

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.

Проф.А.А.Кадырова

Клиническая микробиология

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

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.**

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

Условно-патогенные микроорганизмы

- К условно-патогенным микроорганизмам 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.

Внутрибольничные инфекции

- Внутрибольничные инфекции (также госпитальные, нозокомиальные) — согласно определению ВОЗ, любые клинически выраженные заболевания микробного происхождения, **поражающие больного в его госпитализации или посещения лечебного учреждения** с целью лечения, либо после выписки из больницы (например, раневая инфекция), а также **больничный персонал в силу осуществления им деятельности**, независимо от того, проявляются или не проявляются симптомы этого заболевания во время нахождения данных лиц в стационаре.
- Инфекция считается внутрибольничной, если она **впервые проявляется через 48 часов или более** после нахождения в больнице, при условии отсутствия клинических проявлений этих инфекций в момент поступления и исключения вероятности инкубационного периода.
- На английском языке такие инфекции называются nosocomial infections, от др.-греч. νοσοκομείον — госпиталь (от νόσος — болезнь, κομέω — забочусь).

Внутрибольничные инфекции, или инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМД)

- Внутрибольничные инфекции (ВБИ, синонимы: нозокомиальные инфекции, госпитальные инфекции) возникают вследствие заражения больных в стационарах.
- В настоящее время **в развитых странах** возникает примерно **5-12% госпитальных инфекций** по отношению к общему количеству госпитализированных больных.
- По данным экспертов ВОЗ, **в развивающихся странах** этот показатель в некоторых случаях превышает **40%!**
- Внутрибольничные инфекции в настоящее время в мире принято называть **инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМД)**,
- В США, по оценкам Центров контроля и профилактики заболеваний, около 1,7 миллиона случаев внутрибольничных инфекций, вызванных всеми типами микроорганизмов, приводят или сопутствуют 99 000 смертям ежегодно.
- В Европе, по результатам проведенных госпитальных исследований, смертность от внутрибольничных инфекций составляет 37 000 случаев в год, из них две трети вызваны грам-отрицательными микроорганизмами.

Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП)

- Проблема ИСМП неразрывно связана с формированием и широким распространением **госпитальных штаммов возбудителей ИСМП, обладающих тотальной резистентностью к антибиотикам и дезинфицирующим средствам**, что существенным образом влияет на качество лечения пациентов и эффективность профилактических мероприятий. При этом, как правило, случаи ИСМП связаны с нарушениями требований санитарных правил и нормативов, санитарно-противоэпидемического и дезинфекционно-стерилизационного режимов.
- ИСМП чаще всего встречаются у людей с ослабленным иммунитетом. Конечно, у всех больных в той или иной степени снижены защитные функции организма, но есть лица, которые наиболее восприимчивы. К ним относятся: пожилые люди; новорожденные; пациенты с тяжелым течением основной патологии, хроническими и множественными сопутствующими заболеваниями и т.п.
- В целях предупреждения возникновения и распространения ИСМП в медицинских организациях должны своевременно и в полном объеме проводиться профилактические и санитарно-противоэпидемические мероприятия.

Возбудителями большей части ВБИ являются условно-патогенные бактерии.

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**.

Микроорганизмы — частые возбудители ИСМП

- Золотистый стафилококк
- Метициллин-резистентный золотистый стафилококк (MRSC)
- Энтерококки
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella pneumoniae*
- Карбопенем-резистентные энтеробактерии (КРЭ)
- *Clostridium difficile*
- Энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС)
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Acinetobacter baumannii*
- Ванкомицин-резистентные энтерококки
- Стрептококки
- *Candida albicans*

Эпидемиология ВБИ

Для возникновения ВБИ необходимо наличие следующих звеньев инфекционного процесса:

- источник инфекции (хозяин, пациент, медработник);
- возбудитель (микроорганизм);
- факторы передачи;
- восприимчивый организм.

Источниками в большинстве случаев служат:

- медицинский персонал;
- носители скрытых форм инфекции;
- больные с острой, стёртой или хронической формой инфекционных заболеваний, включая раневую инфекцию.
- Посетители стационаров очень редко бывают источниками ВБИ.

Факторами передачи чаще всего выступают пыль, вода, продукты питания, оборудование, медицинские инструменты и иные fomиты.

- **Ведущими путями заражения** в условиях ЛПУ являются контактно-бытовой, воздушно-капельный и воздушно-пылевой. Также возможен парентеральный путь (характерно для гепатитов В, С, D и др.)
- **Механизмы передачи инфекции:** аэрозольный, фекально-оральный, [контактный](#), гемоконтактный.

Источники внутрибольничных инфекций



Эндоскопическое оборудование



Стоматологический кабинет

Основные резервуары микроорганизмов в медицинской организации

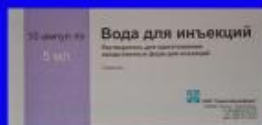
Дыхательная аппаратура

- Синегнойная палочка



Жидкости для внутривенного вливания

- Энтеробактерии



Вода

- Энтеробактерии
- Синегнойная палочка
- Атипичные микобактерии



Источники внутрибольничных инфекций



Любое медицинское оборудование или аппаратура



Основные резервуары условно-патогенных микроорганизмов в теле медработника



Руки

1. энтеробактерии
2. синегнойная палочка
3. золотистый стафилококк
4. эпидермальный стафилококк

Носовая полость

1. Золотистый стафилококк
2. Эпидермальный стафилококк



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**.

Основные группы нозологических форм внутрибольничной инфекции

- Внутрибольничные инфекции, как правило, присоединяются к основным заболеваниям или впервые возникают у новорожденных детей.
- Различают следующие 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 длительным лечением антибиотиками, гормонами.**

Диагностический процесс в клинической микробиологии

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.**

Правила забора, хранения и транспортировки материала (1)

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.

Правила забора, хранения и транспортировки материала (2)

- 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.

Методы лабораторной диагностики заболеваний инфекционной природы (1)

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

- 1) **микроскопические методы** (в том числе, бактериоскопический), базирующиеся на прямом наблюдении возбудителя в патологическом материале с помощью различных приемов микроскопии;
- 2) **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;
- 3) **методы, позволяющие обнаружить в исследуемом материале продукты, синтезированные микроорганизмами** (например, летучие жирные кислоты при диагностике инфекций, обусловленных неспорообразующими анаэробами или токсины, при диагностике ботулизма);
- 4) **иммунологические методы** поиска антигенов возбудителей в исследуемом материале;
- 5) **генетические методы**, основанные на обнаружении нуклеиновых кислот возбудителя в пробе.

Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов:

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.**

Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов:

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

Бактериологическое исследование по дням (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

Бактериологическое исследование по дням (1-й день исследования)

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 Щукевича)** — для выделения протей;
- **среда Китта-Тароцци** — для выделения анаэробов;
- **среда Сабуро** — для выделения грибов.

Бактериологическое исследование по дням (1-й день исследования)

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.

Бактериологическое исследование по дням (2-й день исследования)

1. **Проводят учет роста** на питательных средах как однородный или неоднородный. В результате роста на питательной среде образуются колонии (потомки одной клетки).

2. **Отбирают изолированные колонии** и изучают их — начинается второй этап исследования, направленный на **изучение культуральных свойств бактерий**. Каждому виду микроорганизмов при росте на определенной питательной среде соответствуют определенные культуральные свойства. Проводят описание культуральных свойств.

3. Алгоритм описания колоний:

- величина колоний (крупные, средние, мелкие, карликовые);
- форма колоний (правильная, неправильная, круглая); •прозрачность колоний (прозрачная, непрозрачная).
- цвет (бесцветные или окрашенные);
- характер поверхности (гладкая, бугристая, блестящая, шероховатая);
- высота колоний над поверхностью среды (вдавленная, плоская, возвышающаяся).
- край (ровный, неровный);
- структура (гомогенная, негомогенная);
- консистенция (мягкая, слизистая, сухая)

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

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

Бактериологическое исследование по дням (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.

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

За. 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.

Бактериологическое исследование по дням (4-й день исследования)

1. Проводят **учет результатов биохимических тестов**.
2. 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.
3. 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.
4. **Внутривидовая дифференциация** — определение принадлежности штамма к тому или иному фаговару, бактериоциногеновару, бактериоциновару, 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.

Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов:

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.
- **Иммуноферментный анализ (ИФА).** Метод основан на использовании меченных ферментом сывороток. Индикацию образовавшихся комплексов проводят по химической реакции между ферментом и субстратом, сопровождающейся изменением цвета. Для проведения анализа используют твердофазный носитель с сорбированным Аг или Ат. Реакцию можно ставить для обнаружения как Аг, так и Ат.
- **Радиоиммунный метод.** В основе радиоиммунного анализа (РИА) лежит использование Ат, меченных радиоактивной меткой. Как и реакция иммунофлюоресценции, радиоиммунный анализ может быть проведен в прямом и непрямом вариантах для обнаружения Аг.

Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов:

молекулярно-генетические исследования

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

Методы лабораторной диагностики заболеваний инфекционной природы (2)

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

Реакции иммунитета — реакции между антигеном (Аг) и антителом (Ат). 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.

Методы выявления активного иммунного ответа в виде нарастания титра антител к возбудителю (серодиагностика)

Основные виды серологических реакций, применяемых при диагностике инфекционных заболеваний:

- ❑ **Реакция агглютинации** — склеивание и осаждение микроорганизмов, эритроцитов или других клеток при действии на них специфических Ат в присутствии электролита.
- ❑ **Пассивная (непрямая) гемагглютинация** — взаимодействие Ат (Аг) с Аг (Ат), предварительно адсорбированными на поверхности эритроцитов.
- ❑ **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.
- ❑ **Реакция торможения пассивной (непрямой) гемагглютинации.** РТПГА используют для обнаружения Аг возбудителей в исследуемом материале при добавлении к нему диагностической иммунной сыворотки.

Методы выявления активного иммунного ответа в виде нарастания титра антител к возбудителю (серодиагностика)

- **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.
 - **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.
 - **Иммуноэлектрофорез.** Иммуноэлектрофорез основан на электрофоретическом разделении Аг в геле с последующей их преципитацией Ат иммунной сыворотки. Иммуноэлектрофорез 23 позволяет провести углубленный анализ и идентификацию отдельных Аг в многокомпонентных системах
- **Иммуноблоттинг.** 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. Если образуется комплекс Аг—Ат—антисыворотка к иммуноглобулинам, на носителе появляются окрашенные пятна.

Методы выявления активного иммунного ответа в виде нарастания титра антител к возбудителю (серодиагностика)

- **Реакция иммунного лизиса.** Реакция основана на том, что Ат-лизины способны растворять микроорганизмы только в присутствии комплемента.
- **Реакция связывания комплемента.** Реакция связывания комплемента (РСК) — сложная, многокомпонентная реакция, состоящая из двух систем:
 - первая система (тест-система): $Ag + At + \text{комплемент}$, где Ag или At — неизвестный компонент;
 - вторая система (индикаторная, или гемолитическая, система): эритроциты барана + гемолитическая сыворотка.
- **Иммуноферментный анализ (ИФА).** Метод основан на использовании меченных ферментом сывороток. Индикацию образовавшихся комплексов проводят по химической реакции между ферментом и субстратом, сопровождающейся изменением цвета. Для проведения анализа используют твердофазный носитель с сорбированным Ag или At . Реакцию можно ставить для обнаружения как Ag , так и At .

Микробиологические методы в диагностике оппортунистических инфекций

- **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 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**.
- 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**.

Анализ результатов исследований включает оценку:

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

Критерии этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов

Критерии этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов 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.

- ▶ **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.

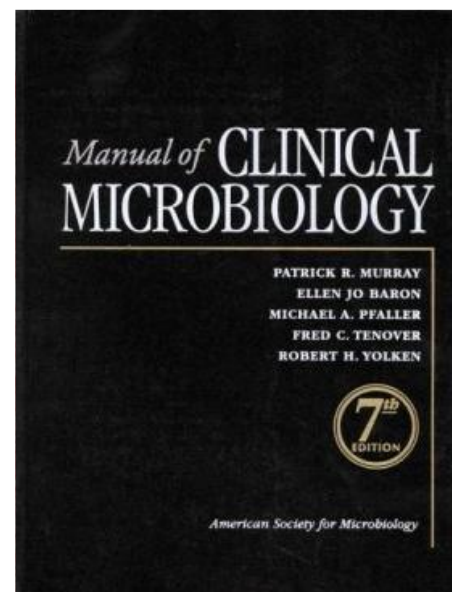
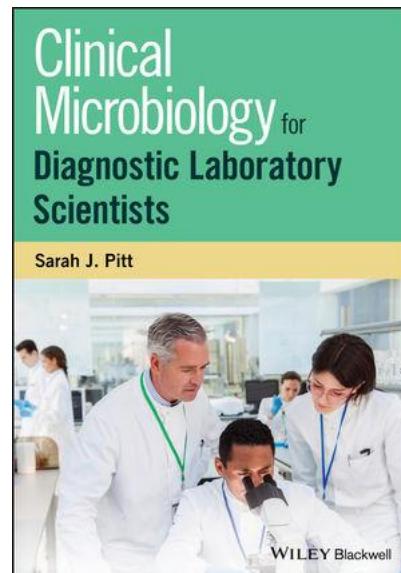
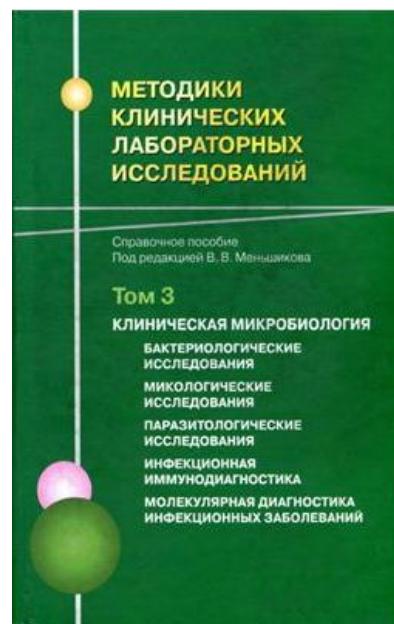
ВЫСШЕЕ ОБРАЗОВАНИЕ

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

С. В. Лелевич
О. М. Волчкевич
Е. А. Сидорович



E.LANBOOK.COM



Классификация ВБИ

По характеру и длительности течения:

Острые;
Подострые;
Хронические.

