбудитель не удастся выделить от больного тем или иным инфекционным заболеванием многообразны. Среди них следует отметить неравномерность распределения микроорганизмов в общей массе исследуемого материала, неравномерность выделения возбудителей из организма больного по времени.

В связи с этим вероятность обнаружения патогенных микроорганизмов резко возрастает по мере увеличения кратности обследования больного и увеличения числа исследованных видов материала.

Таким образом, отрицательный результат бактериологического исследования, особенно однократного, еще не является достаточным основанием для исключения данного инфекционного заболевания.

С другой стороны и факт обнаружения патогенного микроорганизма, вне связи с конкретными обстоятельствами, не всегда является достаточным основанием для постановки конкретного диагноза. Это связано с широким распространением при ряде нозологических форм бактерионосительства.

Значимость факта обнаружения патогенного микроорганизма во многом определяется видом исследуемого материала.

Возможной причиной диагностической ошибки является и неверная оценка локализации выделенного патогена в организме больного, обусловленная особенностями получения отдельных видов исследуемого материала.

Наибольшую сложность представляет трактовка результатов бактериологического исследования в случае обнаружения условно-патогенных микроорганизмов, многие из которых являются представителями нормальной микрофлоры.

Наиболее часто во внимание принимаются следующие обстоятельства:

- 1) количество микроорганизмов данного вида в материале;
- 2) отсутствие в материале патогенных микроорганизмов;
- 3) выделение данного вида микроорганизмов в монокультуре или в ассоциации с другими;
- 4) частота находок данного вида микроорганизмов в том же виде исследуемого материала у здоровых;
- 5) повторное выделение одного вида микроорганизмов на протяжении всего заболевания и его исчезновение по мере выздоровления;
- 6) выявленное с помощью серологических исследований нарастание титра антител к данному виду микроорганизмов;
- 7) одновременное обнаружение одного и того же вида микроорганизмов у ряда пациентов со сходной клиникой и сходным источником заражения.

Не менее сложной является и оценка результатов серологических исследований. Лишь в немногих случаях (например, сифилис, гепатиты) диагностическое значение имеет уже сам факт обнаружения антител определенной специфичности.

Чаще диагноз ставится с помощью одного из двух диагностических критериев: диагностического титра или нарастания титра антител.

Диагностический титр - условная величина титра антител в сыворотке крови к конкретному возбудителю, превышение которой может быть расценено как признак заболевания.

Величина диагностического титра устанавливается эмпирическим путем для каждого заболевания и каждой серологической реакции.

В случае применения для диагностики одного заболевания нескольких серологических реакций, величины диагностических титров для каждой из них могут не совпадать, так как реакции отличаются по своей чувствительности.

Кроме того, различия в величинах диагностических титров возможны и при использовании одной и той же реакции, в случае применения разных диагностических препаратов, так как в этом случае могут выявляться антитела к разным антигенам. Величина диагностического титра указывается в инструкции - вкладыше, которая имеется в каждой коробке с диагностическим препаратом.

Для определения нарастания титра антител необходимо исследовать две сыворотки больного, взятые с интервалом в 7-10 дней. Для исследования обеих сывороток должна использоваться одна и та же серологическая реакция.

Таким образом для оценки результата врачу недостаточно знать абсолютную величину титра антител, а необходима еще и информация о виде поставленной серологической реакции.

Эта информация еще более важна, если учесть, что динамики титров антител, определяемых с помощью различных реакций не совпадают при некоторых заболеваниях.

Например, при сыпном тифе с помощью РНГА антитела удается выявить в высоких титрах на ранних сроках заболевания и в период его разгара, но не после выздоровления. В РСК, напротив, титр антител нарастает медленнее, но сохраняется высоким длительное время после выздоровления.

Сопоставляя данные, полученные с помощью различных серологических реакций, врач в ряде случаев может получить ценную дополнительную информацию.

Современные методы серодиагностики позволяют определить концентрацию в сыворотке иммуноглобулинов отдельных классов определенной специфичности.

Когда первый контакт с микроорганизмом индуцирует иммунный ответ, первыми появляются IgM. Титры IgM быстро нарастают и достигают максимума, а затем относительно быстро снижаются.

IgG появляются позже, но дольше сохраняются в высоких титрах. При повторном контакте с тем же антигеном (вторичный иммунный ответ) IgM вырабатываются в незначительном количестве, реакция гуморального иммунитета проявляется прежде всего увеличением титров IgG.

В связи с этим по соотношению IgM и IgG можно отличить первичный иммунный ответ - острое заболевание от вторичного - рецидив или повторное заражение. Кроме того, о различиях в характере вырабатываемых иммуноглобулинов при первичном и вторичном иммунных ответах следует помнить при оценке результатов, полученных с помощью некоторых современных иммунологических методов, например ИФА.

Большинство выпускаемых тест-систем для серодиагностики в ИФА позволяют определить титр IgM или IgG. Соответственно и лаборатория сообщает врачу не титр антител вообще, а титр иммуноглобулинов соответствующего класса.

В зависимости от конкретной клинической ситуации интерпретация высоких или низких титров IgM и IgG будет отличаться.

В частности, низкие титры или отсутствие IgM не всегда можно расценивать как факт, свидетельствующий в пользу отсутствия заболевания.

Задачи клинической микробиологии близки к задачам медицинской микробиологии.

Специфика определяется тем, что клиническая микробиология исследует одну группу микробов – *условно-патогенных микроорганизмов*, одну группу заболеваний - *оппортунистические инфекции* и одну антропогенную экосистему - *больничные учреждения*.

Развитие и течение оппортунистических инфекций (лат. *opportunas* — склонный к заболеванию) определяются тремя группами факторов: *свойствами возбудителя, состоянием макроорганизма и внешней среды*.

Со стороны возбудителя решающее значение в возникновении инфекции имеет высокая по патогенности инфицирующая доза возбудителя и наличие у него определенного набора факторов вирулентности.

Со стороны организма человека — нарушение целостности покровов и, что наиболее существенно, иммунодефицитные состояния.

Значение окружающей среды связано с наличием факторов передачи возбудителя от инфицированного человека не инфицированному.

Возбудители оппортунистических инфекций не имеют строго выраженного органного тропизма, вследствие чего один и тот же вид может вызвать различные нозологические формы (бронхит, менингит, пиелонефрит и др.).

В свою очередь одна и та же нозологическая форма заболевания (пневмония, остеомиелит, сепсис и др.) может быть вызвана любым условно-патогенным микроорганизмом.

Оппортунистические инфекции часто вызываются ассоциацией микроорганизмов. Смешанные инфекции, возникают в результате одновременного, а чаще последовательного заражения человека несколькими видами возбудителей.

Клиническая картина оппортунистических инфекций мало специфична. Она зависит в большей мере от локализации поражения, чем от вида возбудителя. Для этих инфекций характерно хроническое течение.

В основе хронизации лежит иммунодефицит, а также смена видового состава возбудителей в течение болезни.

Эти же факторы обуславливают склонность оппортунистических инфекций к генерализации, развитию септикопиемии.

