**Лекция 10**

**Основы клинической микробиологии. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. Инфекции дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, мочеполовых путей, центральной нервной системы, раневые и септические инфекции.**

**Понятие о клинической микробиологии**

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

Задачи клинической микробиологии близки к тем задачам, которые стоят перед медицинс­кой Микробиологией. Их специфика определя­ется лишь тем, что клиническая микробиоло­гия исследует одну группу микробов – УПМ, одну группу заболеваний – оппортунистичес­кие инфекции и одну антропогенную экосис­тему - больничные учреждения.

Исходя из этого, задачами клинической микробиологии являются:

* изучение биологии и роли УПМ в этио­логии и патогенезе ГВЗ человека.
* разработка и использование методов микробиологической диагностики, специфи­ческой терапии и профилактики микробных заболеваний, встречающихся н неинфекци­онных стационарах.
* исследование микробиологических ас­пектов проблем ВБИ, дисбактериоза, лекарс­твенной устойчивости микробов.
* микробиологическое обоснование и контроль за антимикробными мероприятия­ми в больничных стационарах.

**Этиология ВБИ**

ВБИ вызываются УПМ. УПМ – это боль­шая и разнородная в систематическом отно­шении труппа микробов, которые вызывают у человека болезни при определенных усло­виях. Их представители встречаются среди бактерий, грибов, простейших. По многим признакам близки к УПМ некоторые виды вирусов (альфа-герпесвирусы 1 и 2, бета-герпесвирус, паповавирусы, отдельные варианты аденовирусов, вирусов Коксаки и ECHO).

УПМ 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 (син. «потенциально-патогенные»), 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 и УПМ весьма относи­тельна. Поскольку УПМ в литературе часто называют «микробами-оппортунистами» (от английского выражении «to take opportunity»), вызываемые ими заболевания получили назва­ние «оппортунистических инфекций».

ВБИ могут вызываться более чем сотней видов УПМ. Чаше всего в их этиологии иг­рают роль представители следующих родов: *Staphylococcus. Streptococcus. Peptostreptococcus, Escherichia, Enterohacter, Klebsiella, Citrobacter, Serratia, Proteus, Hafnia, Providencia, Pseudomonas, Haemophilus, Branhamella, Acinetobacter, Moraxella, Alcaligenes, Flavobacterium, Vibrio, Propionibacterium, Bacteroides, Fusobacterium, Bacillus, Mycobacterium, Eikenella, Mycoplasma, Aclinomyces, Candida, Cryptococcus, Pneutmcysti*s.

В экологическом отношении УПМ 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 им 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 УПМ.

Основная часть УПМ относится к постоян­ным, «нормальным» обитателям многих орга­нов (биотопов) организма человека и находятся с ним обычно 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, и более того, иногда ведет к потере хозяйка.

**Факторы патогенности.** В отличие от большинства патогенных микробов, которые име­ют четко обозначенные «входные ворота» для проникновения во внутреннюю среду орга­низма, УПМ способны вызывать инфекцию при попадании любым путем в любые органы и ткани, что является одной из причин многоорганности оппортунистических инфекций. Для развития инфекции необходим пассив­ный занос УПМ во внутреннюю среду орга­низма и дефицит элиминирующих механиз­мов иммунной системы.

Повреждение клеток и тканей организма хо­зяина УПМ вызывают с помощью эндотоксина и ферментов агрессии. Эндотоксин грамотрицательных бактерий является универсальным фактором патогенности УПМ. 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. Ряд УПМ, помимо эндотоксина, со­держит и выделяет во внешнюю среду пока плохо идентифицированные вещества, оказывающие цитотоксическое и цитолитичеекое действие.

УПМ выделяют большое количество фер­ментов агрессии (гиалуронидаза, эластаза, коагулаза, фибринолизин, нейраминидаза, лецитиназа, нуклеазы, дезаминазы, декарбоксилазы и др.), оказывающие деполимеризуюшее или конформационное действие на свободные или входящие в состав клеток и волокон молекулы. 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.).

УПМ 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 УПМ он в значительной степени вари­абелен и малоспецифичен.

**Популяции.** У УПМ гетерогенность популя­ций выражена в большей степени, чем у пато­генных микробов. Гетерогенность популяций УПМ 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 УПМ, которая создает большие сложности в идентификации выделенных культур.

**Микробиоценозы УПМ.** Микробиоценозы здоровых (нормальных) биотопов людей, нахо­дящихся в больничных стационарах, отличают­ся от таковых людей вне стационара колониза­цией госпитальными эковарами УПМ. Частота колонизации выше у категории 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 к увеличенной частоте внутри межпопуляционного генетического обмена, которые ведут к появлению в биотопе нетипичных для него видов, особенно их госпитальных эконаров, исчезновению или резкому снижению числен­ности аутохтонных видов.

**Эпидемиология ВБИ**

Эпидемиология ВБИ сложна и недостаточ­но изучена.

Источником инфекции чаще всего явля­ется человек – больной, особенно со стер­той формой заболевания, или же носитель. Наибольшую опасность в эпидемиологичес­ком плане представляет медперсонал боль­ничных учреждений, который может быть носителем госпитальных штаммов УПМ, например стафилококков. В соответствии с Международной классификацией различают постоянных носителей, у которых при посеве из полости носа всегда обнаруживается стафи­лококк (возможно и различных фаготипов), и перемежающихся носителей – стафилококк (чаще тог же штамм) у них выделяется время от времени. В литературе описано носительство коагулазонегативных стафилококков на слизистой влагалища у медперсонала отделе­ний реанимации, трансплантологии и других и связанные с этим вспышки госпитальной стафилококковой инфекции. Источником ин­фекции могут служить и животные, например больные маститом коровы при стафилокок­ковых токсикоинфекциях и энтероколитах. Иногда источником инфекции служат объ­екты окружающей больничной среды, обиль­но обсемененные свободноживущими видами УПМ, например псевдомонадами, ацинетобактериями (сапронозы). Таким образом, оп­портунистические инфекции в большинстве случаев представляют собой антропонозы, редко антропозоонозы, иногда сапронозы.

Поскольку у УПМ отсутствует органный тро­пизм и 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 УПМ, восприимчивость к ним крайне низка улице нормальным иммунным статусом и повышена у иммунокомпромиссных хозяев.

**Патогенез ВБИ**

На разлитие и течение ВБИ влияет несколько факторов, зависящих от свойств микроба, состояния организма и условий их взаимодействия (величина инфицирующей дозы, наличие у микроба определен­ного набора факторов патогенности, гетерогенность и изменчивость популяций и микробиоценозов), способа проникновения микроба во внутреннюю среду организма, нарушения целостности покровов, снижения резистентности организма, недостаточная способность к развитию приобретенного противоинфекиионного иммунитета: наличия факторов эффек­тивной передачи возбудителя от инфицированного человека неинфицированному и т. д.

Все оппортунистические инфекции развиваются на фоне снижения показателей иммунного стату­са организма, что наблюдается у онкологических больных, больных хроническими инфекционными заболеваниями, улиц, 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 многие другие препараты) и т.п.

Так как УПМ 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. УПМ нормофлоры приобретают способность преодолевать тканевые ба­рьеры, в норме для них непреодолимые, и транслоцироваться во внутреннюю стерильную среда организма. Попадание условно-патогенных микробов во внут­реннюю среду организма влечет за собой колониза­цию ими различных органов и систем организма, что клинически проявляется в виде гнойно-септического процесса различной локализации и степени тяжести.

**Клиника ВБИ**

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 УПМ.

Клиническая картина в большей мере за­висит от пораженного органа, чем от возбуди­теля заболевания. Например, пиелонефриты, вызванные 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 микстинфекции, т. е. вызываются несколькими ви­дами УПМ.

Хроническое течение. У одних лиц бо­лезнь с самого начала приобретает медленное, торпидное, хроническое течение, у других – острая фаза болезни переходит в хроническую. Хронизации оппортунистических инфекций способствуют предшествующая заболеванию недостаточность иммунной системы, усугубле­ние или вторичное развитое иммунодефицита в процессе болезни, пожилой или старческий возраст пациента; слабая иммуногенность ан­тигенов УПМ, недостаточное количество воз­будителя, чтобы вызвать активный иммунный процесс, например, в случаях поверхностной локализации патологического процесса или небольшого по территории очага поражения; неправильная терапия и неадекватное состоя­нию поведение больного.