По степени тяжести:

Тяжелые;
Средне-тяжелые;
Легкие формы клинического течения.

В зависимости от степени распространения инфекции:

Генерализованные инфекции:

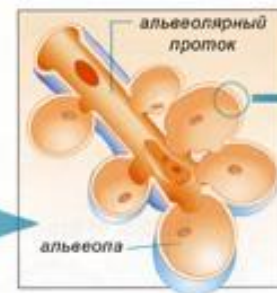
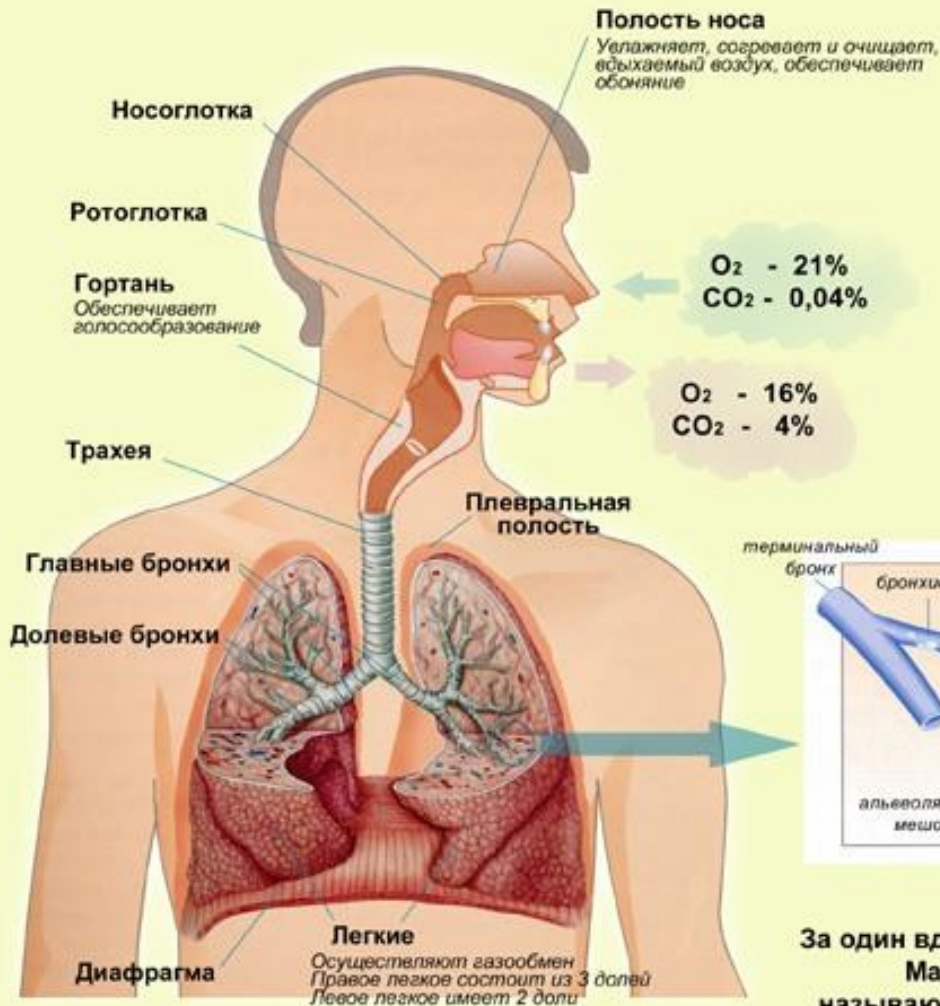
бактериемия (виремия, микемия),
септицемия,
септикопиемия,
токсико-септическая инфекция (бактериальный шок и др.).

Локализованные инфекции

Инфекции кожи и подкожной клетчатки,
Респираторные инфекции
Инфекции глаза, ЛОР-инфекции
Стоматологические инфекции
Инфекции пищеварительной системы
Урологические инфекции
Инфекции ЦНС
Инфекции сердечно-сосудистой системы
и др.

Респираторные инфекции

ДЫХАТЕЛЬНАЯ СИСТЕМА



Частота дыхания в покое составляет 16 раз в минуту
За один вдох в легкие попадает около 500 мл воздуха (дыхательный объем)
Максимальное количество воздуха, которое можно вдохнуть называют жизненной емкостью легких. Она составляет от 3,5 до 5 литров

ДЫХАТЕЛЬНЫЕ ПУТИ

Дыхательные пути – это совокупность органов, подводящих воздух к альвеолам

Верхние дыхательные пути:

Носовая и ротовая полость

Носоглотка

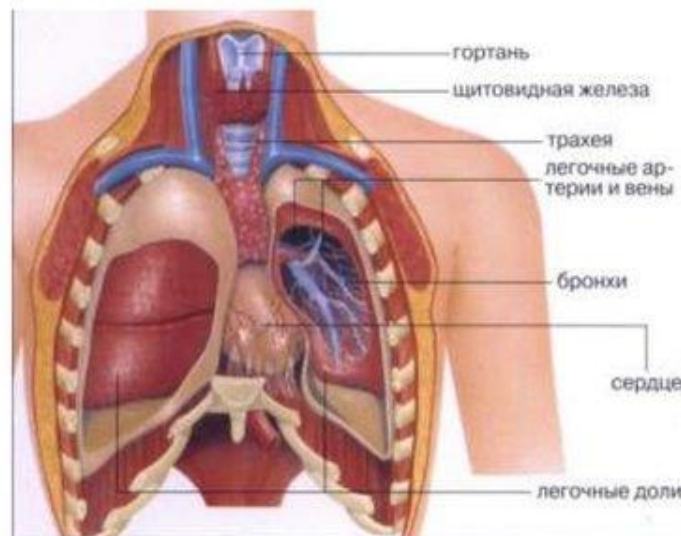
Глотка

Нижние дыхательные пути:

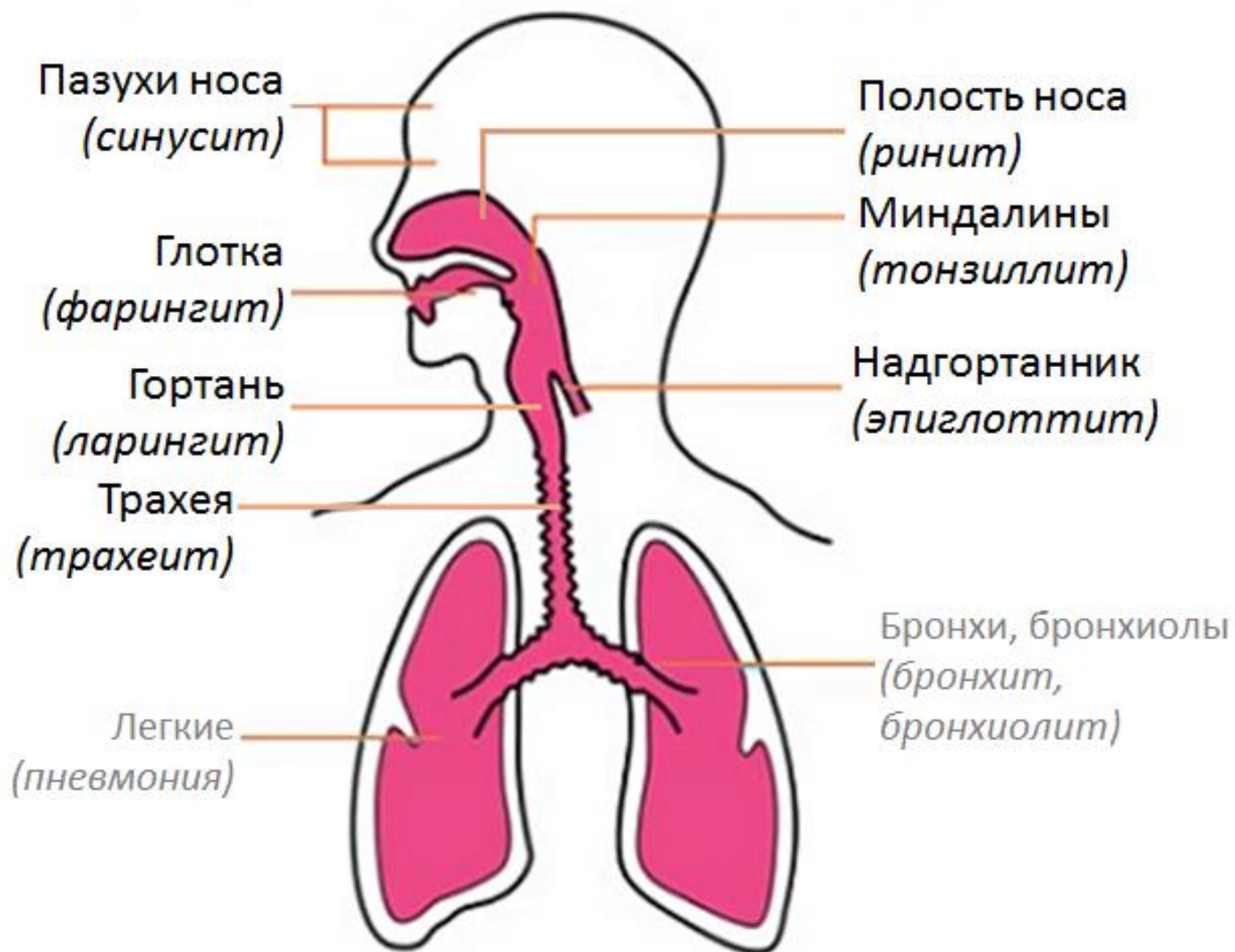
Гортань

Трахея

Бронхи



Легкие - бронхиальное древо, в котором каждая бронхиола заканчивается пузырьком – альвеолой (здесь и происходит газообмен)



Острый ринит

- ♦ Воспалительный процесс слизистой оболочки носа, который может распространяться на носовую часть глотки.



Фарингит -

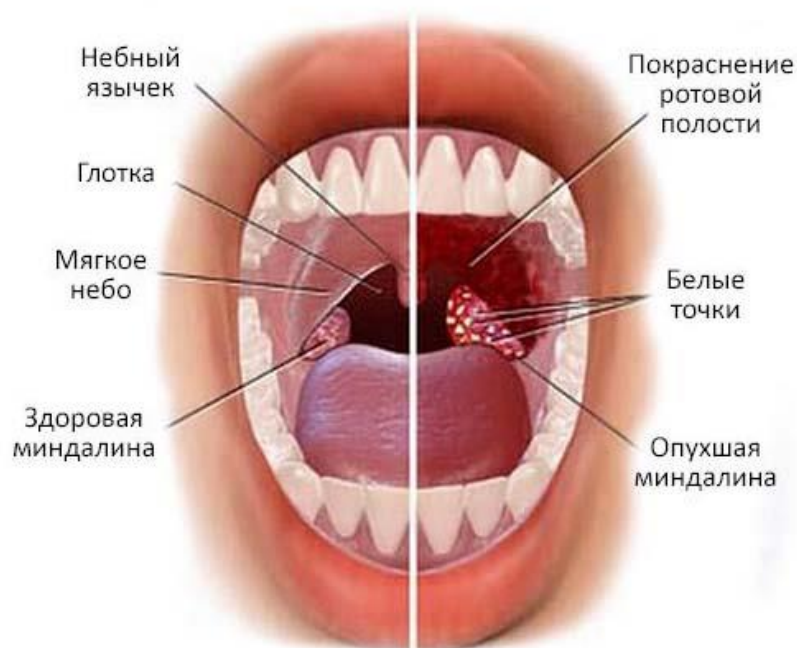
воспаление слизистой оболочки глотки

- Ощущение першения, сухости в горле
- Болезненность при глотании
- Сухой кашель



Норма

Тонзиллит



Эпиглоттит-

острое бактериальное воспаление, захватывающее надгортанник и ткани гортаноглотки и сопровождающееся жизнеугрожающей обструкцией верхних дыхательных путей.