К особенностям оппортунистических инфекций относится так же сложность лечения, которая связана с множественной устойчивостью возбудителей к антимикробным препаратам, недостаточной активностью факторов неспецифической защиты, а также слабым иммунным ответом организма больного на антигены возбудителя.

В связи с этим главным принципом лечения оппортунистических инфекций является сочетанное применение препаратов микробицидного действия и иммуностимулирующей терапии.

Вместе с тем оппортунистические инфекции отличаются от заболеваний, вызванных облигатно-патогенными микроорганизмами, такими эпидемиологическими особенностями, как широкое распространение в больничных стационарах, частые случаи эндогенной инфекции.

Этиология оппортунистических инфекций

Оппортунистические инфекции вызывают **условно-патогенные микроорганизмы**. К ним относятся бактерии, грибы, простейшие.

По многим признакам близки к условно-патогенным микроорганизмам некоторые виды вирусов (α -герпесвирусы типов 1 и 2, β -герпесвирус, паповавирусы, отдельные варианты аденовирусов, вирусов Коксаки и ЕСНО).

Условно-патогенные микроорганизмы вступают с организмом человека в одних случаях в отношения симбиоза, комменсализма и/или нейтрализма, в других - в конкурентные отношения, нередко приводящие к развитию заболевания.

Поэтому они получили название «условно-патогенные микробы», т.е., обладая низкой степенью патогенности для человека, они проявляют свои патогенные свойства только при определенных условиях, например при снижении иммунного статуса организма.

Грань между патогенными микробами и условно-патогенными микроорганизмами весьма относительна.

Поскольку условно-патогенные микроорганизмы в литературе часто называют «микробами оппортунистами» (от англ. *to take opportunity*), вызываемые ими заболевания получили название оппортунистических инфекций.

Оппортунистические инфекции могут вызываться более чем сотней видов условно-патогенных микроорганизмов.

Чаще всего в их этиологии играют роль представители следующих родов: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Peptostreotococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*,

Klebsiella, Citrobacter, Serratia, Proteus, Hafnia, Providencia, Pseudomonas, Haemophilus, Branhamella, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Flavobacterium, Vibrio, Propionibacterium, Bacteroides, Fusobacterium, Bacillus, Mycobacterium, Eikenella, Mycoplasma, Actinomyces, Candida, Cryptococcus, Pneumocysta.

В экологическом отношении условно-патогенные микроорганизмы неоднородны. Среди них имеется группа свободноживущих видов, главной средой обитания которых являются различные биоорганические субстраты (пищевые продукты, вода, почва, органические отходы деятельности человека, растворы и аэрозоли лекарственных препаратов).

Большинство этих видов способны обитать также в организме человека и при определенных условиях вызывать у него болезни (сапронозы), но для сохранения и продолжения вида живая среда для них необязательна.

В больничных стационарах из этой группы микробов обитают ацинетобактерии, псевдомонады, серрации, протеи, клебсиеллы. Некоторые виды паразитов животных, например сальмонеллы, также должны быть отнесены к условно-патогенным микроорганизмам.

Основная часть условно-патогенных микроорганизмов относится к нормальным обитателям многих биотопов организма человека и находятся с ним в симбиотических отношениях.

При определенных условиях они могут вступать с хозяином в конкурентные отношения и вызывать у него болезни, но это явление не дает им биологических преимуществ, более того, иногда ведет к потере хозяина.

Факторы патогенности. В отличие от большинства патогенных микробов, которые имеют четко обозначенные входные ворота для проникновения во внутреннюю среду организма, условно-патогенные микроорганизмы способны вызывать инфекцию при попадании любым путем в любые органы и ткани, что является одной из причин многоорганности оппортунистических инфекций.

Для развития инфекции необходимы пассивный занос условно-патогенных микроорганизмов во внутреннюю среду организма и дефицит элиминирующих механизмов иммунной системы.

Условно-патогенные микроорганизмы повреждают клетки и ткани организма хозяина эндотоксинами и ферментами агрессии.

Эндотоксин грамотрицательных бактерий является универсальным фактором патогенности условно-патогенных микроорганизмов. Мишенью для него являются поверхности клеток почти всех органов человека, что определяет многогранность и идентичность или близость вызванных ими поражений.

Поскольку активность эндотоксина относительно невелика, то только высокие концентрации его могут вызвать клинически выявляемые поражения, которые образуются при одновременной гибели и лизисе больших количеств бактерий.

Сами условно-патогенные бактерии не продуцируют белковые экзотоксины и не способны к внутриклеточному паразитированию, их эндотоксин можно рассматривать как универсальный фактор патогенности.

Мишенью для действия эндотоксина являются клетки многих органов человека, что определяет идентичность или близость вызванных им поражений. Поскольку токсичность эндотоксина невелика, то только его высокие концентрации могут вызвать клинические поражения

Ряд условно-патогенных микроорганизмов, помимо эндотоксина, содержит и выделяет во внешнюю среду пока плохо идентифицированные вещества, оказывающие цитотоксическое и цитолитическое действие.

Условно-патогенные бактерии продуцируют большое количество разнообразных эктоферментов: гиалуронидаза, эластаза, коагулаза, фибринолизин, нейроминидаза, лецитиназа, нуклеазы, декарбоксилазы и др., оказывающие деполимеризующее или конформационное действие на свободные или входящие в состав клеток молекулы.

Перечисленные факторы вирулентности, кроме эндотоксина, выявляются у условно-патогенных бактерий в неполном и разном комплекте.

Такие факторы патогенности, как инвазия, подавление или интерференция

фагоцитарного и других элиминирующих механизмов организма хозяина у условно-патогенных микроорганизмов в отличие от облигатно-патогенных отсутствуют, поэтому развитие инфекции возможно лишь при иммунодефиците.

Повреждающее действие ферментов агрессии обусловлено не только разрушением структур клеток, тканей и органов, но и токсическим действием продуктов ферментативного распада (мочевина, сероводород, амины и др.).

Условно-патогенные микроорганизмы обладают почти тем же набором факторов патогенности, что и большинство патогенных микробов.

Однако, в отличие от патогенных микробов, у которых набор факторов патогенности специфичен и универсален для вида, у условно-патогенных микроорганизмов он в значительной степени вариабелен и малоспецифичен.

Популяции. Развитие инфекционного процесса, в первую очередь, зависит от входных ворот инфекции и способности возбудителя адаптироваться в них. Условно-патогенные виды хорошо адаптированы к своему хозяину и легко приспособляются при попадании в аналогичные биотопы другого человека.

Гетерогенность популяций условно-патогенных микроорганизмов выражена в большей степени, чем у патогенных микробов.

Гетерогенность популяций условно-патогенных микроорганизмов проявляется почти по всем признакам, особенно она выражена в устойчивости к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам, физическим факторам, бактериофагам и бактериоцинам.

Хорошо известна высокая гетерогенность антигенной структуры большинства условно-патогенных бактерий, которая создает большие сложности в идентификации выделенных культур.

Основная причина гетерогенности популяций условно-патогенных бактерий в патологических очагах состоит в том, что инфицирование человека происходит гетерогенным пулом возбудителя, а в процессе болезни происходит суперинфицирование экзотами.