Выраженная тенденция к генерализации, к осложнению септикопиемией.

С трудом поддаются терапевтическим ме­роприятиям, что обусловлено 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.

Отличаются от инфекций, вызванных патогенными микробами, широким распро­странением в больничных стационарах, частой связью с оказанием медицинской помощи, частыми случаями эндогенной инфекции, мно­жественностью источников инфекции, частой массивной контаминацией объектов внешней среды возбудителями, способностью ряда воз­будителей размножаться в объектах внешней, в том числе больничной, среды, избиратель­ностью поражения населения (группы риска - иммунокомпромиссные хозяева), низкой контагиозностью больных и носителей, низ­кой восприимчивостью здоровых людей.

Множественность механизмов, путей и факторов передачи, так как УПМ не имеют органного тропизма и способны поражать любые органы и ткани организма человека.

Таким образом, оппортунистические ин­фекции могут вызываться практически всеми УПМ и клинически протекают в форме гной­но-воспалительных процессов различной ло­кализации и степени тяжести. Поскольку ус­тановить клинически этиологический диагноз заболевания не представляется возможным, то основное значение в постановке такого диагноза приобретают методы лабораторной микробиологической диагностики.

**Микробиологическая диагностика ВБИ**

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

Микробиологические исследования при за­болеваниях, вызванных УПМ, 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 культуральный метод, заключаю­щийся в посеве на искусственные питатель­ные среды материала от больного для вы­деления и идентификации чистых культур возбудителей.

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 чувствительности культур к антибиотикам и другим антимикробным химиотерапевтичес­ким препаратам, а также свойств культур, не­обходимых для эпидемиологического анализа (эпидемиологических меток) – фаговара, серовара, резистенсвара и др.

С целью определения смены возбудителей и изменения их свойств исследования материала следует проводить через каждые 5–7 дней.

Микроскопический метод позволяет выявлять в мазках патологического материала бактерии только в случае их массивного содержания (105 и более КОЕ/мл) и из-за близости морфологии бактерий дает возможность 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. В ред­ких случаях микроскопически удается опре­делить род или даже вид возбудителя, если он имеет характерную морфологию (клостридии, фузобактерий). В идентификации грибов и простейших возможности микроскопического метода несколько шире. Введение в практику иммунофлюоресцентного метода 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 помощью его не удается ус­тановить спектр и уровень активности анти­микробных препаратов по отношению к воз­будителю болезни и провести внутривидовое типирование. Возможности серологического метода ограничивает выраженная мозаичность антигенной структуры многих УПМ, нали­чие к ним антител у здоровых людей и слабая выраженность иммунного ответа на антигены УПМ. Тем не менее при затяжных и хрони­ческих формах болезни серологический метод иногда позволяет установить этиологию болез­ни. Серологические реакции ставятся с парны­ми сыворотками крови больного и аутокультурой: результат оценивается по сероконверсии в 4 раза и более. Перспективны серологические методы количественного выявления видовых и типовых антигенов возбудителя в очаге пора­жения, а также в биологических жидкосгях – крови, слюне, моче. Однако техника постанов­ки таких реакций и критерии этиологического диагноза пока не отработаны. На сегодняшний день слабо разработаны диагностические пре­параты, основанные на иммунных реакциях (иммуноферментный анализ, иммунофлюоресцентные диагностикумы, моноклональные антитела) к микробам-оппортунистам.

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

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

**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, т. е. он должен соответствовать локализации предполагаемо­го возбудителя с учетом патогенеза болезни. Например, при бронхолегочных заболеваниях для исследования берут мокроту, при заболе­ваниях мочевыделительной системы – мочу, в случае отсутствия или неясности локальных очагов – кровь.

Количество материала должно быть до­статочным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости. Например, при исследовании крови берут 5-10 мл крови.

Материал берут, по возможности, в на­чальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаше, их больше, они имеют более типичную ло­кализацию. Ранний этиологический диагноз предполагает более раннее и, следовательно, более эффективное лечение и профилактику новых случаев болезни.

Забор материала должен осуществляться до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после ее назначения, необходимый для выведения препа­рата из организма (большинство антибиотиков практически через 8– 10 ч после введения уже вы­водится из организма). Если антибактериальная химиотерапия начата, то ее при необходимости и без ущерба для больного надо прервать на 1-2 дня, а потом производить забор материала. Так же поступают при повторных исследованиях.

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

Забор материала проводить во время на­ибольшего содержания в нем возбудителей болезни: например, кровь для выделения ге­мокультуры в начале озноба, при повышении температуры и т. п.

Необходимо предупредить возможную контаминацию материала нормальной мик­рофлорой больного и микробами окружаю­щей среды. Для этого забор материала должен проводиться в асептических условиях, в про­цедурном кабинете, в перевязочной или малой операционной стерильным инструментарием в стерильную посуду. Пути, через которые вы­деляется или берется материал, должны быть максимально освобождены от нормальной микрофлоры. Для избежания контаминации материала нормофлорой при взятии материа­ла на исследование из полостей тела и полых органов адекватный для забора материала до­ступ к этим органам осуществляется путем пункции их через кожные покровы.

Следует предупредить возможность попа­дания в материал антимикробных препаратов (дезинфектантов, асептиков, антибиотиков), исключить контакте металлами, обладающи­ми олигодинамическим действием, 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 в бактериологи­ческой лаборатории.

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

При длительном хранении материала происходит гибель наиболее требовательных к питательным ве­ществам видов микробов, начинают размножаться менее требовательные и быстрорастущие виды, что приводит к нарушению количественного соотноше­ния видов и дезориентирует врача-микробиолога при интерпретации полученных результатов. Если мате­риал нельзя немедленно отправить в лабораторию, хранить его следует в холодильнике или использовать специальные транспортные среды. Клинические об­разцы для культивирования облигатных анэробов следует транспортировать в лабораторию, максималь­но защищая их от воздействия кислорода воздуха.

К клиническому образцу направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный доку­мент, содержащий основные сведения, необходи­мые для проведения микробиологического иссле­дования (характер материала, Ф.И.О. больного, название учреждения или отделения, номер исто­рии болезни, предположительный диагноз заболе­вания, предшествующая антимикробная терапия, дата и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал на исследование).

В процессе транспортировки материал следует оберегать от действия света, тепла, холода, механических повреждений. Лучше всего материал доставлять в специальных ме­таллических контейнерах, которые удобно очищать и обеззараживать. Нельзя отправ­лять материал в лабораторию с больными или случайными людьми.

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

**Критерии этиологической значимости выделенной чистой культуры**

Для установления этиологической роли патогенных микробов достаточно выделении микроба из материала от больного (независи­мо от количества), обнаружения в сыворотке крови специфических антител в диагностическом титре или сероконверсии в ходе бо­лезни в 4 раза и более, наличия корреляции между выделенным микробом и клинической картиной болезни. Вспомогательное значе­ние имеют результаты биопробы и аллерголо­гического метода диагностики.