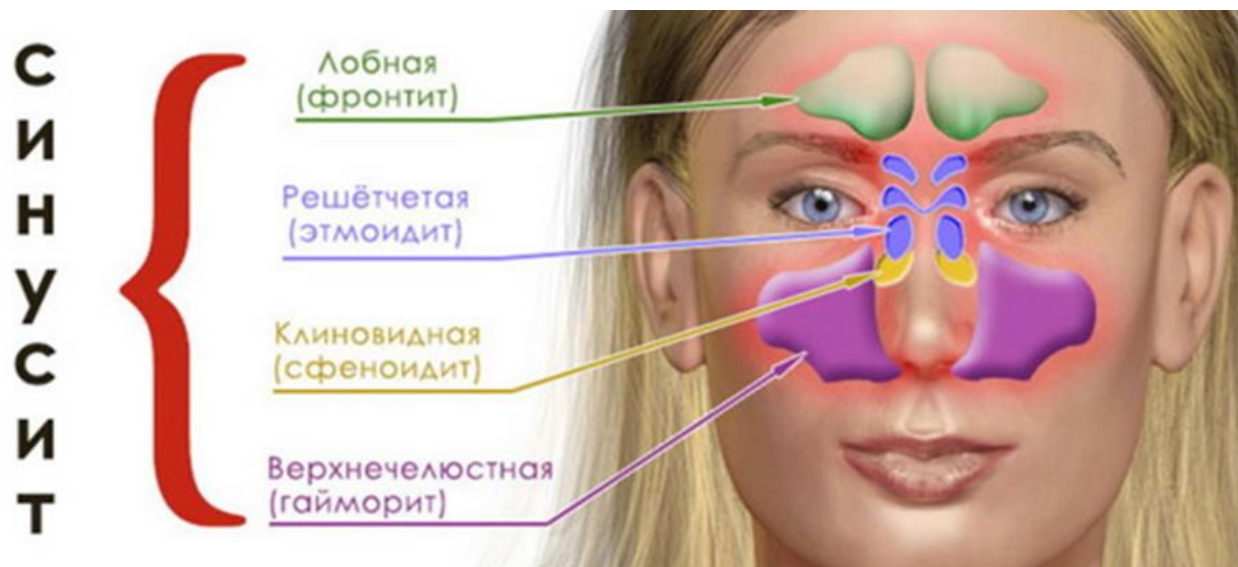
Эпидемиология:

встречается в основном у детей 2- 5 лет, но болеют им и более старшие дети, и взрослые.



Синусит

Синусит - воспаление пазух носа, причиной которого становятся бактерии, вирусы, грибки или аллергены. Синусит может затронуть одну или несколько пазух, быть одно или двухсторонним, протекать в острой, хронической форме.



По локализации области воспаления к синуситу относят:

- фронтит (воспалительный процесс в лобных пазухах)
- гайморит (воспаление верхнечелюстной пазухи);
- сфеноидит (воспаление клиновидной пазухи);
- этмоидит (воспаление решетчатого лабиринта).

Микробиология инфекций верхних дыхательных путей

- **Риниты и гаймориты** - аденовирусы, риновирусы, коронавирусы и др.
- **Катаральные фарингиты** - орто - и парамиксовирус, аденовирус, коронавирус, простой вирус герпеса и вирус Коксаки
- **Гнойный фарингит** - примерно в 90% случаев вызывается *S. pyogenes*, в других случаях - *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *C. diphtheria*, *B. pertussis*, *H. influenzae* и др.
- **Ринофарингит** - *N. meningitidis*, другие бактерии рода *Neisseria*
- **Эпиглоттит** – *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *S. aureus*

ИНФЕКЦИИ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

- **Патогены высокого уровня приоритетности:**
 - *Str. pyogenes* (группа А)(глотка)
 - *Str. pneumoniae* (уши и синусы)
 - *Haemophilus influenzae* (уши и синусы)
- **Патогены среднего уровня приоритетности:**
 - *St. aureus* (уши и синусы)
 - *Candida albicans* (ротоглотка)
 - *Branchamella catarrhalis* (уши и синусы)
- **Патогены низкого уровня приоритетности:**
 - Грам (-) палочки и *Pseudomonas spp.* (уши)
 - *Neisseria meningitidis*(назофаренгиальное носительство)
 - *Neisseria gonorrhoeae* (гонококковый фарингит)

Правила забора патологического материала при диагностике инфекций верхних дыхательных путей

Материал для исследования при инфекциях верхних дыхательных путей:

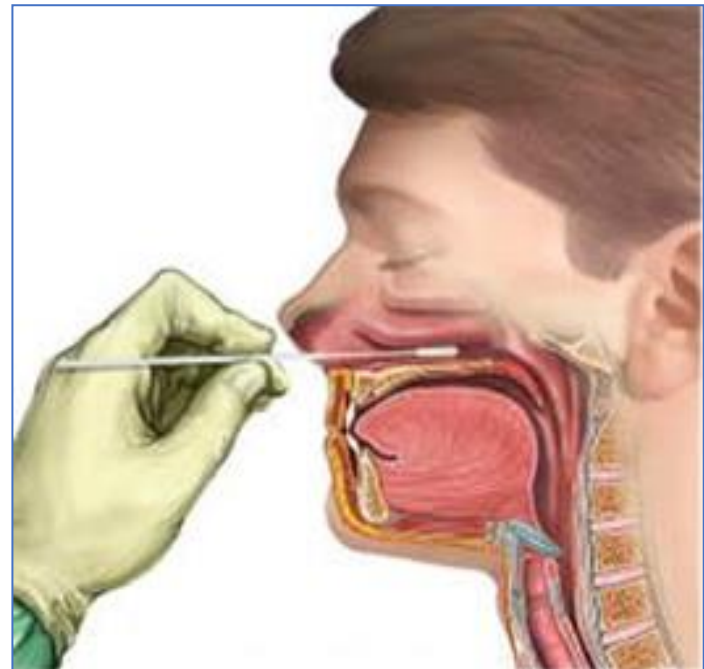
- Мазок из носовых путей
- Мазок из зева
- Мазок из носоглотки
- Содержимое синусов



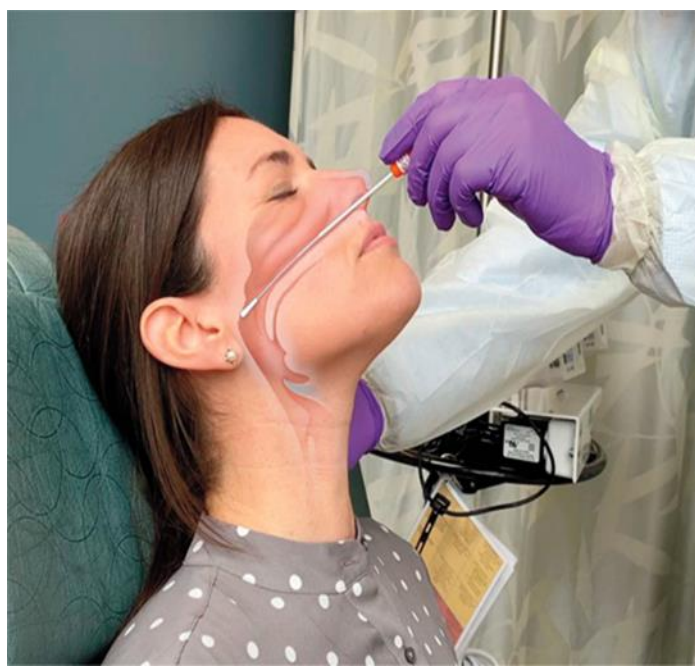
Материалы для микробиологической диагностики при заболеваниях верхних дыхательных путей в основном получают стерильным тампоном. Отделяемое из носа берут стерильным ватным тампоном, который вводят в глубь полости носа. Материал из носоглотки берут стерильным заднеглоточным тампоном, из зева — увлажненным 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.

Получение материала из полости носа

Материал из носовой полости получают путем введения ватного тампона в носовую полость сначала в вертикальном, а затем в горизонтальном направлении.



Получение материала из носоглотки и зева



Материал извлекается из носоглотки стерильным заднеглоточным тампоном, а из зева - ватным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. В этом случае язык следует зафиксировать шпателем, а тампон не должен касаться других участков слизистой оболочки полости рта.

Техника взятия мазка из зева



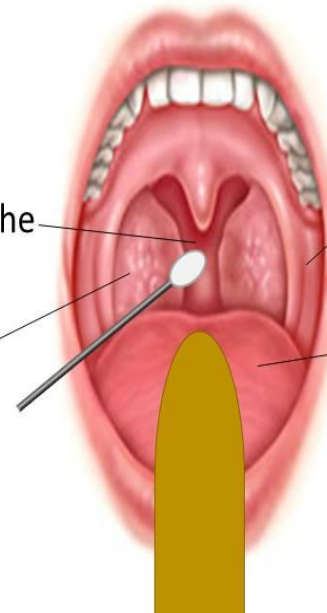
MyShared

GOOD:

- ✓ Back of the throat
- ✓ Tonsils

UNSUITABLE:

- ✗ Sides of the mouth
- ✗ Tongue

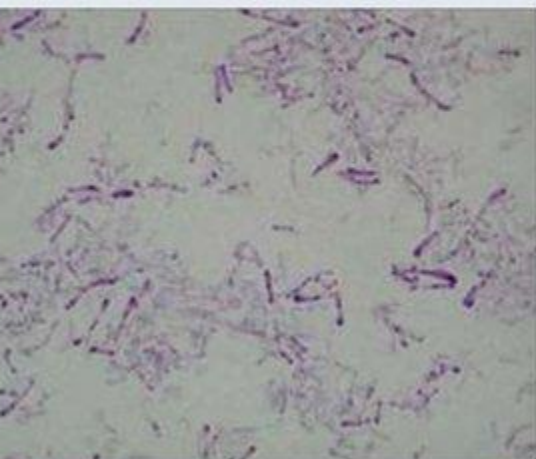


Методы микробиологической диагностики инфекций верхних дыхательных путей

- **Микроскопический** (малоинформативен, из-за присутствия нормальной микрофлоры)
- **Культуральный** - посев на среду (бактерии) или на культуру клеток, заражение лабораторных животных (вирусы)
- **Серологический** -
 - Метод иммунофлюоресценции
 - Реакции иммунодиффузии
 - Реакции пассивной гемагглютинации (РПГА)
 - Реакции торможения гемагглютинации (РТГА)
 - РСК, ИФА
- **Молекулярно-генетический** - ПЦР



Бактериоскопическое исследование



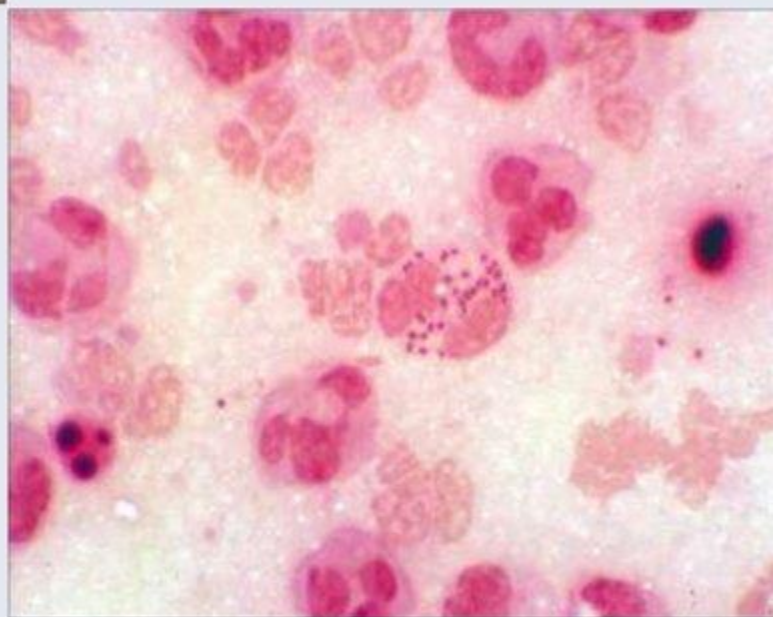
C. diphtheriae окраска по
Ффлеру



C. diphtheriae окраска по
Нейссеру



S. pneumoniae в гное. Окраска по Граму. Вокруг

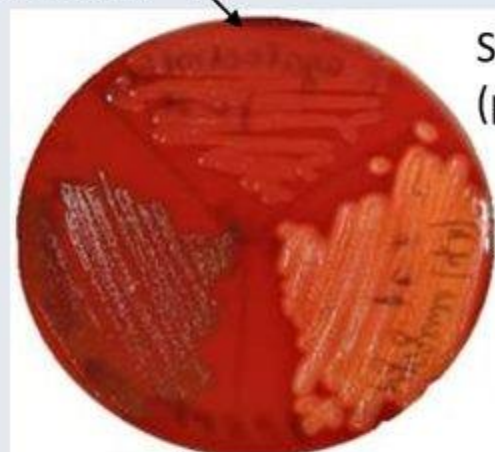


N. meningitidis в гное. Окраска по Граму. Внутриклеточное расположение

Этапы бактериологического исследования

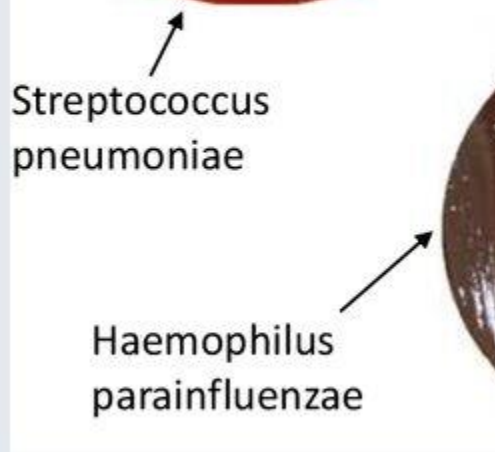
Культивирование проб

бета-гемолитические
стрептококки



Streptococcus gr.A
(*pyogenes*)