Популяции условно-патогенных бактерий не только гетерогенны, но и изменчивы в процессе лечения в сторону перехода от чувствительных вариантов к полирезистентным, от внебольничных экovarов к больничным.

Учитывая гетерогенность и изменчивость популяций условно-патогенных бактерий, вызывающих оппортунистические инфекции, практически важно:

- а) исследовать большое число культур одного вида в процессе микробиологической диагностики;
- б) при выборе химиотерапевтических средств ориентироваться на варианты и штаммы возбудителя, обладающие наиболее высоким уровнем резистентности к антибиотикам и антисептикам;
- в) наблюдать в динамике болезни за количественным и качественными изменениями в составе популяции возбудителя и корректировать схему лечения;
- г) предупреждать суперинфекцию как путем изоляции патологических очагов, так и резкого снижения массовости микробной дессимиляции объектов внешней среды.

Микробиоценозы условно-патогенных микроорганизмов.

Условно-патогенные микробы обитают в виде сообществ - микробиоценозов, включающих сотни популяций разных видов микроорганизмов.

В систематическом отношении в составе микробиоценоза здоровых людей содержатся представители разных таксонов бактерий, грибов, простейших, вирусов.

Члены микробиоценоза занимают в биотопе определенные экологические ниши и находятся между собой в определенных соотношениях:

симбиоз, конкуренция, нейтрализм.

Эти факторы в основном определяют количественные соотношения между ними.

Микробиоценозы здоровых (нормальных) биотопов людей, находящихся в стационарах, отличаются от таковых людей вне стационара колонизацией госпитальными штаммами условно-патогенных микроорганизмов.

Частота колонизации выше у иммунодефицитных лиц, в ряде отделений и специальностей она высока у медицинских работников.

Микробиоценозы патологически измененных биотопов стационарных больных отличаются сниженной способностью к аутостабилизации, усилением конкурентных взаимоотношений между членами микробиоценоза и отдельными его представителями с организмом хозяина и увеличенной частоте внутри- и межпопуляционного генетического обмена.

Это ведет к появлению в биотопе нетипичных для него видов, особенно их госпитальных экочаев, исчезновению или резкому снижению численности аутохтонных видов.

Эпидемиология оппортунистических инфекций

Источником инфекции чаще всего является больной человек, - особенно со стертой формой заболевания, или носитель.

Наибольшую опасность в эпидемиологическом плане представляет медперсонал больничных учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, например стафилококков.

Источником инфекции могут служить животные, например больные маститом коровы при стафилококковых токсикоинфекциях и энтероколитах.

Иногда источником инфекции служат объекты больничной среды, обильно обсемененные свободноживущими видами условно-патогенных микроорганизмов, например псевдомонадами, ацинетобактериями (сапронозы).

Таким образом, оппортунистические инфекции в большинстве случаев представляют собой антропонозы, редко - зооантропонозы, иногда - сапронозы.

Поскольку у условно-патогенных микроорганизмов отсутствует органотропизм, они способны поражать любые органы и ткани организма человека, то они могут передаваться различными механизмами и путями.

В связи с очень низкой патогенностью и вирулентностью условно-патогенных микроорганизмов восприимчивость к ним крайне низка у лиц с нормальным иммунным статусом и повышена у иммунокомпрометированных хозяев.

Патогенез оппортунистических инфекций

На развитие и течение оппортунистических инфекций влияет несколько факторов, зависящих от свойств микроба, состояния организма и условий их взаимодействия.

Все оппортунистические инфекции развиваются на фоне снижения иммунного статуса организма, что наблюдается у онкологических больных, больных хроническими инфекционными заболеваниями, у лиц, перенесших обширные оперативные вмешательства, у лиц преклонного возраста,

недоношенных младенцев, больных сердечно-сосудистыми заболеваниями с регионарными нарушениями кровообращения (ишемия и некрозы тканей), при ожирении и сахарном диабете, у больных, получающих иммунодепрессивную лекарственную терапию (кортикостероидные гормоны, цитостатики, ряд антибиотиков и другие препараты), и т.п.

Так как условно-патогенные микроорганизмы являются преобладающими представителями нормальной микрофлоры организма человека, то подавляющее большинство оппортунистических инфекций носит эндогенный характер.

При целом ряде патологических состояний, ведущих к снижению иммунореактивности организма, условно-патогенные микроорганизмы нормофлоры приобретают способность преодолевать тканевые барьеры, в норме для них непреодолимые, и транслоцироваться во внутреннюю стерильную среду организма.

Попадание условно-патогенных микроорганизмов во внутреннюю среду организма влечет колонизацию ими различных органов и систем организма, что клинически проявляется в виде гнойно-септического процесса различной локализации и степени тяжести.

Клиническая картина оппортунистических инфекций.

Для оппортунистических инфекций характерны *следующие особенности:*

- Возбудители не имеют строго выраженного органного тропизма: один и тот же вид может быть причиной развития различных нозологических форм (бронхитов, пневмоний, эмпием, синуситов, отитов, менингитов, остеомиелитов,

холециститов, пиелонефритов, конъюнктивитов, инфекции травматических, послеоперационных и ожоговых ран и др.).

- Полиэтиологичность нозологических форм, т.е. одна и та же нозологическая форма может быть обусловлена любым условно-патогенным микроорганизмом.
- Клиническая картина не зависит от вида возбудителя, а определяется характером пораженного органа. Например, пиелонефрит, вызванный псевдомонадами, кишечной палочкой, энтеробактером, энтерококком, клебсиеллами, стафилококками, неразличим по клинической картине, хотя антибактериальная терапия этих форм должна иметь особенности в зависимости от свойств возбудителя.
- Часто протекают как смешанные инфекции.

Хроническое течение.

У одних лиц болезнь с самого начала приобретает медленное, хроническое течение, у других острая фаза болезни переходит в хроническую.

Хронизации оппортунистических инфекций способствуют:

- предшествующая заболеванию недостаточность иммунитета;
- усугубление или вторичное развитие иммунодефицита в процессе болезни;
- пожилой или старческий возраст;
- слабая иммуногенность антигенов условно-патогенных микроорганизмов;
- недостаточное количество возбудителя, чтобы вызвать активный иммунный процесс, например, в случаях поверхностной локализации патологического процесса или небольшого по территории очага поражения;
- выраженная тенденция к генерализации, развитию септикопиемии;
- множественность механизмов, путей и факторов передачи;
- неправильная терапия.

Трудности лечения обусловлены широким распространением множественно-устойчивых к антимикробным химиотерапевтическим препаратам штаммов, гетерогенностью и изменчивостью популяций и биоценозов возбудителей, недостаточной активностью факторов естественной резистентности и сниженной способностью к развитию эффективного иммунного ответа на антигены возбудителей.

Широкое распространение в стационарах, частая связь с оказанием медицинской помощи, частые случаи эндогенной инфекции, множественность источников инфекции, частая массивная контаминация объектов внешней среды микробами, способность ряда микробов размножаться в объектах больничной среды, избирательностью поражения населения (группы риска - иммунодефицитные хозяева), низкая контагиозность больных и носителей, низкая восприимчивость здоровых людей.