**Критерии этиологической роли УПМ более сложны и менее надежны. К ним относятся:**

* Выделение возбудителя из исследуемого материала. Этот критерий имеет решающее значение при выделении микроба из крови и спинномозговой жидкости. При остальных нозологических формах он самостоятельного значения не имеет, если даже выделена моно­культура. Отрицательный результат исследо­вания не является основанием дня отрицания инфекционной природы болезни, так как он может быть обусловлен методическими при­чинами. В этом случае инфекционная при­рода болезни устанавливается на основании клинических данных с повторным микробио­логическим исследованием.
* Численность популяции обнаруженного микроба в пораженном органе, так называемое критическое число, которое рассчитывают на 1 мл исследуемого материала. Обычно за такое «критическое число» для бактерий принимают дозу 105 КОЕ/мл, дли грибов и простейших ома меньше – 103–104. Этому критерию придают решающее значение. Следует иметь в виду, что инфицирующая доза является производной от степени патогенности микроба и уровня восприимчивости организма. Она может быть и значительно меньше, и значительно больше этой величины, так как 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. В случае выделения из патологического материала нескольких видов или вариантов микробов в оценке этиологи­ческой роли важное значение имеет установ­ление количественных соотношений ассоциантов: за ведущею возбудителя в этом случае принимают доминирующую популяцию.
* В сомнительных случаях, например, при подозрении на микробную контаминацию ис­следуемого материала, внести ясность может повторное, в течение 12-24 ч. исследование этого же материала: выделение того же вида и варианта и в этот раз подтверждает вывод о его этиологической роли.
* Принадлежность выделенной культуры к больничному штамму или эковару.
* Обнаружение у выделенной культуры фак­торов патогенности. Ценность этого критерия повышается при выявлении нескольких фак­торов патогенности и, особенно, в достаточно высокой дозе или активности. К сожалению, методы выявления факторов патогенности и оценки их активности отсутствуют или слож­ны и долговременны, что снижает возмож­ность использования этого важного критерия. Кроме того, отсутствие специальных факто­ров патогенности не является основанием для отрицания этиологической роли выделенной культуры, поскольку патогенное действие мо­жет быть обусловлено эндотоксином, который содержится у большинства УПМ.
* Сероконверсия в сыворотке больного к аутокультуре в 4 раза и более.
* Выявление прямой корреляции между чувствительностью культуры к антимикроб­ным химиотерапевтическим препаратам и эффективностью терапии.
* Выделение идентичных культур от груп­пы больных в случае вспышки заболевания.
* Наличие прямой корреляции между кли­ническим улучшением и уменьшением мас­сивности или полной элиминацией микро­бной популяции.

Основное значение в установлении этио­логии заболевания имеют первые два крите­рия, остальные – только дополнительное; их наличие указывает на этиологическую роль культуры, отсутствие – не позволяет исклю­чить се роль в возникновении болезни.

**Лечение**

Лечение оппортунистических инфекций представляет собой сложную задачу и долж­но проводиться комплексно. Комплексное лечение включает в себя адекватное хирур­гическое вмешательство, проведение раци­ональной антимикробной химиотерапии и иммунотерапии.

Поскольку при оппортунистической ин­фекции нередко образуются гнойные очаги (абсцессы, флегмоны и т. п.), необходима са­нация этих гнойных очагов.

Учитывая широкое распространение сре­ди УПМ множественной лекарственной ус­тойчивости к антибиотикам, назначать эти препараты больным необходимо с учетом ре­зультатов определения антибиотикограммы выделенных от больного возбудителей.

Так как результаты антибиотикограммы приходят в стационар из микробиологической лаборатории через 3-5, а иногда и более суток с момента госпи­тализации больного, то начинать апгибиотикотерапию пациента врачу приходится эмпирически. При невозможности направленной антибиотикотерапии следует отдать предпочтение препаратам широко­го спектра действия. Поскольку многие вилы УПМ продуцируют фермент (бета-лактамазу,разрушающую бета-лактамное кольцо пенициллинов и цефалоспоринов, то хороший терапевтический эффект может быть получен при применении комбинированных препаратов, содержащих блокаторы бета-лактамазы, например, аугментин (амоксиклав) – амоксациллин в комбинации с клавулановой кислотой (блокатор бета-лактамазы). Весьма эффективны при лечении гнойно-воспалительных заболевании фторхинолоны, обладающие широким спектром действия. При по­лучении результатов определения чувствительности микрофлоры к антибиотикам проводимая больному химиотерапия должна быть скорректирована в соот­ветствии с этими результатами.

Комплексное лечение оппортунистических инфекций включает в себя и иммунотера­пию, если против УПМ, вызвавшего данное заболевание, разработаны соответствующие лечебные иммунобиологические препараты направленного действия. К подавляющему большинству УПМ лечебные иммунобиоло­гические препараты пока не созданы. Однако 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**

Профилактика оппортунистических ин­фекций проводится в трех направлениях: вы­явление источника инфекции; определение механизмов, путей и факторов передачи; со­стояние восприимчивого коллектива.

Мероприятия первой группы предусматри­вают изоляцию и лечение больных, а также выявление и санацию носителей.

С этой целью в хирургических стационарах раз­личного профиля 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 «чистых» плановых операций, а по их завершении начинают оперировать плановых «гнойных» больных. После их окончания операционная тщательно дезинфицируются.

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

**Диагностика бактериемии и сепсиса**

Микробиологическое исследование кро­ви производят при заболеваниях, связанных с проникновением микробов в ток крови. В норме кровь человека стерильна. В ток кро­ви микробы попадают в результате ослож­нения при различных манипуляциях, когда развиваются сепсис, бактериемия, бактери­альный шок. Исследование крови на содержа­ние микробов следует проводить у больных с длительной неясной лихорадкой, особенно у людей с пониженной иммунореактивностью.

Септицемия и бактериемия могут быть вы­званы практически всеми видами микробов – патогенными и УПМ.

Кровь для исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени (8–10 ч) после введения лекарственного препарата, необходимый для выведения последнего из организма. Если посев крови производят во время антибактериальной терапии, рекомен­дуется добавлять в питательную среду вещест­ва, нейтрализующие действие лекарственных препаратов. При пенициллинотерапии с этой целью можно использовать пенициллиназу, при применении цефалоспоринов – цефалоспориназу, тетрациклинов – ионы магния, являющиеся антагонистами тетрациклина.

Кровь для посева берут из вены, строго соблюдая пра­вила асептики, и непосредственно у постели больного засевают в питательную среду либо помещают в стериль­ную посуду, содержащую вещества, препятствующие свертыванию крови (0,3% раствор цитрата натрия, 0,1% раствор оксалата натрия, 1 мл гепарина и др.). Материал быстро транспортируют в лабораторию, где производят дальнейшее исследование. Хранить кровь в холодильни­ке можно не более 1–2 ч, при более длительном хране­нии возможен лизис бактерий. Наиболее рациональным является посев крови непосредственно у постели боль­ного в специальные флаконы для выделения гемокультуры возбудителя. Для этой цели обычно используют одноразовую систему для забора крови и два флакона с питательной средой (один для выделения аэробов, другой – анаэробов). Такой флакон содержит жидкую питательную среду с добавлением антикоагулянтов и веществ, подавляющих бактерицидные свойства крови (может использоваться двухфазная среда) и бескисло­родную газовую атмосферу (для выделения анаэробов).

Клиническая картина равных этиологи­ческих форм сепсиса идентична или близка. Поэтому в диагностике сепсиса и, особенно в определении, тактики химиотерапии решаю­щая роль принадлежит микробиологическому исследованию.

Бактериоскопический метод не применяет­ся. Лишь в отдельных случаях используется микроскопия толстой капли крови, например при менингококковом сепсисе.

Бактериологический метод является основ­ным методом диагностики. Он проводится путем выделения возбудителя из крови, а при септикопиемии вспомо­гательное значение для постановки диагноза имеет выделение культуры из первичных и вторичных локальных инфекционных очагов.

Производят посев 5-10 мл крови на 50-100 мл жилкой питательной среды: 1% сахарный бульон, двухфазную среду, а также жидкие и полужидкие среды для культи­вирования анаэробов. При подозрении набрюшной гиф и другие инфекционные заболевания применяют специ­альные ниппельные среды. Для количественного опре­деления массивности обсеменения крови делают посев нескольких капель крови из шприца на поверхность чашки Петри с 5% кровяным агаром. Посевы инкуби­руют н термостате в течение 10 дней. Просмотр посевов производят ежедневно. При наличии роста на питатель­ных средах делают высевы на чашки с 5% кровяным агаром, которые инкубируют в аэробных и анаэробных условиях. Из колоний, выросших на чашках с кровяным агаром, выделяют чистую культуру, идентифицируют и определяют чувствительность к антибиотикам. Посевы крови на двухфазной среде просматривают, наклоняя флакон и таким образом увлажняя поверхность скошен­ного агара бульоном с кровью. При этом исключается необходимость в высевах на плотные среды и снижается возможность загрязнения посевов.