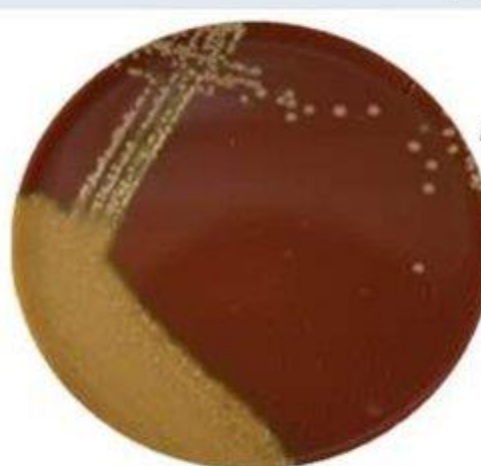
Streptococcus
pneumoniae



Haemophilus
parainfluenzae



Haemophilus
influenzae



Moraxella *catarrhalis*

Corynebacterium
diphtheriae



Этапы микробиологического исследования

Определение чувствительности к антибиотикам для клинически значимых культур



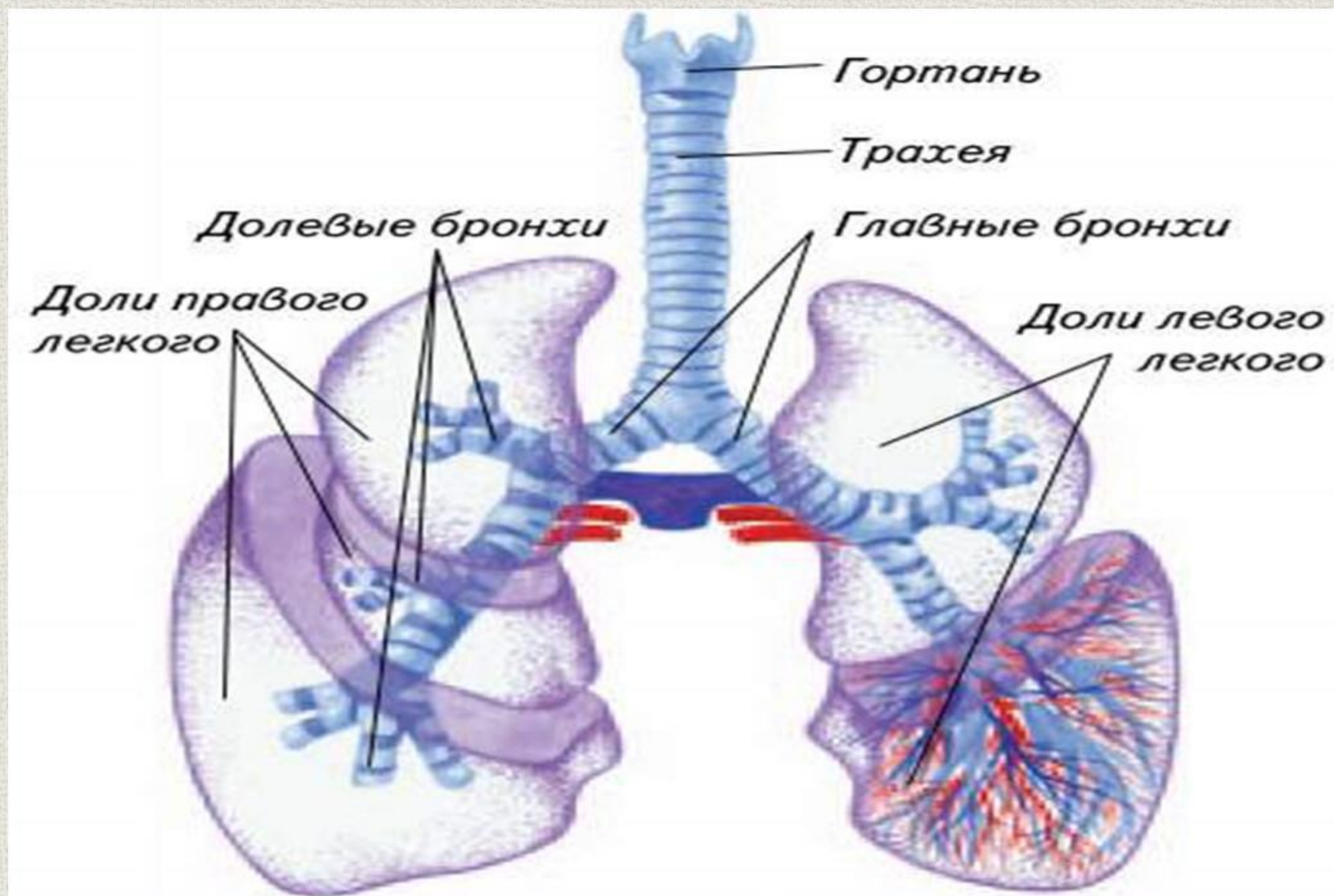


Заболевания нижних дыхательных путей считаются более серьезными, так как часто протекают с осложнениями.

Например:

бронхит, бронхиальная астма, пневмония, хроническая обструктивная болезнь лёгких (ХОБЛ), туберкулез.

Нижние дыхательные пути



К инфекциям нижних дыхательных путей относятся:

Ларингит.

Воспаление слизистых оболочек гортани и голосовых связок

Трахеит.

Острый воспалительный процесс слизистой оболочки трахеи, приводящий к отеку, скоплению слизи и приступам сухого кашля.

Острый, хронический или обструктивный бронхит.

Воспаление бронхиального дерева в острой форме либо атрофия ткани или слизистых оболочек легких.

Бронхиолит.

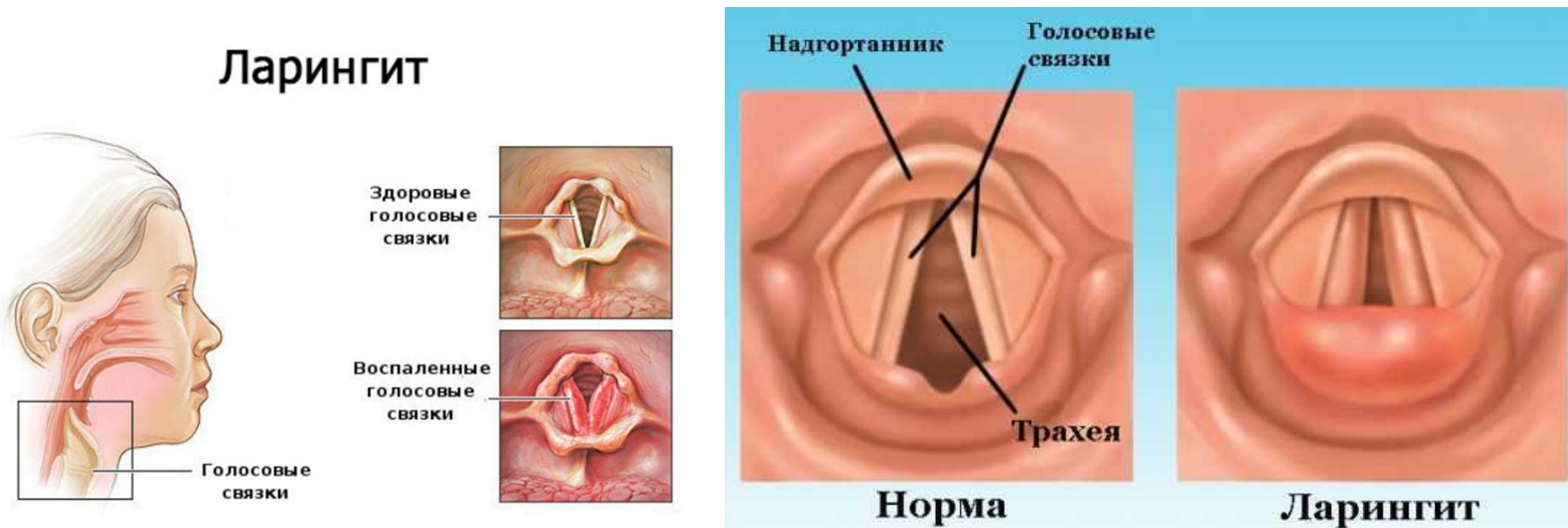
Воспаление мелких бронхов с их частичной или полной непроходимостью.

Пневмония.

Опасная болезнь, при которой возникает одностороннее или двустороннее воспаление легочной ткани.

Ларингит

Ларингит — воспаление слизистых оболочек гортани и голосовых связок. Воспаление имеет острое или хроническое течение и характеризуется выраженными симптомами: болью, сухостью, ощущением комка в горле, приступами «лающего» кашля, осиплостью или утратой голоса.



Трахеит

Трахеит – это воспалительный процесс в слизистой оболочке трахеи. Воспалительный процесс редко поражает только трахею, обычно он распространяется на окружающие органы – например, на гортань и/или бронхи. Наиболее частыми причинами развития трахеита и ларинготрахеита у детей являются **вирусы гриппа, парагриппа, метапневмовирус, респираторно-синцитиальный вирус, коронавирус, аденовирус, риновирус**. Гораздо реже встречаются бактериальные поражения трахеи, обусловленные **гемофильной палочкой или золотистым стафилококком**. У взрослых стенозирующий ларинготрахеит встречается реже, но вызывают его те же вирусы.

Трахеит - воспаление трахеи

О поражении трахеи свидетельствуют:

- приступы «царапающего» кашля
- повышение температуры
- першение в горле
- затрудненное дыхание
- жжение в грудной клетке



2. Бронхиты

ОСТРЫЙ БРОНХИТ -

это острое диффузное воспаление слизистой оболочки бронхов преимущественно инфекционной этиологии, сопровождающееся кашлем (обычно с отделением мокроты), а при поражении мелких бронхов и одышкой.



ЭТИОЛОГИЯ БРОНХИТОВ

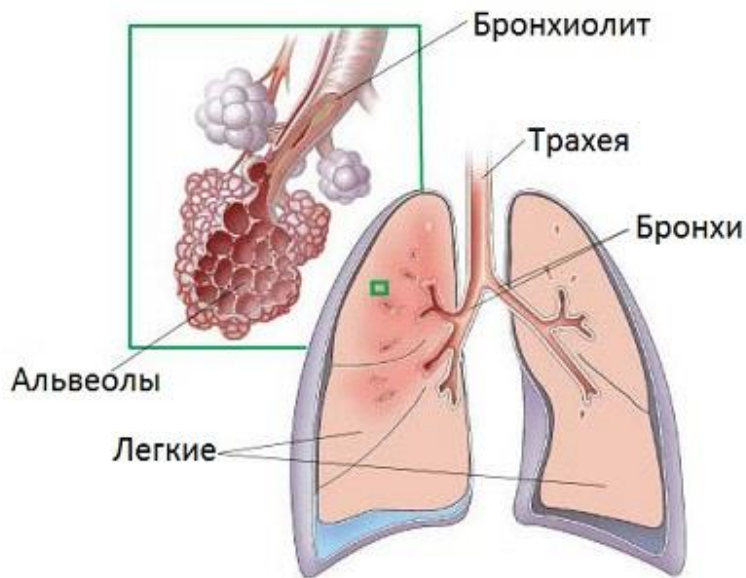
Возбудители	Представители	7
Вирусы	Парагрипп 1 и 3 типа РС-вирус Аденовирус Риновирус Коронавирус Вирус гриппа Цитомегаловирус Энтеровирус Вирус герпеса Вирус кори и др.	
Внутриклеточные возбудители	Mycoplasma pneumoniae – до 20-25% случаев Mycoplasma hominis Chlamydia trachomatis Chlamydophila pneumoniae – до 7% случаев	
Бактерии	Strept. pneumoniae Haemoph. Influenzae Moraxella catarrhalis Staph. aureus Streptococcus Enterococcus Klebsiella pneumoniae Pseudomonas aeruginosa	
Грибы	Candida albicans Aspergillus	

Бронхиолит

Бронхиолит — это воспаление стенок бронхиол, обусловленное вирусной или бактериальной инфекцией.

Бронхиолы представляют собой конечные ветви бронхиального дерева, переходящие в альвеолярные ходы легких. Бронхиолы не имеют хряща, их диаметр не более 1 мм. Их функция — распределять воздушных поток, поступающих в легкие и контролировать сопротивление ему.





Этиология бронхиолита

Причинами большинства случаев бронхиолита являются:

- Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ)
- Риновирус
- Вирус парагриппа 3-го типа

Менее частыми причинами являются:

- вирусы гриппа А и В,
- вирусы парагриппа 1-го и 2-го типов,
- метапневмовирус человека,
- аденовирусы и
- Mycoplasma pneumoniae*.

Чаще всего это заболевание встречается у детей в возрасте до двух лет, пик заболеваемости приходится на возраст два-шесть месяцев.