Оппортунистические инфекции могут вызывать практически все условно-патогенные микроорганизмы.

Клинически они протекают в форме гнойно-воспалительных процессов различной локализации и степени тяжести.

Клинически поставить этиологический диагноз заболевания не представляется возможным, поэтому основное значение в постановке такого диагноза приобретают методы лабораторной микробиологической диагностики.

Микробиологическая диагностика оппортунистических инфекций.

В диагностике оппортунистических инфекций решающими являются микробиологические методы исследования:

- *установление возбудителя (возбудителей) болезни;*
- *определение иммунологического статуса больного;*
- *выяснение источника и факторов передачи возбудителей.*

В установлении этиологии заболевания основное значение имеет выделение чистой культуры возбудителя из патологического материала.

Однако выделение культуры условно-патогенного микроорганизма от больного еще не подтверждает его участия в развитии патологического процесса, поскольку большинство условно-патогенных микроорганизмов обитают у всех или большинства здоровых людей.

При диагностике оппортунистических инфекций в качестве обязательного предусмотрен количественный критерий, под которым понимают количество

колониеобразующих единиц (КОЕ) клеток выделяемого вида микроорганизма в 1 мл исследуемого материала.

Микробиологические методы имеют решающее значение и 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;
- * этапности 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 микробиологические исследования следует проводить через каждые 5-7 дней.

Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (10^5 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.

Реакция иммунофлюоресценции (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 удастся установить спектр и уровень активности антимикробных препаратов по отношению к возбудителю болезни и провести внутривидовое типирование.

Возможности серологического метода ограничиваются выраженной мозаичностью антигенной структуры многих условно-патогенных микроорганизмов, наличием к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены условно-патогенных микроорганизмов.

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 условно-патогенным микроорганизмам.

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

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

Выделение возбудителей оппортунистических инфекций

1-й день. Осуществляют забор и доставку материала в лабораторию. Материал в необходимых случаях обрабатывают с целью гомогенизации и концентрации. Готовят и окрашивают мазки по Граму.

В необходимых случаях дополнительно применяют специальные методы окраски.

Готовят разведения патологического материала от 10^{-1} до 10^{-6} в теплом 0,5% растворе хлорида натрия с 0,01% желатина (для предупреждения осмотического шока бактерий) и делают высев 0,1 мл материала из разведений на чашки Петри с питательной средой - газоном (на 3 чашки из каждого разведения).

В стандартный набор питательных сред желательно включить желточно-солевой агар (для стафилококков), среду Эндо или эозинметиловый агар (для энтеробактерий), кровяной агар (для стрептококков и ряда других требовательных к питательным средам видов), среду Сабуро (для грибов), среду для контроля стерильности или другие среды для анаэробов.

В случаях, когда имеются указания на вероятный возбудитель (клиническая симптоматика, вид патологического материала, результаты микроскопии), должны быть использованы более селективные среды.

2-й день. Определяют характер роста на питательных средах.

Подсчитывают количество колоний каждого типа на чашках с посевом разведений патологического материала для расчета обсемененности материала по формуле:

$$X \text{ КОЕ} = N * ПД * СР$$

где N – числоколоний, ПД - посевная доза, СР - степень разведения.

Микроскопируют мазки из выросших колоний. Отсевают на среду накопления колоний различных типов. Для повышения достоверности исследования желателно отсевать 2-3 колонии одного типа. Эта мера вызвана гетерогенностью популяции; она удорожает исследование, но зато резко повышает его достоверность. При наличии методов и возможностей проводят ускоренную идентификацию.

3-й день. Установление чистоты культуры. Идентификация чистых культур. Определение антибиотикограммы выделенных культур.

4 - 5-й день. Проводят учет результатов тестов, использованных для идентификации.

Оформление заключения (семейство, род, вид выделенных культур; обсемененность материала, КОЕ/мл или КОЕ/г; анти- биотикограмма; этиологическая значимость выделенных культур и состав их популяций).

По клиническим и эпидемиологическим показателям определяют факторы патогенности и эпидемиологические маркеры (фаго-, серо-, резистенс-, бактериоциновары и др.) у этиологически значимых культур.

Критерии этиологической роли выделенной культуры.

Для установления этиологической роли патогенных микробов достаточны выделение микроба из материала от больного, обнаружение в сыворотке крови специфических антител в диагностическом титре или сероконверсии в ходе

болезни в 4 раза и более, корреляция между выделенным микробом и клинической картиной болезни.

Критерии этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов более сложны.

Основное значение в установлении этиологии заболевания имеют два критерия.

- Выделение условно-патогенных микроорганизмов из крови и ликвора, что подтверждает этиологическую роль этого условно-патогенного микроорганизма.
- Численность популяции обнаруженного в пораженном органе (кроме крови и ликвора) условно-патогенного микроорганизма, так называемое критическое число, которое рассчитывают на 1 мл исследуемого материала (мочи, мокроты). За такое критическое число для бактерий принимают дозу 10^5 КОЕ/мл, для грибов и простейших - 10^3 - 10^4 КОЕ/мл.

В случае выделения из патологического материала нескольких видов или вариантов условно-патогенных микроорганизмов за ведущего возбудителя принимают количественно доминирующую популяцию.

Следует учитывать, что численность популяции возбудителя в процессе болезни меняется: при переходе в хроническую форму, в период выздоровления и ремиссии, в процессе химиотерапии, в присутствии конкурента она существенно снижается.

Лечение оппортунистических инфекций.

Лечение оппортунистических инфекций представляет собой сложную задачу и должно проводиться комплексно.

Комплексное лечение включает адекватное хирургическое вмешательство, рациональную антимикробную химиотерапию, иммунотерапию.

Поскольку при оппортунистической инфекции нередко образуются гнойные очаги, необходима их санация.

Учитывая широкое распространение среди условно-патогенных микроорганизмов множественной лекарственной устойчивости к антибиотикам, назначать эти препараты больным необходимо с учетом результатов определения

антибиотикограммы выделенных от больного условно-патогенные микроорганизмы.

Врач назначает антибиотикотерапию эмпирически. При этом следует отдать предпочтение препаратам широкого спектра действия.

При получении результатов антибиотикограммы проводимая больному химиотерапия должна быть скорректирована в соответствии с полученными результатами.

Комплексное лечение оппортунистических инфекций включает в себя и иммунотерапию, если против данного условно-патогенного микроорганизма, вызвавшего заболевание, разработаны соответствующие лечебные иммунобиологические препараты направленного действия.

Так как оппортунистические инфекции развиваются у лиц с пониженным иммунным статусом, при наличии соответствующих клинических показаний и при обязательном контроле параметров иммунного статуса таким больным показано проведение иммунокоррекции с применением иммуномодуляторов.

Профилактика оппортунистических инфекций.

Профилактика оппортунистических инфекций проводится в трех направлениях:

- выявление источника инфекции,
- разрыв механизмов, путей и факторов передачи инфекции,
- воздействие на восприимчивый коллектив.