Однократный посев крови не всегда приводит к выделению гемокультуры. Более информативным является трехкратный посев крови с интервалами между посевами в одни сутки. У леченных боль­ных кровь для посева следует брать 5–6 раз.

Выделение из крови как патогенных микро­бов, так и УПМ, независимо от их количества, расценивается как бактериемия или сепсис. Заключение становится более надежным в случаях повторного выделения аналогичной культуры, а также изоляции ее из локальных очагов воспаления. Выделенные культуры обязательно испытывают на чувствительность к антибактериальным препаратам.

Серодиагностика может быть использова­на как вспомогательный метод и проводится путем постановки реакции агглютинации с аутогемокультурой. При отдельных этиоло­гических формах сепсиса с помощью серо­логических реакций могут быть обнаружены циркулирующие в крови видовые антигены.

При постановке диагноза сепсис, а также дифференциации бактериемии и сепсиса при отрицательных данных лабораторного иссле­дования необходимо опираться на клиничес­кие данные и результаты других анализов.

Наряду с установлением возбудителя сепси­са следует обязательно исследовать иммунный статус больного, так как исход сепсиса зависит не только от рациональной химиотерапии, но и от применения средств, нормализующих функцию иммунной системы организма.

**Диагностика инфекций мочевыводящих путей**

Микробиологическое исследование мочи производят при воспалительных заболевани­ях мочевыводящих путей.

Оппортунистические инфекции мочевыводящих путей различной этиологии протекают в виде гломерулонефрита, пиелонефрита, пие­лита, околопочечных абсцессов, осложненной инфекцией почечнокаменной болезни, цисти­та, простатита, уретрита, послеоперационных инфекций, в том числе связанных с пересад­кой почек. Течение перечисленных локальных инфекций нередко осложняется уретральной лихорадкой, уросепсисом и иногда бактери­альным шоком. Длительное выделение с мо­чой больших количеств бактерий при отсутс­твии клинических проявлений обозначается как бессимптомная бактериурия.

В моче наиболее часто встречаются *Escherichia coli,* другие грамотрицательные палочки, энтерококки. *Staphylococcus saprophyticus*; часто – *Pseudomonas aeruginosa* и другие неферментирующие грамотрицательные бактерии, а также стафилококки; реже – *Candida albicans*.

В норме микрофлора колонизирует дисталь­ные отделы уретры. В вышерасположенные участки мочеполового тракта УПМ проника­ют гематогенным путем, при травмах органов мочеполовой системы, при их контакте с ин­фицированными органами малого таза и вос­ходящим путем через уретру. Последний путь является главным. Он может быть результатом медицинских вмешательств (катетеризация, цистоскопия, бужирование, лобковая пункция и промывание мочевою пузыря) или проис­ходит самопроизвольно, например, при пора­жении спинного мозга. Судьба проникших в мочеполовую систему УПМ зависит от их ин­фицирующей дозы и состояния иммунитета. Категориями риска развития инфекции моче­выводящих путей являются больные с врожден­ными пороками развития мочеполовой систе­мы, почечнокаменной болезнью, нарушениями проводимости спинного мозга, гнойно-воспа­лительными заболеваниями органов малого та­за, хирургическими вмешательствами на моче­половой системе, в том числе с пересаженной почкой, при инструментальных исследованиях мочеполовой системы, диабете и других общих заболеваниях, сопровождающихся иммуноде­фицитом или иммунодепрессивной терапией.

Микробиологический диагноз инфекции мочевыводящих путей, так же как бессимп­томной бактериурии, устанавливают выде­лением культуры возбудителя (урокультуры). Ориентировочные данные о возбудителе могут быть получены микроскопией осадка мо­чи, дополнительные данные – с помощью серодиагностики с аутокультурами этиологи­чески значимых видов. Микробиологическое исследование мочи нужно проводить до нача­ла антибактериальной терапии

После тщательного туалета наружных по­ловых органов в стерильную посуду собирают среднюю порцию свободно выпущенной мо­чи в количестве 3–5 мл.

Взятие мочи с помощью катетера связано с риском инфицирования мочевых путей, поэтому его жела­тельно избегать. Катетеризацию проводят только в случаях необходимости, если больной не способен мочиться, для разграничения воспалительного про­цесса в почках и мочевом пузыре. С этой целью моче­вой пузырь опорожняют и вводят в него 50 мл раство­ра, содержащего 40 мг неомицина и 20 мг полимиксина. Через 10 мин берут пробы мочи для исследования. При локализации процесса в мочевом пузыре моча остается стерильной, при инфекции в почках отме­чается бактериурии. Мочу можно получить от боль­ного путем надлобковой пункции мочевого пузыря. Этот метод взятия мочи дает наиболее достоверные результаты исследования, однако имеется опасность инфицирования больного.

Микробиологическое исследование мочи надо проводить как можно быстрее после ее получения от больного, с тем чтобы избежать размножения находящихся в ней микробов. Размножение микробов в моче до начала ана­лиза приводит к ложным результатам при количественном определении бактериурии и может дезориентировать в отношении возбу­дителя заболевания. Если немедленное иссле­дование мочи невозможно, то ее следует хра­нить в холодильнике при 4 °С не более суток.

Для микроскопического исследования 5 мл мочи центрифугируют при 8-10 тыс. об/мин 10–15 мин, надосадочную жидкость сливают, из осадка делают мазки и окрашивают водным фуксином и по Граму; при подозрении на туберкулез – по Цилю– Нельсену, на кандидоз – раствором Люголя. При микроскопии получают ориен­тировочное представление о присутствующих микробах и их приблизительном количестве в 1 мл (число бактерий в поле зрения умножают на разрешающий фактор – 100 тыс. и делят на объем взятой для исследования мочи).

При бактериологическом исследовании оп­ределяют степень бактериурии, т. е. количес­тво колониеобразующих единиц в 1 мл мочи (КОЕ/мл), методом секторных посевов мочи.

Платиновой петлей диаметром 2 мм (вместимость 0,005 мл) производят посев мочи – 40 штрихов на сектор чашки Петри с простым агаром. После этого петлю прожигают и производят 4 штриховых посева из сектора А в сектор 1 и аналогичным обратом из сектора 1 в сектор 2 и из сектора 2 в сектор 3 (каждый раз прожи­гая петлю). Чашки инкубируют при 37 ̊С 18-24 ч, после чего подсчитывают число колоний, выросших на разных секторах.

Колонии, выросшие на плотной питатель­ной среде, отсеивают на чашки Петри или в пробирки со скошенным агаром, выделенную чистую культуру идентифицируют и опреде­ляют ее чувствительность к антибактериаль­ным препаратам.

Ускоренные методы определения степени бак­териурии основаны на определении продуктов метаболизма, образующихся при размножении микробов в моче. Они дают менее точные ре­зультаты, чем метод секторных посевов, и ис­пользуются преимущественно при массовых профилактических обследованиях больших кон­тингентов людей или для экспресс-диагностики. При положительном результате, полученном ус­коренными методами, необходимо дальнейшее исследование с помощью более точного бакте­риологического метода. Для ускоренной диа­гностики используются нитратный и ТТХ-тест.

Ускоренные методы позволяют получить не­медленный ответ. При использовании бактериологических методов лаборатория дает предва­рительный ответ через день после получения результатов определения степени бактериурии и окончательный – через 3–4 дня после выде­ления микробов, их идентификации и опреде­ления чувствительности к антибактериальным препаратам. В окончательном ответе указы­вают степень бактериурии, вид выделенных культур, их антибиотикограмму.

Основная задача при интерпретации получен­ных данных заключается в доказательстве этио­логической роли микробов, выделенных из мочи. Учитывают комплекс тестов: степень бактери­урии, вид выделенных культур, повторность их выделения в процессе заболевания, присутствие в моче монокультуры или ассоциации микробов. Степень бактериурии позволяет дифференциро­вать инфекционный процесс в мочевых путях от контаминации мочи нормальной микрофлорой.

Оценку производят на основании следую­щих критериев:

Степень бактериурии, не превышающая 103 КОЕ/мл мочи, свидетельствует об отсутс­твии воспалительного процесса и обычно яв­ляется результатом контаминации мочи.