Пневмония

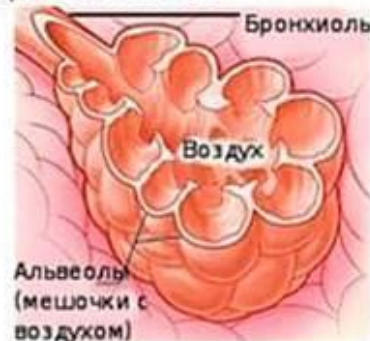
Пневмон́ия, воспаление лёгких — воспаление лёгочной ткани обычно инфекционного происхождения с преимущественным поражением альвеол (развитием в них воспалительной экссудации).

Пневмонии, вызванные инфекциями, являются формой острой респираторной инфекции, затрагивающей лёгкие.

Основными возбудителями пневмонии являются **бактерии и вирусы**, реже её вызывают **микоплазмы, грибы и паразиты**.

Пневмония является причиной смертности 15 % детей до 5 лет во всём мире. От пневмонии умирает каждый 64-й заболевший этой опасной болезнью. Пневмония даёт опасные осложнения различным органам заболевшего человека.

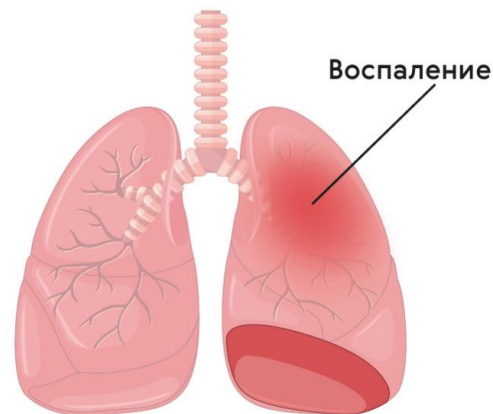
Здоровое легкое



Пневмония



Причины пневмонии



-  Streptococcus pneumoniae
Бактериальная пневмония
-  Histoplasma
Грибковая пневмония
-  Adenoviruses
Вирусная пневмония
-  Ascaris
Паразитарная пневмония

Иллюстрация: МедПортал

Микроорганизмы - возбудители пневмоний

- **Бактериальная пневмония** - грамположительными бактериями (*S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *S. aureus*), грамотрицательными бактериями (*K. pneumoniae*, *E. coli*).
- **Вирусная пневмония** - развивается постепенно, имеет атипичное течение и обычно осложняется вторичной бактериальной пневмонией. Вирусная пневмония в основном вызывается **RS-вирусом, аденовирусом, вирусами гриппа и парагриппа**. В относительно редких случаях его вызывают герпесвирусы, риновирусы, корь, краснуха, ЕСНО-вирусы, вирусы Коксаки и коронавирусы.
- **Атипичная пневмония** - вызывается *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia psittaci*, *Legionella pneumophila* и **вирусами**, в большинстве случаев она протекает легче, чем типичная (бактериальная) пневмония.

Внутрибольничные пневмонии

Частота больничной пневмонии достигает 20 % от числа всех больничных инфекций и наблюдается чаще у больных после операций на грудной или брюшной полости, у больных, которые находятся на искусственной вентиляции лёгких и у больных с иммунодефицитом.

По некоторым данным, почти 15% пациентов инфицируются во время оказания медицинской помощи.

До 86% случаев внутрибольничной пневмонии среди хирургических пациентов приходится на пациентов на ИВЛ.

Возбудитель

Частота

Pseudomonas aeruginosa

17 %

Staphylococcus aureus

13 %

Klebsiella pneumoniae

11,5 %

Escherichia coli

6,5 %

другие Грам (-) кишечные аэробные бациллы

до 14 %

Haemophilus influenzae

??

Pneumocystis carini

??

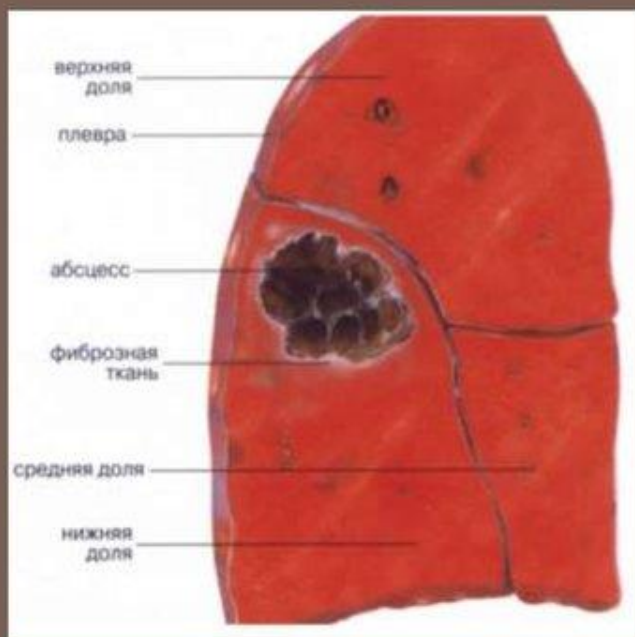
Mycoplasma pneumoniae

??

Legionella pneumophila

??

АБСЦЕСС ЛЁГКОГО – ЭТО ГНОЙНО-ДЕСТРУКТИВНЫЙ ОГРАНИЧЕННЫЙ ПРОЦЕСС В **ЛЕГКИХ**. ХАРАКТЕРИЗУЕТСЯ ОБРАЗОВАНИЕМ ОДНОЙ ИЛИ НЕСКОЛЬКИХ ПОЛОСТЕЙ С ГНОЙНЫМ СОДЕРЖИМЫМ В ЛЕГОЧНОЙ ПАРЕНХИМЕ, ОКРУЖЕННЫХ ГРАНУЛЯЦИОННОЙ ТКАНЬЮ, ЗОНОЙ ПЕРИФОКАЛЬНОЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ИНФИЛЬТРАЦИИ; ПРОТЕКАЕТ С ВЫРАЖЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ И ЛИХОРАДКОЙ.



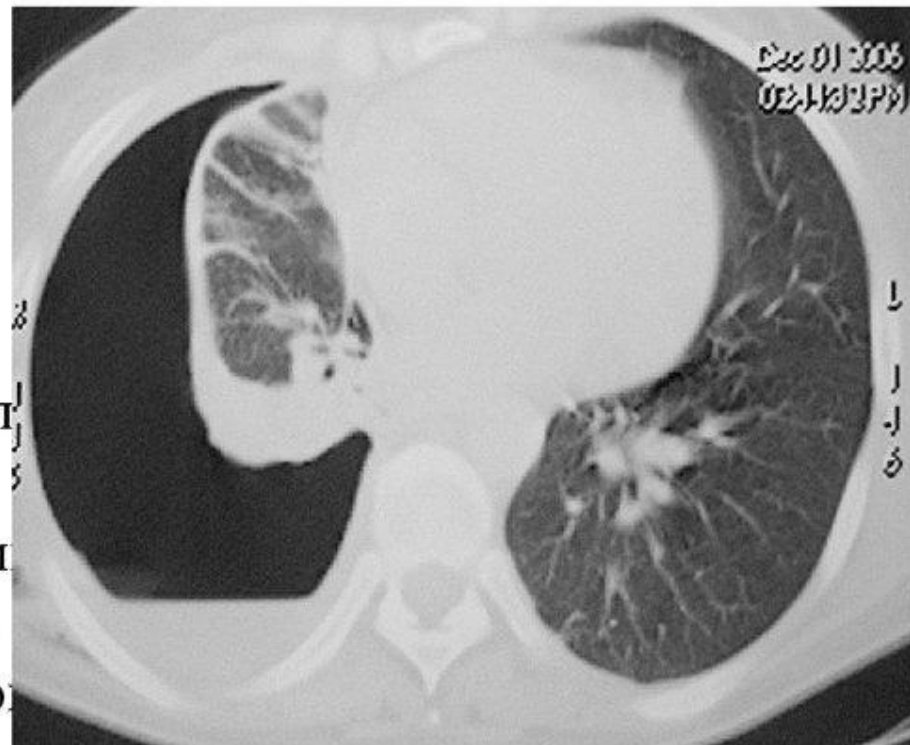
Возбудители

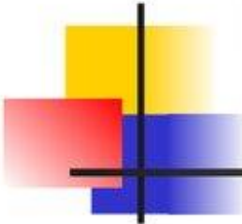
Острые абсцессы и гангрена легких чаще всего
вызываются :

- Стафилококком - гемолитический и золотистый стафилококк
- Грамотрицательной микробной флорой - Klebsiella, E.Coli, Proteus, Pseudomonas aeruginosa, Legionella pneumonia.
- Неклостридиальными формами анаэробной инфекции – Peptostreptococcus, Bacteroids melaningenicus, Bac. Fragilis, Fusobacterium nucleatum and necrophorum;
- Простейшие Paragonimus westermani, Entamoeba histolytica, микобактерия туберкулеза.

Эмпиема плевры

- Эмпиема плевры – это ограниченное или диффузное воспаление висцеральной и париетальной плевры с накоплением гноя в плевральных полостях, что сопровождается клиническими признаками гнойной интоксикации, а также острой дыхательной недостаточности.





Классификация

- По характеру возбудителя
 - 1) специфическую (туберкулезную, актиномикотическую)
 - 2) неспецифическую эмпиему плевры стафилококки, стрептококки, протей, синегнойная палочка, кишечная палочка, которые преимущественно находятся в ассоциации с неклостридиальной анаэробной микрофлорой: фузобактериями, бактероидами, пептококками, пептострептококками.
- Различают первичную и вторичную эмпиему плевры.

ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ ИНФЕКЦИЙ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

Патогены высокого уровня приоритетности

(кроме *Mycobacterium tuberculosis*)

Streptococcus pneumoniae

Haemophilus influenzae

Staphylococcus aureus

Klebsiella pneumoniae

Патогены среднего уровня приоритетности

Энтеробактерии

Candida albicans

Branhamella catarrhalis

Патогены низкого уровня приоритетности

Pseudomonas aeruginosa,

Legionella pneumophila,

Mycoplasma pneumoniae,

Chlamydia spp. и др.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

- **Макроскопическое исследование**
- **Микроскопическое исследование**
- **Культуральное исследование:**
 - а) **качественный подход**
 - б) **количественный подход**
- **Серологическое исследование**
- **Генетические методы исследования**

МАТЕРИАЛ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ИНФЕКЦИЯХ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

- Мокрота
- Трахеобронхиальный смыв (бронхиальный лаваж)
- Плевральный экссудат
- Пунктат из очага инфекции (с помощью трансторакальной пункции)
- Мазки-отпечатки тканей органов мертворожденных и абортированных плодов
- Кровь для серологического исследования

Этапы микробиологического исследования

Получение проб биоматериала (носоглоточные мазки, аспират из пазух, мазки и аспираты из уха, мокрота, промывные воды бронхов или трахеи)



МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА. ДИСБИОЗ.



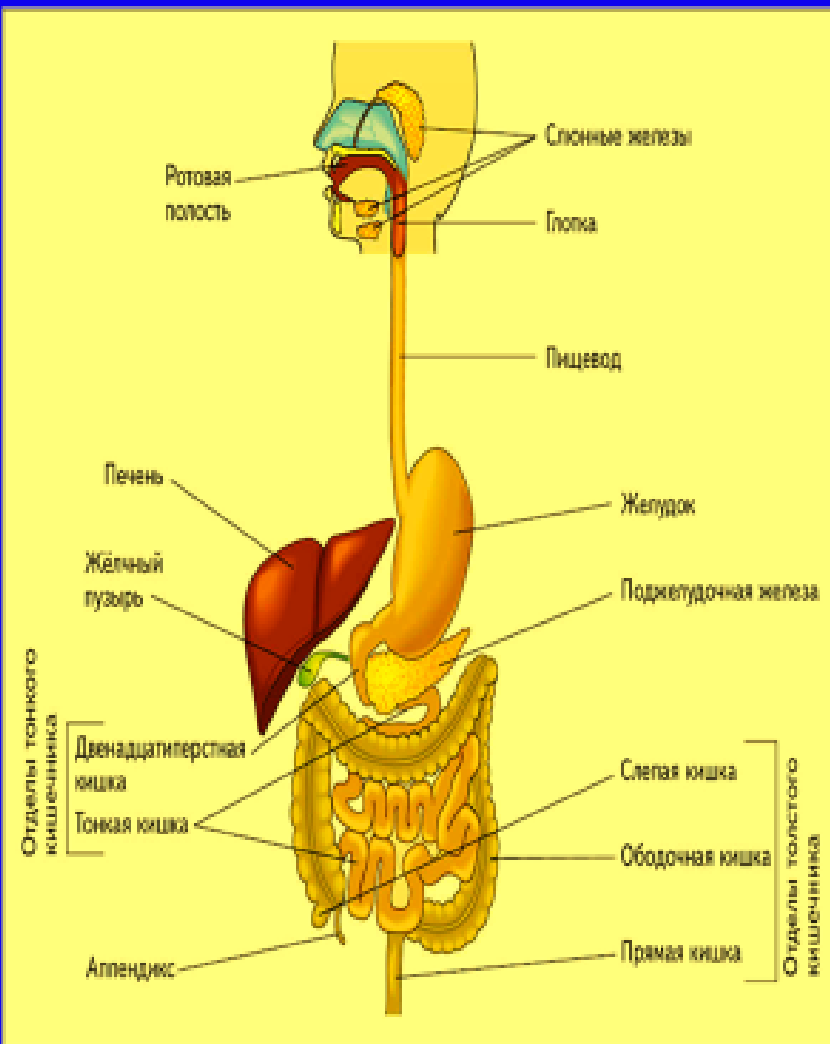
Общая характеристика желудочно-кишечных инфекций

Инфекционные заболевания человека, характеризующиеся преимущественным поражением ЖКТ и интоксикацией.