Мероприятия первой группы предусматривают изоляцию и лечение больных, а также выявление и санацию носителей. Для этого в хирургических стационарах соблюдается принцип разобщения чистых и гнойных больных, которые не должны контактировать друг с другом.

В больничных учреждениях имеются чистые и гнойные хирургические отделения и операционные.

Если стационар располагает только одной операционной, то операционный день начинается с выполнения плановых чистых операций, а по их завершении начинают оперировать плановых гнойных больных. После окончания операции операционная тщательно дезинфицируется.

Так как распространение госпитальных штаммов часто связано с носителями, особенно из числа медперсонала больничных учреждений, необходимо выявлять и санировать этих носителей.

Для этого проводят ежедневный осмотр медперсонала (особенно хирургических и родильных отделений) перед началом работы с целью выявления и отстранения от работы лиц с гнойно - воспалительными процессами (гнойничковые поражения кожи рук, катаральные явления в носоглотке и т.п.), а также периодически проводят бактериологическое обследование медперсонала на носительство. Выявленных носителей отстраняют от работы и подвергают санации.

Мероприятия второй группы направлены на разрыв механизмов и путей передачи инфекции, предусматривают организацию и строгое соблюдение санитарно-гигиенического режима в больничных учреждениях, неукоснительное соблюдение медперсоналом правил асептики, антисептики, дезинфекции и стерилизации.

Мероприятия третьей группы направлены на повышение коллективной резистентности людей путем улучшения социально-бытовых условий, применение иммуномодуляторов, адаптогенов или других иммунобиологических препаратов. При наличии дисбиозов целесообразно назначать пробиотики.

Эубиоз и дисбиоз.

Естественная микрофлора тела является одним из первых барьеров, обеспечивающих неспецифическую резистентность и гомеостаз внутренней среды организма.

Эубиоз - нормальное состояние естественной микрофлоры организма.

Эубиоз (нормобиоз) характеризуется стабильным составом микробоценозов и полным объемом их физиологических функций. В норме, у здорового ребенка или взрослого естественная микрофлора тела достаточно устойчива к действию повреждающих факторов.

Микробиологические нормативы, на которые ориентируются при определении состояния эубиоза, колеблются в широких пределах. Наиболее часты

межпопуляционные различия, которые зависят от климатогеографических условий обитания и традиций питания. То, что можно считать вариантом нормы микробиологического статуса для коренного жителя Крайнего Севера, будет неприемлемо для аборигенов Кавказа или тропиков Африки.

Важно учитывать особенности эубиоза у новорожденных или детей раннего возраста, взрослых и стариков. Таким образом, состояние эубиоза (нормобиоза) есть проявление гармоничного симбиоза макроорганизма и его естественной микрофлоры, отражающее подвижное равновесие между ними.

Дисбиоз (дисбактериоз) характеризуется отклонениями в составе микробиоценоза, существенно выходящими за пределы физиологической нормы.

В итоге нарушается защитная и иные полезные функции нормальной микрофлоры, возникает угроза развития местных и общих патологических процессов.

В Украине практические специалисты - врачи, бактериологи - чаще используют термин «дисбактериоз» вместо дисбиоза.

Термин «дисбиоз» является более широким, чем «дисбактериоз», так как последний не включает в себя такие важные, что еще мало изученные компоненты естественных микробиоценозов, как вирусы и простейшие.

Практическая диагностика в основном базируется на исследовании около десятка бактериальных популяций и одной-двух разновидностей грибков. Поэтому термин «дисбактериоз» вполне объективно отражает сегодня суть дела и имеет полное право на существование.

Какие факторы повреждают нормальную микрофлору у здорового человека?

Возникновение дисбиоза.

Аутомикрофлора здорового человека относительно стабильна. Однако устойчивость микробиоценозов прежде всего зависит от состояния биотопа, являющегося частью организма, с которым микрофлора интегрирована.

Аутомикрофлора новорожденного, грудного ребенка, старика, больного особенно чувствительна к действию повреждающих агентов.

В раннем возрасте формированию здоровой естественной микрофлоры препятствуют патология в родах, патология центральной нервной системы в послеродовом периоде, респираторная инфекция при искусственном вскармливании, пищевая аллергия, позднее прикладывание к груди, ранний перевод на искусственное вскармливание.

Наиболее значимые факторы, повреждающие нормальную микрофлору здорового человека (нарушение эубиоза):

- * применение антибиотиков, гормонов, иммунодепрессантов, лучевой терапии;
- * хирургические операции, особенно на органах желудочно-кишечного тракта;
- * длительное воздействие неблагоприятных экологических факторов в быту и на производстве;
- * острые кишечные инфекции, различные хронические заболевания желудка, кишечника и печени;
- * нервно-психический стресс;
- * голодание, нерациональное питание, авитаминоз.

Антибактериальные препараты воздействуют на состояние нормофлоры организма непосредственно (первичный дисбиоз).

Остальные факторы, поражая макроорганизм, тем самым ухудшают условия для развития естественной микрофлоры в биотопах (вторичный дисбиоз).

При этом возникает дефицит защитной микрофлоры - бифидобактерий, бактероидов, лактобактерий, полноценных эшерихий, энтерококков и других микроорганизмов.

В результате снижения колонизационной резистентности биотопа создаются благоприятные условия для приживания экзогенной патогенной микрофлоры. Происходит также избыточное размножение «оппортунистической» фракции микробоценоза с условно-патогенными потенциями. Ее мирное сосуществование с организмом хозяина прекращается как только возникают подходящие условия для размножения и колонизации.

При глубоком дисбиозе оппортунистические микробы-симбионты из мест своего обычного обитания распространяются в несвойственные им биотопы, в

стерильные органы и ткани, вызывая нагноение и иные патологические процессы (феномен транслокации микрофлоры).

Лабораторная диагностика, коррекция и профилактика дисбиоза.

Лабораторная диагностика дисбиоза базируется на определении в клиническом образце качественного и количественного состава микробов в микробоценозе конкретного биотопа. Бактерии и грибы обычно идентифицируют только до рода (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Candida* и др.).

Кроме того, определяют концентрацию условно-патогенных микроорганизмов, которых идентифицируют до вида.

Обнаружение даже единичных особей патогенных агентов (возбудителей дизентерии, патогенных эшерихий, сальмонелл) четко свидетельствует о крайнем неблагополучии в биотопе. Анализ на дисбактериоз длителен, требует больших трудозатрат и материалов. В соответствии с различными рекомендациями выделяют несколько степеней дисбактериоза (от 3 до 5), которые определяют по совокупности микробиологических и клинических данных.

Дисбактериоз - это клинико-микробиологический синдром, который характеризует патологически измененное состояние микробоценоза конкретного биотопа - толстого кишечника, влагалища, ротовой полости, кожи и т.д.

Микробиологическая часть заключения базируется на сравнении полученных результатов с рекомендуемыми нормативами.

Различают *компенсированный* и *декомпенсированный дисбактериоз*.

Клинические проявления при компенсированном варианте могут быть слабо выражены (1-2 степени *дисбиоза*), иногда возможно самостоятельное выздоровление без специального лечения.

Однако велик риск усугубление микробного дисбаланса с переходом в декомпенсированную форму (3-4 степени), когда самостоятельное излечение мало вероятно.