Степень бактериурии, равная 104 КОЕ/ мл, расценивается как сомнительный резуль­тат. Исследование следует повторить.

Степень бактериурии, равная и выше I05 КОЕ/мл мочи, указывает на наличие воспа­лительного процесса.

Измерение степени бактериурии в процессе заболева­ния можно использовать для контроля за течением процесса и эффективностью терапии. Уменьшение степени бактериурии свидетельствует о благоприятном течении заболевания и эффективности использования лекарс­твенных препаратов. В некоторых случаях у больных, получающих антибактериальную терапию при плохом оттоке мочи, при ее низкой относительной плотности, pH ниже 5.0, может наблюдаться низкая степень бактериурии при имеющемся заболевании. Поэтому помимо степени бактериурии следует учитывать вил выделенных из мочи микробов. Повторное выделение из мочи куль­туры одного вида, тина, варианта свидетельствует об ин­фекционном процессе. Монокультура чаще выделяется при острых воспалительных промессах и коррелируете высокой степенью бактериурии. Ассоциации микробов чаще встречаются при хронических процессах.

При окончательной оценке результатов микробиологического исследования мочи не­обходимо учитывать данные клиники и дру­гие лабораторные анализы.

Диагноз бессимптомной бактериурии ставится в тех случаях, когда при отсутствии симптомов пораже­ния мочеполовых путей из мочи повторно выделяют большое число бактерий (I06 и более).

**Диагностика инфекций нижних дыхательных путей**

Оппортунистические инфекции бронхов и легких протекают в виде бронхита, пневмонии, абсцесса и гангрены легкого, эмпиемы плевры. Ведущее место в этой группе заболеваний за­нимают хронический и острый бронхит.

Заражение возбудителями оппортунистичес­ких инфекций происходит главным образом воздушно-капельным путем из внешней среды или верхних дыхательных путей самого больно­го. Но возбудители нередко проникают также из крови (при сепсисе), при оперативных вме­шательствах, эндоскопических процедурах, при интратрахеальном введении контаминированных микробами аэрозолей и растворов.

Занос УПМ в дыхательные пути не обяза­тельно влечет за собой развитие инфекции. У здоровых людей бронхи обладают выражен­ной способностью к самоочищению от мик­робов и чужеродных частиц, которое осущест­вляется кооперативным действием системы мукоцилиарного клиренса, альвеолярными и бронхиальными макрофагами, лизоцимом, секреторным IgA, комплементом, лимфоидным аппаратом слизистых оболочек и перибронхиальных лимфатических узлов. Кроме того, сли­зистая оболочка дыхательных путей обладает выраженными барьерными свойствами против УПМ. Поэтому для возникновения инфекции необходимо попадание тем или иным путем высокой инфицирующей дозы возбудителя, на­рушение целостности слизистой оболочки и снижение самоочищающей функции дыхатель­ных путей. Повышают риск развития инфекций иммунодефицитные состояния.

Возбудителями воспалительных процессов нижних дыхательных путей могут быть бактерии, микоплазмы, вирусы, грибы и простейшие. Среди патогенов высокого уровня приоритет­ности наиболее часто при заболеваниях нижних дыхательных путей встречаются – *Mycobacterium tuberculosis, Streptococcus pneumoniae, Haemophilus influenzae, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae*; к патогенам среднею уровня приоритетности следует отнести энтеробактерии. *Candida albicans, Branchamella catarrhalis*. Аспирационные пневмонии часто вызываются неспорообразуюшими анаэробами.

Материалом для исследования служат мокро­та, содержимое бронхов, полученное при брон­хоскопии, плевральная жидкость, аспираты и пунктаты из трахеи, легочная ткань, полученная при пункции и биопсии легкого. Наиболее ин­формативно исследование пунктатов из легких и трахеи. Однако применение методов связано с определенным риском, в связи с чем их следует использовать лишь при тяжелых заболеваниях и при отсутствии мокроты или отрицательном ре­зультате ее исследования. Мокроту для микро­биологического исследования следует брать до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после вве­дения препарата, необходимый для выведения последнего из организма больного. Исследуют утреннюю порцию мокроты.

Перед сбором мокроты больной должен пропо­лоскать рот кипяченой водой или слабым раствором антисептика, почистить зубы. Мокроту собирают в стерильную посуду – плевательницу, чашки Петри и пр. Наиболее информативно исследование мокроты, полученной при бронхоскопии, так как она прак­тически не загрязнена микрофлорой верхних дыха­тельных путей и полости носа, полоти рта. Хранить мокроту до исследования следует в холодильнике при 4 ̊С не более 2–3 ч. При более длительном хранении погибают требовательные виды микробов, развива­ются процессы брожения и гниения, искажающие результаты исследования.

Для лабораторной диагностики используют микроскопический, бактериологический и серо­логический методы.

Микроскопический метод применяют для ориентировочной экспресс-диагностики, а также для выбора основного направления бактерио­логического исследования. Чувствительность и специфичность этого метода повышается при использовании РИФ и ИФА.

Исследуют гнойные комочки мокроты, которые максимально освобождают от микрофлоры верхних дыхательных путей путем промывания их в чашке Петри, содержащей изотонический раствор хлорида натрия. Готовят мазки, растирая комочек мокроты между стеклами, окрашивают их по Граму и Цилю-Нельсену (для обнаружения в мокроте микобакте­рий). При бактериоскопии мазков можно ориентиро­вочно судить о характере и количестве микрофлоры в мокроте. Микроскопия мазка позволяет также вы­явить труднокультивируемые микробы.

Серологический метод используют чаше при затяжных и хронических формах. В связи с полиэтиологичностыо заболевания и выраженной мозаичностью возбудителей, в качестве диагностикума используют количественно доминиру­ющие аутокультуры. Поскольку последние не­редко являются представителями нормальной микрофлоры, к которым в организме обычно имеются антитела, реакции ставят в динамике.

Ведущий метод диагностики - бактериоло­гический. Главной его особенностью является определение количества микробов в материале.

Посев отмытых гнойных комочков мокроты производят на ряд питательных сред: 5% кровя­ной агар, среду Эндо, среду Левинталя, среду для анаэробов. Посев производят шпателем, равно­мерно растирая комочек мокроты по поверхнос­ти питательной среды. На поверхность питатель­ной среды, засеянную исследуемым материалом, можно положить диски с сапонином, чтобы со­здать селективные условия для роста *Н. influen­zae*. Среды с посевами инкубируют 18-24 ч. Из выросших колоний выделяют чистые культуры, идентифицируют и определяют антибиотикограмму. При обнаружении в микроскопическом препарате грибов делают посев на среду Сабуро или другие среды для выращивания грибов. При подозрении на туберкулез или микоплазменную инфекцию делают посевы на соответствующие среды. Чтобы различить контаминацию мокро­ты микрофлорой верхних дыхательных путей и полости рта, используют количественные мето­ды исследования.

Мокроту для количественного исследования соби­рают в стерильную банку с бусами для гомогенизации материала или в обычную посуду, но перед посевом растирают тщательно в ступках. В стерильную банку с бусами помещают1 мл мокроты, добавляют туда 9 мл 2% пептонной воды или бульона. Смесь встряхивают в течение нескольких минут, из полученной гомогенизи­рованной мокроты готовят десятикратные разведения, добавляя к 0,1 мл мокроты 0,9 мл изотонического раствора хлорида натрия. Затем 0,1 мл полученных разведений засевают на чашки с 5% кровяным агаром, рас­тирая материал шпателем по поверхности среды. Через сутки инкубации при температуре 37 ̊С учитывают ре­зультаты: подсчитывают однотипные по внешнему виду колонии, их число умножают на 10, так как производят посев 0,1 мл мокроты, и на степень разведения матери­ала. Из колоний готовят мазки, выделяют чистые куль­туры, идентифицируют, определяют чувствительность к антибактериальным препаратам.