По оценке ВОЗ кишечные инфекции вызывают в мире ежегодно около **1 млрд. заболеваний**; составляют во многих странах **20-35% общей смертности**.

Заболевания передаются **фекально-оральным механизмом** передачи, характеризуются лихорадкой, симптомами общей интоксикации, поражением желудочно-кишечного тракта в виде **гастро-, энтеро-, колита** отдельно или их сочетания, а также некоторых систем и органов (нервной системы, лимфатических образований кишечника, гепатоспленомегалией, высыпаниями).

Виды заболеваний пищеварительной системы



Заболевания ротовой полости

- Кариес
- Стоматит
- Пульпит
- Гингивит
- Пародонтит
- Периодонтит

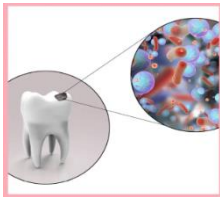
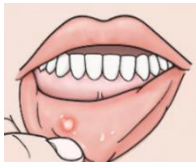
Заболевания желудка

- Гастрит
- Язвенная болезнь желудка
- Аденокарцинома желудка
- Лимфома желудка

Кишечник

- Энтерит
- Энтероколит
- Пищевые токсикоинфекции
- Эшерихиоз
- Дизентерия
- Сальмонеллез

Роль микроорганизмов в возникновении и развитии заболеваний ротовой полости (1)

Характер заболевания	Поражаемая ткань	Заболевание	Возбудитель или ассоциированные микроорганизмы
Невоспалительные одонтогенные инфекции	Твердые ткани зуба	Кариес 	Стрептококки (<i>S. mutans</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , вейлеллы, <i>S. mitis</i> биовар I, <i>S. gordonii</i>), актиномицеты, Лактобактерии
Воспалительные неodontогенные инфекции	Слизистая оболочка	Стоматит 	<i>Candida albicans</i> , герпес-вирусы, актиномицеты, стафилококки, гемофильные бактерии, кориниобактерии; при глубоком стоматите преобладают анаэробы
	Пульпа зуба	Пульпит 	Зеленящие стрептококки (<i>S. milleri</i>), лактобактерии, анаэробы (бактероиды, пептококки, пептострептококки, актиномицеты)

Роль микроорганизмов в возникновении и развитии заболеваний ротовой полости (2)

Воспалительные
неодонтогенные
инфекции

Ткани десны

Гингивит



Спирохеты, актиномицеты, кампилобактеры, *Prevotella intermedia*, пептострептококки, вейлонеллы, *Fusobacterium nucleatum*, множество нитевидных и грамотрицательных бактерий

Пародонт

Пародонтопатии



Острый пародонтит — *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga sputigena*, *Prevotella intermedia*. Хронический пародонтит — *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, спирохеты, пептострептококки, бактериоиды, стрептококки, стафилококки, энтеробактерии. В поддесневой части — нитевидные и жгутиковые бактерии

Периодонт

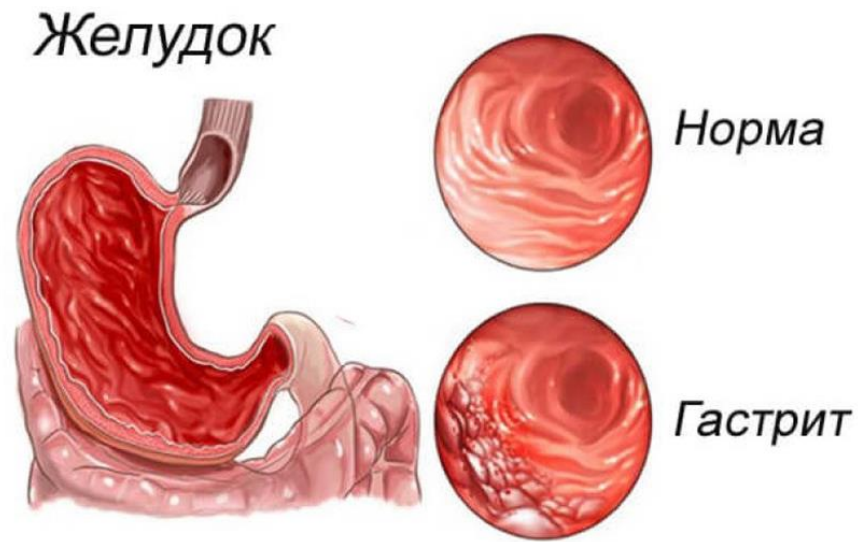
Периодонтит



Aggregatibacter actinomycetemcomitans (25–30%), *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Eubacterium* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces naeslundii*, *Treponema denticola*

Гастрит

Гастрит — воспалительные или воспалительно-дистрофические изменения слизистой оболочки желудка; длительно протекающее заболевание, характеризуется дистрофически-воспалительными изменениями, протекает с нарушением регенерации, а также с атрофией эпителиальных клеток и замещением нормальных желёз на фиброзную ткань.



Прогрессирование заболевания ведёт к нарушению основных функций желудка, прежде всего секреторной. Считается, что гастрит поражает около половины людей во всём мире. Частота заболеваемости увеличивается с возрастом.

Различают **острый и хронический гастриты**.

Острый и хронический гастрит



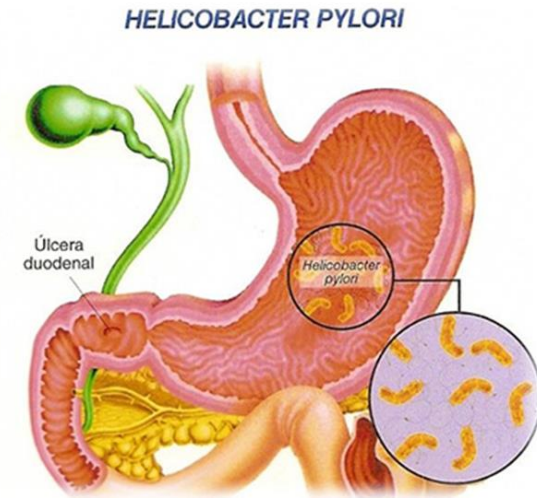
Острый гастрит - это остро возникшее воспаление слизистой оболочки желудка при воздействии раздражителя, т.е. попадание в желудок химически активных веществ (кислоты, щелочи), прием лекарственных препаратов (НПВС), отравление некачественной пищей и/или обсемененная зараженными микроорганизмами.

Хронический гастрит – воспаление слизистой оболочки желудка, сопровождающееся структурными (дистрофическими, воспалительными, дисрегенераторными) изменениями в ней, характеризующееся волнообразным течением – чередованием периодов ремиссии и обострения процесса. Без адекватного лечения прогрессирует и приводит к атрофии, дисплазии слизистой, становится основой для формирования злокачественной патологии желудка.

Хронический гастрит

Основными внешними (экзогенными) этиологическими факторами, способствующими возникновению хронического гастрита, являются:

- **наиболее существенный — заражённость желудка *Helicobacter pylori* и, в меньшей степени, другими бактериями или грибами;**
- вредные привычки: алкоголизм и курение;
- длительный приём лекарств, раздражающих слизистую оболочку желудка, в особенности, глюкокортикоидных гормонов и нестероидных противовоспалительных препаратов, ацетилсалициловой кислоты;
- воздействие на слизистую радиации и химических веществ;
- паразитарные инвазии (описторхоз, лямблиоз и т. п.);
- хронический стресс.



Причины развития гастрита

НОРМА

Соляная кислота
Пищеварительные
ферменты

Слизь

Слизистая
оболочка (СО)

Мышечная
пластинка СО

Подслизистая



ХРОНИЧЕСКИЙ ГАСТРИТ

Helicobacter Pylori
НПВС

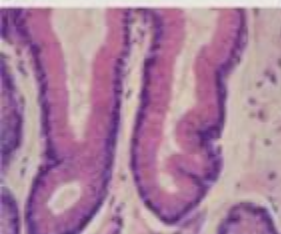
Курение и алкоголь
Повышенная кислотность
Дуоденогастральный рефлюкс
Другие внешние факторы



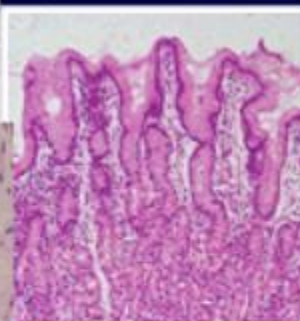
Течение гастрита

Helicobacter pylori

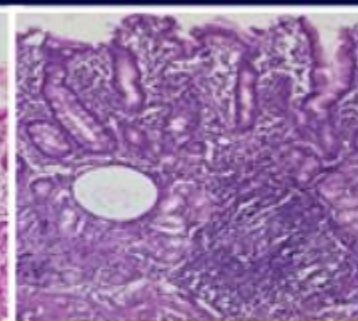
Рак
желудка



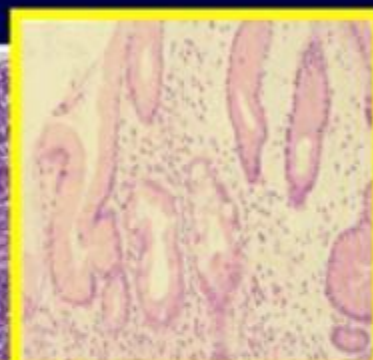
Нормальная
слизистая
желудка



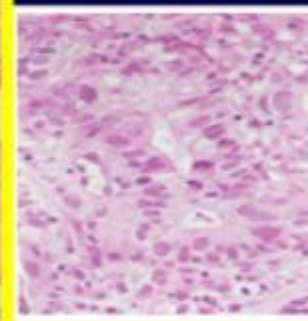
Поверхностный
гастрит



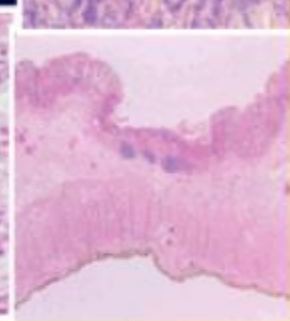
Атрофический
гастрит



Кишечная
метаплазия



Дисплазия



Ранний
рак

Ранние стадии

Воспаление
Усиление
пролиферации
Усиление апоптоза
Атрофия
Ахлоргидрия

Поздние стадии

Накопление генетических изменений
Бесконтрольный клеточный рост
Ослабление апоптоза
Инвазивный рост опухоли
Метастазирование

20

—

50 лет

Диагностика хронического гастрита

Этапы диагностики хронического гастрита:

Клиническая диагностика — анализируются жалобы больного, анамнез, данные осмотра пациента, высказывается предположительный диагноз и составляется рациональный план инструментального обследования.

Эндоскопическая диагностика с обязательной биопсией — уточняется наличие *Helicobacter pylori*, характер и локализация изменений слизистой оболочки желудка, наличие предраковых изменений слизистой оболочки желудка. Для биопсии берётся не менее чем 5 фрагментов (2 — из антрального отдела, 2 — из тела желудка, 1 — из угла желудка).

Дыхательная диагностика — уточняется наличие *Helicobacter pylori*. Данный метод предполагает приём пациентом мочевины нормального изотопного состава и последующее измерение концентрации аммиака с помощью газоанализатора.

Лабораторная — клинический анализ крови, биохимический анализ крови, клинический анализ мочи, клинический анализ кала, анализ кала на скрытую кровь, выявление инфекции *Helicobacter pylori*.

Диагностика инфицирования человека *H.pylori*

- **Биопсия** (взятие ткани и его **микробиологическое исследование**)
Требует эндоскопического зондирования и может приводить к повторному инфицированию вылеченного или здорового пациента.
- **Определение специфических антител** классов А и G в крови больного методом ИФА,
- **экспресс-тесты** - реакция преципитации или иммуноцитохимии с использованием капиллярной крови больного.
- **Анализ выдыхаемого человеком воздуха** (уреазный дыхательный тест регистрацией продуктов жизнедеятельности **Helicobacter pylori** (CO₂ и аммиак). Метод неинвазивный, однозначен, прост, безвреден, а также может показывать количественно уровень инфицирования.
- **ПЦР** в анализах кала, слюны, зубном налете



Кишечные инфекции

- **Кишечные инфекции** – одно из самых распространенных заболеваний в мире. Распространенность их среди населения чрезвычайно высокая, как в детской возрастной группе, так и у взрослых. Когда мы говорим о кишечной инфекции, то подразумеваем острое кишечное заболевание.
- **Острые кишечные инфекции (ОКИ)** – группа острых инфекционных заболеваний человека, вызываемых различными инфекционными агентами (преимущественно бактериями), с алиментарным механизмом заражения, проявляющиеся лихорадкой и кишечным синдромом с возможным развитием обезвоживания и тяжелым течением в детской возрастной группе и у пожилых людей.