Декомпенсация микробоценоза проявляется глубоким дефицитом бифидобактерий и другой защитной микрофлоры (лактобактерий, типичных эшерихий), нарастающей экспансией и агрессией условно-патогенной аэробной

флоры. Возможно появление в биотопе ассоциации из нескольких представителей таких микробов.

Выраженность клинических симптомов нарастает, есть вероятность выхода условно-патогенных микроорганизмов за пределы своей экологической ниши с диссеминацией по всему организму.

Оптимальная тактика при этом состоянии - подключение к базовой терапии препаратов-эубиотиков для нормализации микробиоценоза в биотопе.

В комплексном лечении дисбиоза важное место отводится эубиотическим (пробиотическим) препаратам. Эти фармакологические препараты содержат концентрат живых лиофильно высушенных микробов с их метаболитами. Обладая высокой адгезивностью и антагонистической активностью, эубиотические бактерии колонизируют биотоп - кишечный тракт, влагалище, ротовую полость, постепенно вытесняя патогенные и условно-патогенные микроорганизмы.

Через некоторое время происходит восстановление естественной аутомикрофлоры биотопа и возвращение к состоянию эубиоза.

ЭТИОЛОГИЯ БАКТЕРИЕМИИ И СЕПСИСА

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 развиваться 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, послеродовой, 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 экovarы, 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 ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ 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.

Раневая и ожоговая инфекция.

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 экovarам, 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 большой 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 экотипами. 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 вар.антного состава возбудителей.

Ожоговая инфекция нередко осложняется сепсисом с высокой летальностью.

ЭТИОЛОГИЯ ГНОЙНЫХ ВОСПАЛЕНИЙ РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНОВ И ТКАНЕЙ

Острые гнойные отиты 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, протей.

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, протей, 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 ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ 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 ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ 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 протей.

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 ОПОРТУНИСТИЧЕСКИХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Оппортунистические острые кишечные инфекции (заболевания — ОКЗ) вызывают кишечные палочки, цитробактеры, клебсиеллы, энтеробактеры, серрации, протей, 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 — интоксикации (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, гастроэнтерита.

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.

ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫЕ (ЯТРОГЕННЫЕ) ИНФЕКЦИИ

В больничные стационары мира ежегодно поступают миллионы больных. Главной задачей коллективов этих учреждений является быстрое восстановление здоровья госпитализированных больных и создание безопасных условий их пребывания в этих стационарах в плане возможного заражения внутрибольничной инфекцией.

Случаи развития заболеваний или пограничных с ними состояний в результате оказания медицинской помощи были известны врачам давно.

Недаром одна из древнейших врачебных заповедей гласит: Primum поп посеге (прежде всего не навреди).

Внутрибольничная (госпитальная, нозокомиальная) инфекция (ВБИ) - это инфекция, заражение которой происходит в больничных учреждениях; наслаиваясь на основное заболевание, она утяжеляет клиническое течение болезни, затрудняет диагностику и лечение.

Возбудителями ВБИ могут быть патогенные микробы, например при госпитализации инфекционного больного в соматические отделения, неправильной или несовершенной изоляции больных в инфекционных отделениях, заносе возбудителей в больницы посетителями во время эпидемий.

Однако в настоящее время ВБИ в основном встречаются в соматических больницах, т.е. в неинфекционных клиниках и вызываются условно-патогенными микробами (УПМ).

Биологические особенности УПМ, широкое и часто нерациональное применение антибиотиков, расширение спектра и утяжеление оперативных вмешательств, широкое внедрение в практику здравоохранения диагностических и лечебных процедур, ведущих к нарушению целостности покровов, и ряд других факторов привели к возникновению в больничных стационарах ряда сложных проблем практического и научного порядка, таких, как циркуляция множественно-устойчивых и больничных вариантов бактерий, нарастание внутрибольничных, хронических, смешанных, вторичных инфекций и сепсиса и др.

Решение микробиологических аспектов ВБИ и является одной из задач клинической микробиологии.

В последующем болезни, связанные с медицинским вмешательством, медицинской помощью, которая оказывается больным в стационарах, амбулаторно-поликлинических учреждениях и домашних условиях получили название *ятрогений* (греч. *ятрос* — врач, *генус* — происхождение).

Под ятрогенными (синонимы: внутрибольничные, госпитальные, назокомиальные) инфекциями в настоящее время понимают инфекционные заболевания госпитализированных больных во время пребывания их в стационарах или у медицинских работников во время работы в них. Встречаются они во всех странах мира и это является серьезной проблемой для лечебно-профилактических учреждений охраны здоровья.

Внутрибольничные инфекции, как правило, присоединяются к основным заболеваниям или впервые возникают у новорожденных детей.

Различают такие основные группы нозологических форм внутрибольничной инфекции:

- *генерализованные формы* (бактериемии, сепсис, септицемии);
- *раневые послеоперационные инфекции и постинъекционные осложнения, гнойно-воспалительные осложнения ран и ожогов;*
- *острые кишечные, респираторные, урогенитальные, посттрансфузионные инфекции;*
- *заболевания, обусловленные долговременным лечением антибиотиками, гормонами.*

Ятрогенные инфекции следует отличать от тех, при которых заражение человека происходит во внебольничных условиях, а болезнь проявляется через некоторое время после поступления больного в стационар по поводу другого заболевания.

Ятрогенные инфекции возникли в те далекие времена, когда были проведены первые хирургические операции. В XVII, XVIII и первой половине XIX в. послеродовая септическая лихорадка развивалась у 50-60% пациентов, давая почти 100% летальность.

Установление микробной природы раневых и послеродовых осложнений (Л. Пастер) и разработка методов антисептики (Н. Пирогов, Д. Листер), а затем асептики и других противоэпидемических мероприятий привели к резкому сокращению числа ятрогенных инфекций.

В конце XIX и первой половине XX в. ятрогенные инфекции регистрировались только у 3-5% госпитализированных больных.

Новый период нарастания числа ятрогенных инфекций наступил в начале 50-х годов XX в. и продолжается по настоящее время. Для него характерно резкое увеличение частоты и тяжести этих инфекций, распространение их в медицинских учреждениях всех профилей, расширение видового состава возбудителей и нозологических форм заболеваний.

Причины сложившейся ситуации разнообразны, к ним относят следующие:

1. Неоправданно широкое, часто нерациональное применение антибиотиков, которое привело к распространению множественно устойчивых к химиотерапевтическим препаратам форм бактерий.

Происходит формирование и селекция «госпитальных штаммов» микроорганизмов, обладающих высокой вирулентностью и множественной лекарственной устойчивостью.

2. Увеличение среди населения групп повышенного риска, связанного с широким внедрением в медицинскую практику методов диагностики с нарушением целостности кожных и слизистых покровов, расширением спектра и тяжести оперативных вмешательств, частым использованием лекарственных средств, подавляющих иммунную систему, увеличением в популяции людей лиц пожилого и старческого возраста и учащением количества инфекционных и неинфекционных заболеваний.