Для выделения пневмококка можно внутрибрюшинно заразить белых мышей 0,5 мл взвеси первичного материала в бульоне или частью осадка после центрифугирования материала. Через 6-8 ч у зараженной мыши берут экссудат из брюшной полости, делают посев на чашки с 5% кровяным агаром, из остатка экссудата готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Можно также забить зараженное животное и сделать посев крови из сердца на сывороточный бульон и чашки с кровяным агаром и мазки-отпечатки из селезенки на предметном стекле для окраски по Граму. При наличии пневмококка в исследуемом материале на питательных средах вырастет чистая культура.

Наиболее сложно определить этиологичес­кую роль содержащихся в мокроте микробов, контаминирующих ее при прохождении через верхние дыхательные пути и ротовую полость. Для дифференциации этой микрофлоры от микрофлоры нижних дыхательных путей ис­пользуют ряд тестов. С помощью количествен­ного метода определяют содержание в мокроте определенного вида микробов, исходя из того, что возбудитель находится в мокроте в зна­чительно большем количестве, чем микробы-контаминанты. Критическое число составляет 106– 107. Рост микробов в меньших разведениях расценивают как контаминацию мокроты мик­рофлорой верхних дыхательных путей. Следует учитывать, что при проведении антибактери­альной терапии количественное обсеменение мокроты возбудителем может уменьшиться.

Определенное значение имеет вид выделен­ных микробов. Представителей нормальной микрофлоры носоглотки как возбудителей за­болевания следует учитывать только в случаях, когда их количество превышает обычное. Другие виды микробов, находящихся в мокроте в разве­дениях, превышающих 106, следует учитывать и изучать их чувствительность к антибиотикам.

**Диагностика инфекций верхних дыхательных путей**

Микрофлору верхних дыхательных путей изучают при заболеваниях носа и зева, а также у больных пневмонией, не отделяющих мокроту, и при обследовании на бактерионосительство.

Отделяемое из носа берут стерильным ватным тампоном, который вводят в глубь полости но­са. Материал из носоглотки берут стерильным заднеглоточным тампоном, из зева – увлаж­ненным ватным тампоном. Тампоны помещают в стерильные пробирки и доставляют в лабора­торию в максимально короткие сроки. Хранить тампоны с материалом следует в холодильнике не более 2-3 ч. Посев тампоном производят на чашки Петри с 5% кровяным агаром, которые инкубируют 18–24 ч при температуре 37 ̊С. Просматривают выросшие колонии, выделяют чистые культуры, идентифицируют их, опреде­ляют чувствительность к антибиотикам. Из ма­териала, оставшегося на тампоне, делают мазки, которые окрашивают по Граму и Нейссеру.

При оценке результатов исследования сле­дует учитывать видовой и количественный состав нормальной микрофлоры, содержа­щейся в клиническом образце: обнаружение микробов, не относящихся к нормальной микрофлоре верхних дыхательных путей, или необычно большое количество микробов ка­кого-либо вида указывает на их этиологичес­кую значимость в заболевании.

**Диагностика менингитов**

Микробиологическое исследование ликво­ра необходимо в случаях, подозрительных на менингит, а также при коматозных состоя­ниях и неврологических симптомах неясного генеза.

Гнойный менингит – гнойное воспаление мозговых оболочек. Встречаются первичный менингит вызванный менингококками, и вторичный, возбудителями которого являют­ся все прочие УПМ. Возбудители заносятся в субарахноидальное пространство при воспа­лительных процессах в других органах гемато­генным, лимфогенным, контактным путями, а также при травмах.

Ликвор в норме стерилен, поэтому поло­жительный результат микробиологического исследования – это всегда расшифровка эти­ологического диагноза, своевременность пос­тановки которого может в ряде случаев предо­твратить смертельный исход заболевания.

Этиология менингитов очень разнообразна. Наиболее часто из ликвора выделяют следую­щие микробы:

* при гнойных менингитах – *Neisseria men­ingitidis, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Streptococcus групп A, B, D; Haemophilus influenz/ae, E. coli, Klebsiella, Proteus, Pseudomonas, Achromobacter, Listeria monocytogene*s;
* при асептических менингитах – *Mycobacterium tuberculosis, Leptospira, Cryptococ­cus neoformans, Toxoplasma gondi*i, вирусы.
* Взятие проб ликвора должно проводиться при строжайшем соблюдении правил асепти­ки, исключающих его контаминацию.

Первые капли ликвора (до 1 мл) собирают в про­бирку и направляют на цитологическое исследо­вание. Для посева используют следующую порцию жидкости, которую собирают в стерильную пробирку в количестве 2-5 мл. При подозрении на туберку­лезную или грибковую этиологию менингита сле­дует брать не менее 10 мл ликвора. Учитывая, что один из ведущих возбудителей менингита – *Neisseria meningitidis*– чрезвычайно чувствителен к охлажде­нию, взятые пробы должны быть доставлены в лабо­раторию как можно скорее, а до этого сохраняться строго при 37 °С.

Во всех случаях, подозрительных на менин­гит, для микробиологического исследования кроме ликвора берут материал из предполага­емого первичного очага инфекции: мазки из носоглотки, среднего уха, ран после нейро­хирургических и других оперативных вмеша­тельств, кровь.

В лаборатории ликвор центрифугируют при 2500– 3000 об/мин 10 мин. Надосадочную жидкость отсасывают стерильной пипеткой в пробирку и используют для биохимического и серологического исследований. Оставшийся осадок и около 0,5 мл жидкости исполь­зуют для приготовления мазков и посева. Гнойный ликвор можно использовать для исследования без предварительного центрифугирования. До конца подготовительных операций ликвор хранят при 37 СС. Из осадка делают два тонких мазка на стекле, окра­шивая по Граму и метиленовым синим, и немедленно микроскопируют. Нередко, особенно при нелеченых случаях менингита, по типичной морфологии могут быть выявлены такие возбудители как N*. meningiti­dis, S. pneumoniae, Н. influenzae*. Обнаружение в маз­ках грамположительных корот­ких толстых палочек заставляет заподозрить *Listeria monocytogenes* в качестве возбудителя менингита. Результаты первичной микроскопии служат осно­ванием для предварительной диагностики, которая немедленно сообщается лечащем врачу и определяет ход дальнейшего исследования.

Посев ликвора производят на следующие питательные среды: сывороточный агар (ин­кубация в нормальной атмосфере), 5% кровя­ной агар (инкубация в анаэробных условиях и в атмосфере, обогащенной 10% СО2), шоко­ладный агар, среды для анаэробов.

Проверку роста проводят после ночной ин­кубации и в дальнейшем ежедневно до появ­ления роста. При отсутствии роста в течение 7 дней выдается отрицательный результат. При появлении роста на какой-либо из сред де­лают мазки, окрашивают по Граму, проводят посевы на плотные питательные среды для выделения культур и их идентификации.

В большинстве случаев выделение микро­бов из ликвора свидетельствует об их этиоло­гической роли. В редких случаях выделение УПМ может быть связано с контаминацией ликвора при его взятии. В таких случаях, что­бы избежать диагностической ошибки, следует повторить исследование. В случаях менинги­та, вызванного УПМ, лечебные мероприятия не оказывают столь быстрого стерилизую­щего эффекта, как при патогенных возбудителях. Кроме того, должны быть проведены количественные исследования микрофлоры. Отсутствие микрофлоры в первичных мазках ликвора и отсутствие роста (или рост единич­ных колоний) на плотных питательных средах или наличие роста в жидких питательных средах могут свидетельствовать о нарушении правил асептики при взятии ликвора.

**Диагностика воспалительных забо­леваний женских половых органов**

Воспалительные заболевания половых ор­ганов могут быть вызваны микрофлорой, присутствующей в норме в этих органах, а также при восходящем, гематогенном, лим­фогенном распространении микробов из дру­гих органов и тканей.

Взятие материала на исследование прово­дит врач акушер-гинеколог из различных от­делов женского полового тракта.

Вульва, преддверие влагалища. Отделяемое берут стерильным ватным тампоном. При воспалении большой железы преддверия (бартолиновой железы) производят ее пункцию или при вскрытии абсцесса железы гной берут стерильным ватным тампоном.

Влагалище. После введения зеркала и подъемника материал для исследования берут стерильным ватным тампоном из заднего свода или с патологически изме­ненных участков слизистой. Материал для исследо­вания должен быть взят до проведения мануального исследования.