- Острые кишечные инфекции (ОКИ) – группа заболеваний, основными клиническими проявлениями которых являются диарея и рвота.



Микрофлора кишечника

- **Микрофлора, населяющая кишечник** - бифидобактерии, лактобактерии, кишечные палочки, бактероиды, фузобактерии, пептококки. Облигатная флора составляет 95-98% от всех представителей.
- Другая группа микроорганизмов, населяющих кишечник, к которой относятся стафилококки, грибы, условно-патогенные микроорганизмы (клебсиеллы, стрептококки, протей, синегнойная палочка, клостридии и другие).
- Вся остальная флора, попадающая извне, называется патогенной и вызывает острую кишечную инфекцию.
- **Основные возбудители КИ:** бактерии (брюшной тиф, сальмонеллез, холера и т. д.), их токсины (ботулизм), а также вирусы (энтеровирус, ротавирус) и т. д.

Этиология ОКИ

- Воспалительные процессы в органах пищеварения могут быть вызваны представителями нормальной кишечной микрофлоры и внешними патогенами.
- **Острые кишечные инфекции (ОКИ) вызываются:**
Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca, Enterobacter cloacae, Serratia marcescens, Hafnia olvei, Arizona, Proteus mirabilis, Morganella morgani, Providencia rettgeri. Pseudomonas aeruginosa, Campylobacter jejuni, Plesiomonas shigelloides. Vibrio hemolyticus. Staphylococcus aureus, Enterococcus faecalis, E. faecium, Clostridium perfringens, C. difficile, Bacillus cereus.

Рисунок 1. Этиология ОКИ

Возбудители ОКИ

```
graph TD; A[Возбудители ОКИ] --> B[Бактерии: сальмонеллы, шигеллы, иерсинии, лептоспиры, микобактерии, гонококки, стафилококки, кишечная палочка, клостридии, кампилобактер]; A --> C[Вирусы: ротавирусы, аденовирусы, астровирусы, калицивирусы, вирусы Норфолк и Бреда, простого герпеса, цитомегаловирус, вирус гепатита А]; A --> D[Простейшие: дизентерийная амеба, лямблия, криптоспоридия, изоспоридия];
```

Бактерии:

сальмонеллы, шигеллы,
иерсинии, лептоспиры,
микобактерии, гонококки,
стафилококки, кишечная
палочка, клостридии,
кампилобактер

Вирусы:

ротавирусы, аденовирусы,
астровирусы, калицивирусы,
вирусы Норфолк и Бреда,
простого герпеса,
цитомегаловирус, вирус
гепатита А

Простейшие:

дизентерийная амеба,
лямблия, криптоспоридия,
изоспоридия

Эпидемиология

Источник инфекции

Больной

микробоноситель

Механизм

Фекально-оральный



Пути



Водный

Пищевой

Контактный

Аэрогенный

Восприимчивый организм

Клинические проявления ОКИ

Для практически любой кишечной инфекции характерно развитие 2-х основных синдромов, но в различной степени выраженности:

- **Инфекционно-токсического синдрома (ИТС)**, который проявляется температурой от субфебрильных цифр (37° и выше) до фебрильной лихорадки (38° и выше). При некоторых инфекциях температуры нет совсем (например, холера), также отсутствие температуры или небольшой кратковременный подъем характерен для пищевого отравления (стафилококкового, например). Температура может сопровождаться симптомами интоксикации (слабость, головокружение, ломота в теле, подташнивание, иногда на фоне высокой температуры рвота). Часто инфекционно-токсический синдром является началом острой кишечной инфекции длится до появления второго синдрома от нескольких часов до суток, реже дольше.
- **Кишечного синдрома**. Проявления кишечного синдрома могут быть разными, но есть схожесть симптоматики. Этот синдром может проявляться в виде **синдрома гастрита, гастроэнтерита, энтерита, гастроэнтероколита, энтероколита, колита**.

Микробиологическая диагностики ОКИ

- **Микроскопический метод** (при протозойных инфекциях)
- **Бактериологический метод** (посев материалов для исследования на специальные среды и выращивание колоний бактерий). Материалами могут быть испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, остатки пищи, пробы воды. Предварительный высеv и результат может быть выдан на 2е-3и сутки.
- **Вирусологический метод** (при вирусных инфекциях).
- **Серологические методы** (обнаружение специфических антител в крови) ИФА, РНГА – берутся обязательно парные сыворотки крови с интервалом в 10-14 дней.
- **Экспресс-методы** определения антигенов патогенов в патологическом материале – РИФ, ИФА
- **ПЦР диагностика** – определение нуклеиновой кислоты патогенов в патологическом материале.

Выбор метода лабораторного исследования при синдроме диареи (1)

Диагноз	Материал	Сроки взятия	Метод исследования	Лаборатория
Балантидиаз	Кал	С 1 дня болезни	Микроскопия	Лаборатории ЛПУ
Дизентерия	Кал	С 1 дня болезни	Стандартный бактериологический	Лаборатории ЛПУ
Иерсиниоз	Сыворотка крови	С конца 1 недели	Серодиагностика в РНГА	Лаборатории ЛПУ
	Кал, моча	1-6 дни болезни	Специальный бактериологический	
	Смывы из зева	1-3 дни болезни		
Иерсиниоз	Парные сыворотки крови	Конец 1 и 2-3 недели болезни	Серодиагностика в РНГА	Лаборатории ЛПУ
Кампило-бактериоз	Кал	С 1 дня до конца болезни	Специальный бактериологический	Лаборатории ЛПУ
Кишечный амебиаз	Кал	С 1 дня до конца болезни	Микроскопия	Лаборатории ЛПУ
Криптоспоридиоз	Кал	С 1 дня до конца болезни	Микроскопия	Лаборатории ЛПУ при наличии обученного персонала
ОКИ, обусловленные условно-патогенными бактериями	Кал	С 1 дня до конца болезни	Специальный бактериологический	Лаборатории ЛПУ
	Парные сыворотки крови	Конец 1 и 2-3 недели болезни	Определение АТ к аутоштамму для доказательства этиологической роли	

Выбор метода лабораторного исследования при синдроме диареи (2)

Диагноз	Материал	Сроки взятия	Метод исследования	Лаборатория
Пищевые токсико-инфекции	Рвотные массы, промывные воды, кал, пищевые продукты	С 1 дня до конца болезни	Специальный бактериологический	Лаборатории ЛПУ
Псевдо-мембранозный колит	Кал	С 1 дня до конца болезни	Выявление экзотоксина <i>C.difficile</i> по цитопатическому действию на культуре клеток, в ИФА, с помощью иммуно-хроматографии	Лаборатории НИИ
Ротавирусная инфекция	Кал	С 1 дня до конца болезни	Индикация вирусных Аг в РНГА, ИФА	Лаборатории ЛПУ при наличии препаратов
Сальмонеллез	Кровь	С 1 дня до конца лихорадки	Стандартный или специальный бактериологический	Лаборатории ЛПУ
	Кал, рвотные массы	С 1 дня болезни		
	Сыворотка крови	С конца 1 недели	Серодиагностика в РНГА	

Бактериологический метод

Основной метод – бактериологический:

Предварительный этап: для сальмонелл и шигелл предварительное накопление на жидких питательных средах (среды обогащения)

1 этап : Посев на плотные питательные среды Эндо, Левина, сальмонеллы и шигеллы – на среды Плоскирева, висмут-сульфит агар, сальмонелла-шигелла агар (содержат соли желчных кислот и др. для подавления роста кишечной палочки)

2 этап: Макро- и микроскопическое изучение колоний; постановка ориентировочной реакции агглютинации на стекле с поливалентной сывороткой (ОКА-коли, сальмонеллезной, дизентерийной). Материал из колонии, давшей положительную реакцию отсевают на свежий агар или дифференциально-диагностические среды (Клиглера).

Питательные среды для посева испражнений и условия их инкубирования

Питательная среда	Выделяемые микроорганизмы	Условия инкубации
Эндо	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>Escherichia</i> spp. и другие <i>Enterobacteriaceae</i>	Сутки при 37 °С и сутки при комнатной температуре (для обнаружения <i>Yersinia</i> spp.)
Плоскирева	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp., <i>V.parahaemolyticus</i>	2 суток при 37 °С с просмотром через 24 часа
Селенитовый бульон или Мюллера-Кауфмана или магниевая	<i>Salmonella</i> spp.	18-20 часов при 37 °С
Фосфатно-буферный раствор (ФБР) или забуференная пептонная вода или среда Серова или буферно-казеиново-дрожжевая среда	<i>Y.pseudotuberculosis</i> , <i>Y.enterocolitica</i>	До 15 суток и более в холодильнике при 6-10 °С
Элективные питательные среды с антибиотиками (Skirrow или Karmali или Blaser или др.)	<i>Campylobacter</i> spp.	2 суток при 42,5 °С в атмосфере: 5% O ₂ ; 10% CO ₂ ; 85% N
Щелочная пептонная вода и щелочной МПА или TCBS	<i>V.cholerae</i>	12-18 при 37 °С
Щелочной агар и среда Плоскирева и TCBS	<i>V.parahaemolyticus</i>	12-18 при 37 °С



Среда предназначена для выделения бактерий родов **Shigella** и **Salmonella**



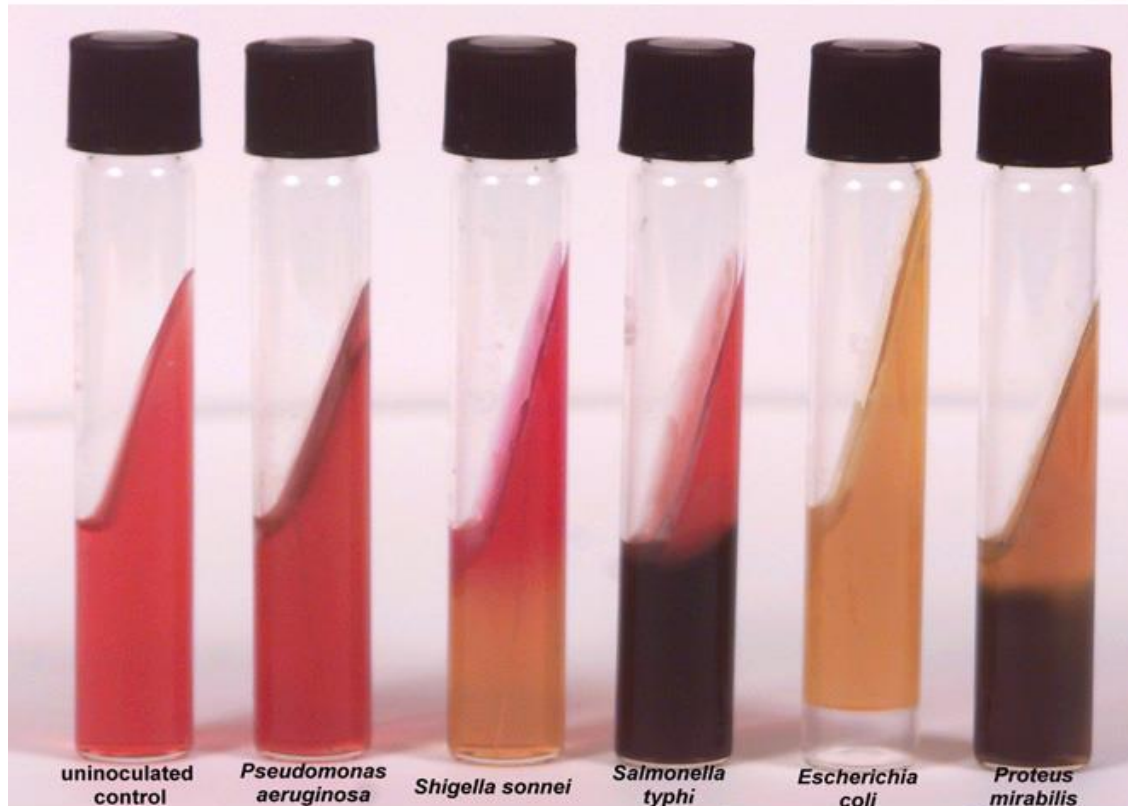
E. coli ферментирует лактозу



Salmonella и **Shigella**

не способны
Ферментировать
лактозу

Среда Клиглера



ASM MicrobeLibrary.org©Chamberlain

Содержит 1% лактозу, 0.1% глюкозу, тиосульфат натрия и сульфат железа, индикатор фенол рот.

Посев по поверхности и уколом в столбик агара. При ферментации только глюкозы – желтый столбик, скошенная часть не меняет окраску.