3. Расширение циркуляции микроорганизмов в больничных учреждениях, отсутствует контроль за их циркуляцией. Увеличение числа контактов с медицинскими работниками и объектами больничной среды, контаминированными микроорганизмами. Кстати, значительная частота носительства патогенной микрофлоры / напр., золотистого стафилококка/ достигает 40%.

4. Нарушение правил асептики и антисептики, отклонение от санитарно-гигиенических норм для стационаров.

Этиология ятрогенных инфекций характеризуется как общими для всех инфекций, так и специфическими признаками.

К ним относятся непрерывное изменение состава возбудителей и их удельного веса в развитии инфекций. Эти изменения приводят к формированию и широкому распространению в больничных стационарах особых штаммов и эковаров возбудителей, названных *больничными*, или *госпитальными*.

Они отличаются от внебольничных множественной резистентностью к антибиотикам, сниженной чувствительностью к антисептикам и дезинфектантам, высоким полиморфизмом популяций, относительно высокой устойчивостью к конкурентному действию аутохтонной (постоянной) микрофлоры, широким и переменным набором факторов вирулентности, выраженной способностью к колонизации кожи и слизистых оболочек и инвазивностью.

Больничные эковары бактерий формируются из внебольничных под влиянием факторов больничной среды.

В отличие от внебольничных они хорошо адаптированы к обитанию и обеззараживающим мероприятиям проводимых в больничной среде (отсюда термин *экологические варианты — эковары*). Наряду с этим они более устойчивы к неспецифическим факторам защиты, чем внебольничные штаммы.

Наряду с больничными эковарами *возбудителями ятрогенных инфекций* являются облигатно-патогенные бактерии, анаэробные бактерии и вирусы, вызывающие гепатит В, ВИЧ-инфекцию, грипп, острые респираторные и кишечные вирусные инфекции, аденовирусный конъюнктивит, локальные и генерализованные формы герпетической инфекции, а также хламидиальные и микоплазменные инфекции, дерматомикозы и многие другие.

Однако возбудителями большей части ятрогенных инфекций являются условно-патогенные бактерии. Это больничные и внебольничные эковары.

Это большая и разнородная в систематическом отношении группа, вызывающая у человека болезни при определенных условиях.

Основное значение среди них имеют представители следующих родов:

Staphylococcus (*S. aureus* – до 60% всех случаев ВБИ), *Streptococcus* (*Str. Pyogenes*, *Str. Pneumonia*), *Peptostreptococcus*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Haemophilus*, *Acinetobacter*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Mycoplasma*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Pneumocysta*.

В экологическом отношении условно-патогенные микроорганизмы неоднородны. Среди них имеется группа свободноживущих видов, средой обитания которых являются пищевые продукты, почва, вода, органические отходы деятельности людей, лекарственные препараты.

Большинство этих видов способны обитать в разных биотопах организма человека и при определенных условиях вызывать заболевания (сапронозы). Однако для продолжения вида живая среда для них не обязательна.

В больничных стационарах из данной группы микробов встречаются *легионеллы*, *сарцины*, *протеи*, *клебсиеллы пневмонии*. Некоторые виды паразитов животных, например, сальмонеллы, носительства условно-патогенных грибов в полостях и на слизистых оболочках в микотические поражения препятствуют механизмы антифунгальной защиты организма.

Заражение людей больничными экovarами происходит в основном экзогенно в результате медицинских вмешательств и проникновения возбудителя контактным или аэрозольным путем в операционные и перевязочные помещения. Теми же путями они заносятся в ожоговые и травматические раны, открытые гнойно-воспалительные очаги, ткани, полости и тракты с нарушенной целостностью слизистой оболочки.

Заражение людей больничными штаммами также происходит через дефекты кожи и слизистых оболочек путем аутоинфицирования из мест носительства (нос, носоглотка, промежность, руки, волосы).

Больничные экovarы условно-патогенных бактерий являются представителями ауто- и аллохтонной микрофлоры самого организма, а в случае сапронозов значительно реже являются обитателями окружающей среды. Возможность их размножения на объектах внешней среды затруднена, а сроки переживания в ней ограничены.

В случае скрупулезного выполнения антимикробных мероприятий обсемененность объектов больничной среды может быть сведена до безопасных количеств.

Ятрогенные инфекции, вызванные внебольничными экovarями, в основном относятся к эндогенным.

Они возникают при заносе большого количества представителей нормальной микрофлоры во внутреннюю среду организма через поврежденную кожу и слизистые оболочки, особенно на фоне снижения напряженности естественного иммунитета и подавления способности формирования эффективного иммунного ответа на антигены возбудителя.

В развитии ятрогенных инфекций, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, решающая роль принадлежит медицинским вмешательствам.

Нозологическая форма и состав возбудителей зависят от типа и локализации вмешательства. К ним относятся:

1) операции, связанные с инфицированием кожных ран, слизистых оболочек, а также с инфекционными осложнениями на оперированном органе;

2) инъекции лечебных и профилактических препаратов, в результате которых возникают инфильтрат, абсцесс, флегмона;

3) переливание крови и ее заменителей, парентеральное питание, катетеризация сосудов, гемодиализ, гемадсорбция, которые могут привести к тромбозу сосудов, абсцессу мягких тканей;

4) катетеризация мочевого пузыря, бужирование уретры, цистоскопия, которые могут привести к уретриту, циститу, пиелонефриту;

5) аппаратное искусственное дыхание, трахеостомия, интубация, бронхоскопия, промывание бронхов, отсасывание слизи, аэрозольное введение растворов антисептиков и антибиотиков, в результате которых могут возникнуть бронхит, пневмония, ларингит, гангрена легкого, плеврит и даже сепсис;

6) стоматологические манипуляции, которые могут привести к развитию стоматита, абсцесса и флегмоны мягких тканей, остеомиелиту челюсти, синуситу, абсцессу мозга;

7) аборты, эндоскопические и мануальные исследования в области половой сферы, могут явиться причиной возникновения эндометрита, сальпингоофорита, нагноения промежности.

Частота внутрибольничных инфекций, состав возбудителей, формы ВБИ, локализация, факторы риска ВБИ в значительной мере зависят от типа больничного отделения, но во всех случаях присоединение ВБИ к основному заболеванию ухудшает исходы болезни, в т.ч. повышает летальность и частоту

перехода болезни в хроническую форму, увеличивает длительность пребывания человека в стационаре, расходы на уход и лечение, трудовые потери.

Иммунитет. При нормальном функционировании факторов неспецифической защиты организма ятрогенные инфекции развиваются редко даже в случае проникновения возбудителей во внутреннюю среду организма через поврежденные покровы.

Снижение местной защиты и общей неспецифической резистентности резко повышает риск развития инфекционного заболевания.

Способность иммунной системы к развитию иммунного ответа на антигены условно-патогенных бактерий — возбудителей ятрогенных инфекций у здоровых людей развита в меньшей степени, чем на антигены облигатно-патогенных микроорганизмов.

Тем не менее при нормальном статусе иммунной системы ятрогенные инфекции развиваются редко. Для их возникновения необходимы высокая доза возбудителя и развитие иммунодефицита в течение ятрогенной инфекции, которое может привести к генерализации процесса, переходу его в хроническую форму.