Шейка матки. После обнажения шейки матки в зеркалах влагалищную часть ее тщательно обраба­тывают ватным тампоном, смоченным стерильным изотоническим раствором натрия хлорида или водой. После этого тонкий ватный тампон вводят в шеечный канал (не касаясь стенок влагалища) и берут материал для исследования.

Матка. Правильное взятие материала из матки мо­жет быть выполнено только при использовании спе­циальных инструментов типа шприца-аспиратора, имеющего на зонде наружное покрытие. После про­хождения зондом цервикального канала в полости матки раскрывают его наружную оболочку и аспирируют содержимое. После этого закрывают наружную оболочку и выводят зонд из матки.

Придатки матки. При воспалительном процессе в придатках матки получение материала из очага инфекции возможно только при оперативном вме­шательстве (гной, экссудат, кусочки органов) или при проведении диагностической пункции опухоле­видных образований в малом тазу; проводимой через влагалищные своды (при этом следует учитывать возможность кон таминации пробы вагинальной мик­рофлорой). В некоторых случаях, если очаг инфекции в придатках матки сообщается с полостью матки, могут оказаться полезными повторные исследования отделяемого цервикального канала при однотипных результатах исследования.

Материал должен быть доставлен в лабора­торию в ближайшие 1–2 ч. При подозрении на анаэробную инфекцию посев должен быть выполнен сразу же после взятия материала.

Готовят мазки для микроскопии.

Материал равномерно распределяют на стекле мяг­кими движениям, не применяя грубого втирания и резких штриховых движений инструментом. Такая техника выполнения мазков позволяет клеткам рас­пределяться слоями, не повреждает их, сохраняет истинное распределение и количественное соотно­шение компонентов исследуемого материала. После высушивания при комнатной температуре мазки покрывают чистым предметным стеклом (или поме­шают в чашку Петри) и отправляют в лабораторию Хранение влажного мазка, сдавленного между двумя стеклами, недопустимо.

В лаборатории микроскопируют первичные мазки после окраски их по Граму, метилено­вым синим, по Романовскому–Гимзе (влага­лищные мазки).

Материал, взятый на тампон, посевают штрихами на кровяной и шоколадный агар. Материал, доставленный в пробирках (гной, содержимое тубо-овариальных образований), засевают по 0.1 мл. растирая шпателем по поверхности кровяного и шоколадного агара. Производят также посевы в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Из оставшегося материала готовят мазки для микроско­пии. Кусочки тканей размельчают, соблюдая стерильность, в микроизмельчителе тканей или в ступке с песком и засевают полученную взвесь на несколько чашек с плотными среда­ми (кровяной агар, молочно-солевой агар, сре­ду Эндо), а также в сахарный бульон и среды для выделения анаэробов. Посевы инкубируют при температуре 37 ̊С аэробно и в анаэростате. При появлении роста на плотных питательных средах проводят подсчет числа колоний, ко­личественно оценивая соотношение видов в данной микробной ассоциации. При помутне­нии сахарного бульона делают мазок на стекле и окрашивают по Граму высевы на плотные питательные среды (кровяной агар, молочно­солевой агар, среда Эндо).

Оценка результатов микробиологическою исследования половой системы представляет определенные трудности, так как чаше всего регистрируют рост нескольких УПМ. В каж­дом конкретном случае следует учитывать со­вокупность признаков: данные микроскопии первичных мазков исследуемого материла, результаты посева на плотные среды (коли­чественная оценка роста различных видов), а также клинические проявления заболевания и анамнез больной. Исследование материала из закрытых полостей (пунктаты опухолевид­ных образований в малом тазу, околоплодные волы), а также органов в норме стерильных (содержимое полости матки, кусочки органов и тканей, удаляемых при полостных опера­циях) рост микробов сходной морфологии в первичных мазках с определенностью свиде­тельствует об их этиологической роли в вос­палительном процессе.

При исследовании материала из мест, в норме имеющих разнообразную микрофлору, большое значение придается количественной оценке различных видов бактерий, выросших при первичном посеве на плотные среды, однотипности результатов при повторных ис­следованиях, а также клиническим данным. Для ориентировочной оценки количествен­ного соотношения в микробных ассоциаци­ях можно использовать следующие критерии при штриховом посеве тампоном на половину чашки Петри с кровяным агаром:

I – очень скудный рост – на плотных средах роста нет, он имеется в жидкой пита­тельной среде;

II – небольшое количество – на агаре до 10колоний микробов определенного вида;

III – умеренное количество – на агаре от 11до 100 колоний;

IV – большое количество – на агаре бо­лее 100 колоний.

Рост I-II степени чаще всего свидетельс­твует о контаминации, III–IV степени об этиологической роли данного микроба.

**Диагностика острых кишечных инфекций и пищевых отравлений**

Острые кишечные инфекнии (ОКИ) вы­зываются: *Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca, Enterobacter cloaceae, Serratiamarcescens, Hafnia alvei, Arizona, Proteus mirabilis, Morganella morgani, Providenca rettgeri, Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter jejuni, Plesiomonas shigelloides, Vibrio hemolyticus, Staphylococcus fureus, Enterococcus faecalis, £. faecium, Clostridium perfringens, C. difficile, Bacillus cereus.*

Заболевания, вызванные указанными ви­дами, чаще протекают по типу пищевой токсикоинфекции. реже – микробной интокси­кации (стафилококковая, клостридиальная) и инфекционного заболевания (эшерихиозы, кампилобактериозы). Холецистит, панкреа­тит, аппендицит, перитонит, парапроктит от­носят к другой группе оппортунистических инфекций – гнойно-воспалительным.

Заражение ОКИ происходит в результа­те приема контаминированной микробами пищи, в которую они попадают от людей – больных и носителей, реже – от животных. В пищевых продуктах указанные виды бак­терий способны к размножению в условиях комнатной температуры, а псевдомонады и клебсиеллы – при температуре бытового хо­лодильника. При размножении стафилококка и клостридий в пищевых продуктах накапли­вается экзотоксин.

Кроме алиментарного, возможна передача возбудителей контактно-бытовым и водным путями, хотя эти пути в большинстве случаев не могут обеспечить попадание в организм достаточной инфицирующей дозы.

Инкубационный период – короткий. Прием пищи, содержащей стафилококковый энтеротоксин и клостридиальные экзотоксины, приводит к развитию заболевания уже через 2–3 ч и даже полчаса. При за­ражении протеем, клебсиеллами, энтерококком ин­кубационный период составляет 5–24 ч. При попада­нии малой дозы возбудителя инкубационный период может удлиняться до 2–3 дней. При кампилобактериозе и эшерихиозе он может доходить до 5–7 дней.

В развитии заболевания, кроме попадания высокой инфицирующей дозы, патогеннос­ти возбудителя, большое значение имеют условия, способствующие быстрому и массовому размножению возбудителя в тонком кишечнике или желудке. У стафилококка и клостридии главным фактором патогеннос­ти является экзотоксин, у остальных мик­робов – эндотоксин, который выделяется в больших количествах при массовом распаде попавших в кишечник бактерий и оказыва­ет местное цитотоксическое действие, дейс­твие на интрамуральный нервный аппарат кишечника, периферические сосуды и клетки других органов. Некоторые варианты эшерихий, клебсиелл, псевдомонад дополнительно продуцируют экзотоксин, капсульную суб­станцию, ферменты-токсины, которые также оказывают прямое или косвенное поврежда­ющее действие.

Начало болезни, как правило, острое, а нередко и бурное. В клиническом течении выделяют три синдрома: общетоксический, энтеральный и более редкий – септический. В одних случаях заболевание начинается с общетоксического синдрома (озноб, лихорадка, головная и мышечная боли, слабость, головокружение и др.), в других – с энтерального (тошнота, рвота, понос, боли в животе), к которым присоединяется энтеральный или общетоксическии синдром. Эти синдромы могут проявляться и одно­временно.

Клиника заболевания проявляется в виде гастри­та, энтерита, гастроэнтерита, колита, энтероколита и гастроэнтероколита. Любой из названных выше микробов может вызвать любую форму заболеваний, но при обобщенном анализе выявляется некоторая специфика. ОКИ стафилококковой этиологии ча­ше протекают как гастрит и гастроэнтерит. По типу гастрита и гастроэнтерита протекают также ОКИ, вызванные цитробактером, протеем, клебсиеллами Кишечная палочка вызывает колит, энтерит или энте­роколит Большинство возбудителей вызывает легкие или средней тяжести заболевания. Кишечная палочка может вызывать тяжелые формы, сопровождающиеся обезвоживанием организма или осложниться сепсисом. Клостридиальная инфекция может протекать по типу выраженной интоксикации, сепсиса, не­кротического энтерита, обезвоживающего организм энтерита.

ОКИ обычно заканчиваются клиническим выздо­ровлением через 5-6 дней или даже раньше, воспа­лительные явления в кишечнике могут наблюдаться 7–10 дней, период освобождения организма от воз­будителя может затягиваться на длительное время

Переход в затяжное или хроническое течение на­блюдается при клостридиальной и псевдомонадной инфекциях. Септические формы болезни могут иметь летальный исход.

Для постановки этиологического диагноза ОКИ используют бактериологический метод. При хронических и затяжных формах в сы­воротке крови больного нередко выявляют нарастание антител к доминирующей ауто­культуре.

Материалом для исследования служат ис­пражнения. рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты и сырье, с кото­рыми связывают развитие болезни. Материал должен быть исследован в первые часы после его забора; при отсутствии такой возможнос­ти материал помешают в консервант (фосфатно-глиценировую смесь или другие).

Исследование на УГ1М часто производят после того, как из материала не удается выде­лить патогенных возбудителей. Однако целе­сообразно, а при остром токсико-энтеральном начале обязательно, провести параллельное исследование на УПМ. Для этого материал засевают на дифференциально-диагностичес­кие среды, позволяющие наряду с патогенны­ми микробами выделить УПМ.

Испражнения, рвотные массы, продукты в количестве около 1 г суспендируют в 10 мл 0,5% раствора хлорида натрия, встряхивают, отстаивают 15 мин и надосадочную жидкость засевают на дифференциально-диагностические среды. Материал засевают на чашки со средами Левина (Эндо) – для выделения энтеробактерий, желточно-солевой – для стафилококков. МПА с фурагином – для вы­деления псевдомонад, щелочной агар – для вибрионов, МПА – для бацилл, среду Китта–Тароцци – для клостридий. Выделяют чистые культуры, проводят их идентификацию, оп­ределяют чувствительность к антибиотикам, определяют факторы патогенности.

Оценка этиологической роли выделен­ных культур проводится на основании соот­ветствия перечисленным выше критериям. Главным из них является количественный. Этиологически значимой для отсутствующих или присутствующих в небольшом количестве в кишечнике здоровых людей видов является величина Ю6 КОЕ/г (мл) материала и больше.

При выделении кишечной палочки, кото­рая в кишечнике у здоровых людей находит­ся в очень больших количествах, нужны до­полнительные критерии. При заболеваниях, протекающих по типу пищевого отравления, диагноз становится более достоверным при обнаружении такой же культуры в пищевом продукте и у группы лиц, его принимавших. В случаях выделения УПМ в этиологически значимых количествах наряду с патогенны­ми следует думать о сопутствующем дисбак­териозе или вторичной оппортунистической инфекции, осложнившей течение основного заболевания.

**Диагностика раневой инфекции**

Все УПМ могут вести к развитию раневой инфекции, особенно на фоне иммунокомпромиссного организма. В настоящее время ведущая роль в этиологии раневой инфекции принадлежит стафилококкам, энтеробактериями неферментирующим грамотрицательным палочкам (псевдомонады и др.), увеличивает­ся значение неспорообразующих анаэробных бактерий, грибов.

Раневое отделяемое берут стерильными ватными тампонами из глубины раны до об­работки ее антисептическими растворами. Тампоны срочно направляют в бактериоло­гическую лабораторию. При наличии в ране дренажа отделяемое берут стерильным шпри­цем, из которого оно переносится с соблюде­нием правил асептики в стерильную пробир­ку или анаэробный транспортный флакон. Удаляемые при обработке раны кусочки тка­ней отправляют в лабораторию в стерильных чашках Петри.

Посев раневого отделяемого с тампона про­изводят на питательные среды в следующем порядке: кровяной агар; сахарный бульон; среда для анаэробов.

Жидкие пробы засевают на плотную среду петлей. Предпочтительнее производить посев по 0,1 мл раз­веденной до 101 и неразведенной пробы, растирая ма­териал по поверхности питательной среды шпателем. В жидкие питательные среды посев производят пасте­ровской пипеткой. При посеве на анаэробы пипетку с исследуемым материалом опускают на дно пробирки, не допуская попадания пузырьков воздуха в среду.

Кусочки тканей режут стерильными ножницами, взвешивают в стерильной чашке Петри и измельчают в стерильной ступке с бульоном из расчета 1 мл бу­льона на I г ткани. Затем готовят десятикратные раз­ведения взвеси до 10 Ч По 0,1 мл каждого разведения, засевают на кровяной агар.

Подсчет КОЕ/г ткани производят с учетом числа выросших колоний и сделанных разведений.

Посевы инкубируют аэробно и анаэробно при температуре 37 °С и ежедневно просмат­ривают. При появлении роста на плотной сре­де изучают культуральные свойства. Делается количественная оценка роста. В случае выяв­ления колоний различного вила подсчиты­вают число колоний каждою вида. При этом выявляют ведущий вид в ассоциации. По 2-3 колонии каждого типа отсевают на соответс­твующие питательные среды для дальнейшей идентификации.

При проявлении роста в жидких питатель­ных средах готовят мазки для окраски по Граму; с сахарною бульона производят высев на кровяной агар, среду Эндо, молочно-со­левой агар. Отрицательный результат иссле­дования выдают через 7 суток при отсутствии роста на всех питательных средах.

Для приготовления мазков отделяемого ран используют тампоны, которыми забирают и переносят материал на стекло. Мазки окраши­вают по Граму. При микроскопии мазков от­мечают морфологию и количество микробов. Выделяемые при эго особенности могут вне­сти коррекцию в ход исследования – исполь­зование дополни тельных питательных сред.

Экссудат берут, соблюдая правила асептики, пунк­цией полостей и отсасывают содержимое с помощью шприца. Из шприца материал переносят у пламени газовой горелки в стерильный анаэробный транспор­тный флакон и отправляют в лабораторию

В лаборатории прозрачную жидкость центрифуги­руют 15–20 мин при 3000 об/мин и осадок использу­ют для посева и приготовления мазков. При гнойном характере экссудата готовят тонкие мазки для мик­роскопии без предварительного центрифугирования. Посев проб производят на кровяной агар, сахарный бульон, среду для анаэробов. Кроме того, использу­ют специальные питательные среды в зависимости от особенностей источника выпота. Плевральный выпот чаше всего наблюдается у больных с тубер­кулезом легких, поэтому после центрифугирования осадок дополнительно засевают на среды для куль­тивирования туберкулезной папочки или заражают патологическим материалом морскую свинку. При эмпиемах частым возбудителем может быть пнев­мококк, стрептококк группы А, стафилококк, ана­эробы, а следовательно, необходимо сделать посев на соответствующие элективные питательные среды. При исследовании синовиальной жидкости следует использовать питательные среды для выделения го­нококков.

Интерпретация полученных данных обыч­но не представляет трудности, так как при ус­ловии соблюдения правил асептики во время взятия материала из закрытых полостей и из глубины гнойных ран выделенные микро­бы являются возбудителями данного гнойновоспалительного процесса.

При выделении ассоциаций микробов из раневого отделяемого ведущее значение в течении раневого процесса следует отдавать видам, количественно преобладающим в дан­ном микробиоценозе. Уровень обсемененности тканей в ране, равный 105 КОЕ/г явля­ется критическим. Превышение этого уровня указывает на большую вероятность развития гнойной инфекции и возможность генерали­зации процесса. При обсмененности менее 105 КОЕ/г ткани раны заживают без явлений нагноения.