В случае возникновения инфекционного заболевания (осложнения) во время пребывания больного в стационаре или после посещения поликлиники, а также вслед за медицинскими вмешательствами необходимо установить ятрогенную природу заболевания.

Инфекцию считают ятрогенной, если заболевание возникло после посещения поликлиники, где больной подвергался медицинским вмешательствам через промежуток времени не менее минимального инкубационного периода болезни. Для оппортунистических инфекций этот срок равен 2-4 дням, для инфекций, вызванных облигатно-патогенными микроорганизмами, он различен и определяется характером инфекционного заболевания.

Более надежные данные о ятрогенности возникшего заболевания дает **микробиологическое исследование**.

Принципы его такие же, как при установлении возбудителя любого инфекционного заболевания.

Однако в данном случае исследованию подвергается не только больной, но и медицинские работники и другие предполагаемые источники инфекции, включая объекты окружающей среды, которые могли послужить факторами передачи возбудителя.

Выделение от больного больничного эковара, даже без установления источника и путей передачи возбудителя, является достаточным основанием для отнесения данного инфекционного заболевания к ятрогенным.

Микробиологический контроль за внутрибольничными инфекциями является обязательной частью надзора за лечебно-профилактическими учреждениями, в первую очередь за больничными стационарами. Он включает исследование больных и медицинского персонала на бактерионосительство, объектов окружающей среды и лекарственных препаратов с целью установления их микробной контаминации, прежде всего больничными эковарами.

Заболевания инфекционной природы.

В инфекционных стационарах соблюдение санитарно-противоэпидемического режима предусматривает распределение больных в боксах, текущую и заключительную дезинфекцию, микробиологический контроль.

Этиология внутрибольничных инфекций: основные возбудители ВБИ — условно-патогенные микробы.

Причины:

- 1) объективные, не зависящие от медицинского персонала;
- 2) субъективные.

1. Объективные:

- а) больницы, отделения, не соответствующие требованиям;
- б) отсутствие эффективных методов лечения стафилококкового носительства и условий для госпитализации;
- в) недостаточное число бактериологических лабораторий;
- г) неоправданно широкое применение антибиотиков;
- д) множество антибиотикоустойчивых микробов;
- е) увеличение лиц со сниженным иммунитетом.

2. Субъективные:

- а) недостаточная профилактически направленная деятельность мед. персонала;
- б) отсутствие единого эпидемиологического подхода к изучению ВБИ;

- в) отсутствие должного контроля со стороны работников центров госсанэпиднадзоров;
- г) отсутствие надежной стерилизации некоторых видов аппаратуры;
- д) увеличение числа контактов между больными;
- е) отсутствие полного учета ВБИ;
- ж) низкое качество стерилизации мед. инструментария и дезинфекции;
- з) несовершенная система посещений родственниками.

Эпидемиология внутрибольничных инфекций.

I. Источники инфекции:

- 1) медицинский персонал, посетители, страдающие инфекционными заболеваниями (грипп, диарея, гнойничковые);
- 2) больные со стертыми формами;
- 3) больные с чистыми ранами, являющиеся носителями вирулентных стафилококковых штаммов;
- 4) грудные дети с пневмонией, отитом, гриппом, выделяющие патогенные штаммы кишечной палочки.

II. Механизмы передачи инфекции: аэрогенный (респираторный, воздушно-капельный), фекально-оральный, контактный, парентеральный (гепатит В, С, дельта, ВИЧ).

Предрасполагающие факторы:

- 1) ослабление больного;
- 2) длительность пребывания в стационаре (70% ВБИ у больных, лежащих более 20 дней);
- 3) чрезмерное применение АБ, они изменяют биоценоз кишечника, снижают иммунологическую резистентность;
- 4) госпитализация большого количества людей преклонного возраста, хронических больных, которые являются источником внутрибольничных инфекций;

- 5) пребывание в стационаре маленьких детей, особенно до 1 года;
- 6) большая скученность больных в стационаре.

Для предотвращения распространения внутрибольничных инфекций необходимо:

- проводить плановое комплексное эпидемиологическое и бактериологическое обследование стационаров в порядке текущего контроля 4-5 раз в год;
- проводить микробиологическое обследование персонала, больных, инструментарий, медикаменты, пищу. Исследования проводить периодически и в конкретных случаях при подозрении на опасность развития внутрибольничной инфекции эпидемиологического и неэпидемиологического характера;
- система боксов, специальная вентиляция и другие современные меры имеют значение лишь тогда, когда персонал строго соблюдает все требования санитарного режима в стационаре. Чтобы избежать многих инфекций, необходимо применять как можно больше материалов только одноразового пользования.

Лабораторная диагностика заболеваний, вызванных возбудителями внутрибольничных инфекций.

В случае возникновения инфекционного заболевания (осложнения) во время пребывания больного в стационаре или после посещения поликлиники, а также вслед за медицинскими вмешательствами необходимо установить ятрогенную (внутрибольничную) природу заболевания.

Инфекцию считают ятрогенной, если заболевание возникло после посещения поликлиники, где больной подвергся медицинским вмешательствам через промежуток времени не менее минимального инкубационного периода болезни.

Для оппортунистических инфекций этот срок равен 2 - 4 дням, для инфекций, вызванных облигатно-патогенными микробами, он различен и определяется характером инфекционного заболевания.

Более надежные данные о ятрогенности возникшего заболевания дает микробиологическое исследование.

Принципы его такие же, как при установлении возбудителя любого инфекционного заболевания. Однако в данном случае исследованию подвергается не только больной, но и медицинские работники и другие предполагаемые источники инфекции, включая объекты окружающей среды, которые могли послужить факторами передачи возбудителя.

Выделение от больного больничного экологического варианта, даже без установления источника и путей передачи возбудителя, является достаточным основанием для отнесения данного инфекционного заболевания к ятрогенным.

Микробиологический контроль за внутрибольничными инфекциями является обязательной частью надзора за лечебно-профилактическими учреждениями, в первую очередь за больничными стационарами.

Он включает исследование больных и медицинского персонала на бактерионосительство, объектов окружающей среды и лекарственных препаратов с целью установления их микробной контаминации (загрязнения), прежде всего больничными экovarями.

Основные мероприятия в профилактике внутрибольничных инфекций

Эффективная профилактика внутрибольничных инфекций должна учитывать решение многокомпонентной задачи, которая включает следующее:

- 1) планирование и расположение основных функциональных блоков в лечебно-профилактических учреждениях;
- 2) исключение аэрогенной инфекции;
- 3) соблюдение правил личной гигиены;
- 4) дезинфекция и стерилизация;
- 5) организация уборки отделений;
- 6) тактика ограничения антибиотиков;
- 7) бактериологический контроль комплекса санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях.

Планирование и расположение основных функциональных блоков.

Профилактика внутрибольничных инфекций в стационарах хирургического профиля и акушерских стационарах начинается с планирования и расположения основных функциональных блоков (зон) отделения.

Основные условия профилактики госпитальных инфекций: разделение палат и операционного блока, родильного отделения с родильным залом, палатами для новорожденных и грудных младенцев.