При ферментации и глюкозы, и лактозы (*E.coli*) – весь агар желтый

При образовании сероводорода (*сальмонеллы*, *протей*) – агар чернеет

Особенности лабораторного исследования при подозрении на ОКИ условно-патогенной этиологии

- ❖ исследование испражнений на условно-патогенные микроорганизмы должно проводиться параллельно с исследованием на максимально широкий перечень облигатно патогенных бактерий;
- ❖ для индикации возможно большего числа видов бактерий и грибов одновременно проводится посев на среду Эндо, 5% кровяной агар, желточно-солевой агар и агар Сабуро (стандартный набор);
- ❖ с целью определения количества отдельных видов условно-патогенных бактерий посев испражнений на все виды питательных сред проводится методом секторных посевов

Критерии для постановки диагноза «острая кишечная инфекция, обусловленная условно- патогенными микроорганизмами»

- ❖ Отсутствие специфических признаков заболевания, обусловленного патогенными микроорганизмами.
- ❖ **Обнаружение условно-патогенных микроорганизмов в испражнениях в количестве более 10^5 КОЕ/мл.**
- ❖ Повторное обнаружение того же микроорганизма в возрастающей концентрации.
- ❖
- ❖ Исчезновение условно-патогенного микроорганизма из фекалий или снижение его численности в результате проводимой терапии.
- ❖ Нарастание титра антител к данному условно-патогенному микроорганизму более чем в 4 раза при одновременном присутствии его в фекалиях в количестве более 10^5 КОЕ/мл.

Дисбактериоз кишечника

- ❖ Клинико-лабораторный синдром, связанный с изменением качественного и количественного состава микрофлоры кишечника с последующим развитием метаболических и иммунологических нарушений с возможным развитием желудочно-кишечных расстройств.

Количественное содержание различных представителей микробиоценоза кишечника

Группа микроорганизмов

Количество микроорганизмов в 1 г фекалий

	у взрослых	у детей
Бифидобактерии	$10^8 - 10^{10}$	$10^9 - 10^{10}$
Бактероиды	$10^8 - 10^{10}$	$< 10^8$
Молочнокислые палочки	$10^6 - 10^7$	$10^6 - 10^8$
Молочнокислый стрептококк	$10^6 - 10^7$	$10^7 - 10^8$
Энтерококки	$10^5 - 10^6$	$10^6 - 10^7$
Эшерихии:		
с нормальной ферментативной активностью	$10^7 - 10^8$	$10^7 - 10^8$
со сниженной ферментативной активностью	$10^6 - 10^7$	$10^6 - 10^7$
лактозонегативные	$10^6 - 10^7$	$10^6 - 10^7$
Микробы рода <i>Proteus</i>	$< 10^4$	$< 10^3$
Другие условно патогенные энтеробактерии	$< 10^4$	$< 10^4$
Стафилококки (сапрофитический, эпидермальный)	$< 10^4$	$10^4 - 10^6$
Дрожжеподобные грибы	$< 10^4$	$< 10^4$
Спороносные анаэробные палочки (клостридии)	$< 10^5$	-

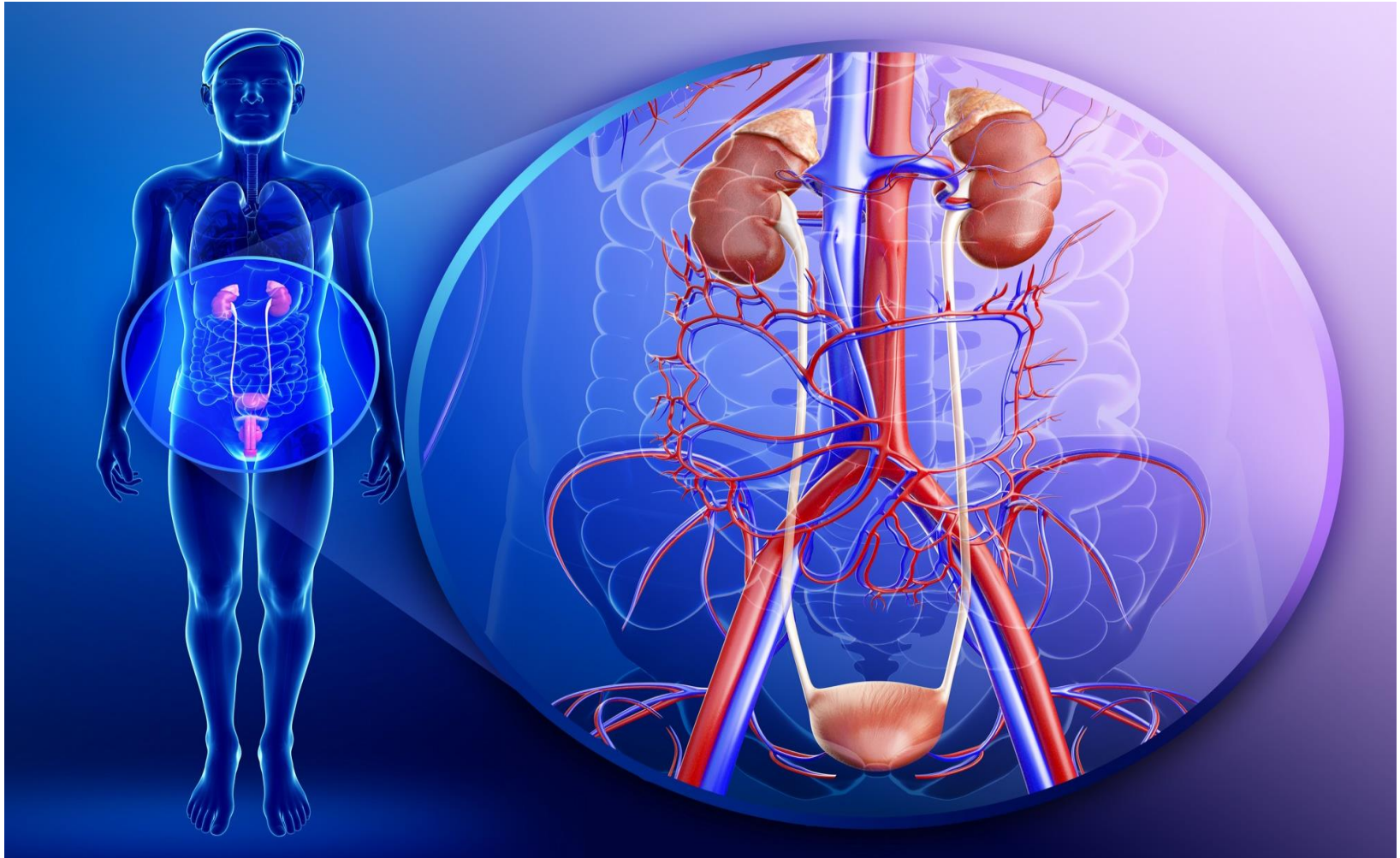
На дисбактериоз толстого кишечника указывают:

1. снижение количества бифидобактерий до уровня менее 10^8 КОЕ/мл
1. увеличение доли атипичных эшерихий до более чем 10%
2. появление гемолитической микрофлоры
3. увеличение числа условно-патогенных грамотрицательных палочек или *S.aureus* (более 10^4 КОЕ/мл)
4. увеличение числа грибов рода Кандида (более 10^3 КОЕ/мл)
5. увеличение до более $2 \cdot 10^8$ КОЕ/мл или снижение до 10^6 КОЕ/мл количества *E.coli*

Корррекция дисбиотических изменений

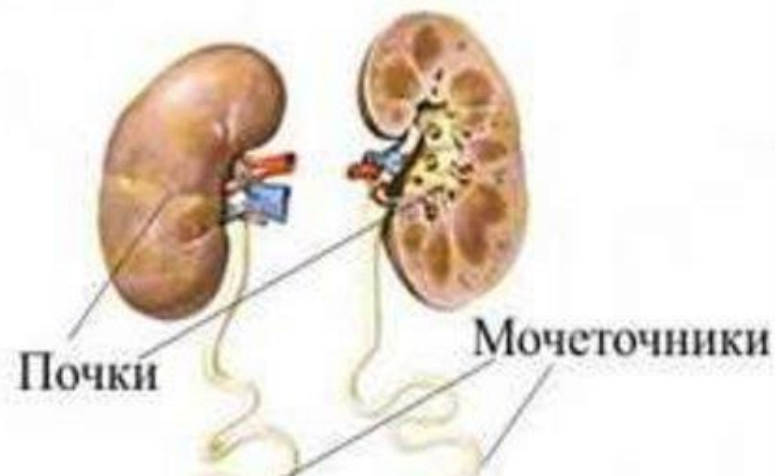
- **Пробиотики** – это живые, специально подобранные штаммы микроорганизмов или специфические субстанции микробного, растительного или животного происхождения. При естественном введении в организм они благоприятно влияют на его индигенную микрофлору, корригируя ее, в конечном итоге на физиологические функции и биохимические реакции хозяина.
- К наиболее известным в настоящее время такого рода препаратам относятся:
 - бифидумбактерин
 - колибактерин
 - бификол (комбинированный препарат из двух предыдущих)
 - эубактерин
 - лактобактерин
 - бактисуптил
 - энтерол

Микробиология и диагностика инфекций мочевыводящих путей



СТРОЕНИЕ МВП

- Чашечно-лоханочная система и мочеточник – парные органы и относятся **к верхним мочевым путям.**
- Мочевой пузырь и мочеиспускательный канал – одиночные органы – составляют **нижние мочевые пути.**



Инфекции мочевых путей



- Термином «**инфекция мочевых путей**» (**ИМП**) обозначают воспалительный процесс, локализующийся в различных отделах мочевыделительной системы.
- Выделяют инфекцию **нижних** (цистит, уретрит) и **верхних мочевых путей** (пиелонефрит, абсцесс и карбункул почки, апостематозный пиелонефрит).
- В структуре инфекционной заболеваемости ИМП занимает второе место и уступает лишь респираторным инфекциям.

Классификация инфекций мочевых путей



- **Неосложненные ИМП** (неосложненный цистит, неосложненный пиелонефрит у небеременных женщин без явных признаков анатомо-функциональных изменений);
- **Осложненные ИМП** (беременные женщины, все мужчины, лица с иммунодефицитом, люди с сахарным диабетом и др.);
- **Катетеро-ассоциированная инфекция;**
- **Уросепсис**

Этиология

Инфекция мочевыводящих путей может вызываться грамположительными и грамотрицательными бактериями, а также некоторыми грибами. Наиболее частым патогеном **является кишечная палочка (*Escherichia coli*), вызывая 75 % случаев неосложнённых инфекций и 65 % осложнённых.**

Неосложнённые инфекции чаще всего вызываются бактериями:

Klebsiella pneumoniae (в 6 % случаев),
Staphylococcus saprophyticus (6 %),
Enterococcus faecalis (5 %),
стрептококки группы В (3 %),
Proteus mirabilis (2 %),
Pseudomonas aeruginosa (1 %),
Staphylococcus aureus (1 %)
Грибки рода *Candida* (1 %)

В случае **осложнённых инфекций** наиболее распространены:

энтерококки (в 11 % случаев),
Klebsiella pneumoniae (8 %),
грибки рода *Candida* (7 %),
золотистый стафилококк (3 %),
Proteus mirabilis (2 %),
синегнойная палочка (2 %) и
стрептококки группы В (2 %).

Патогенез инфекций МВП

- У здоровых людей большинство уропатогенов попадает в мочевой пузырь из кишечной микрофлоры через уретру. Данный путь заражения известен как **восходящий**.
- Инфицирование почек через **гематогенный путь** (через кровоток) здоровым людям несвойственно. У пациентов с иммуносупрессией почечная паренхима может быть прорвана при bacterиемии золотистого стафилококка или при наличии грибов *Candida* в кровотоке. В редких случаях бактерии из соседних органов могут проникать в почки лимфогенным путём (через лимфатическую систему), например при абсцессах забрюшинного пространства или при тяжёлых кишечных инфекциях.
- На течение болезни может влиять множество факторов, которые включают в себя **особенности бактерий и работы иммунитета**, анатомические особенности, уродинамику и генетику. При этом возможна индивидуальная предрасположенность к инфекциям. Значимым фактором риска является **пузырно-мочеточниковый рефлюкс**, из-за которого моча вместе с патогенами может забрасываться назад к почкам, повышая шансы на развитие острого пиелонефрита даже в случаях бактерий, не обладающих какими-либо особыми факторами вирулентности.

Микробиология инфекций мочевыводящих путей

- Количество микроорганизмов в моче практически здоровых людей обычно не превышает 10^4 в 1 мл.
- Число микроорганизмов в 1 мл мочи, превышающее 10^5 , рассматривается как показатель инфекции мочевыводящих путей - клинически значимой бактериурии.
-
- Когда это состояние не сопровождается клиническими признаками, его называют бессимптомной бактериурией.
- Иногда многие заболевания и патологические процессы, не связанные с мочевыводящими путями, а также манипуляции могут сопровождаться транзиторной бактериурией.
- При отсутствии патологических процессов в мочевыводящих путях бактериурия обычно носит вторичный характер и при последующих обследованиях не выявляется.

Моча

Правила сбора материала

- ✓ При естественном мочеиспускании – утренняя средняя порция
- 3-20 мл
- Гигиенические процедуры
- ✓ Надлобковая пункция
- ✓ Катетеризация мочевого пузыря



Моча

Доставка в лабораторию

- Не более **2 часов** при комнатной температуре
- Не более **24 час** в условиях **холодильника** (+ 4° C)
- Использование **консерванта** (1% борная кислота) - не более **24 час** при комнатной температуре
- Устройства типа «**дипстрик**» - не более **24 час** при комнатной температуре

Моча

Сбор материала у детей



Моча

Методы исследования

- Бактериоскопический метод
Не менее 10^5 КОЕ/мл
- Бактериологический метод
«золотой стандарт»

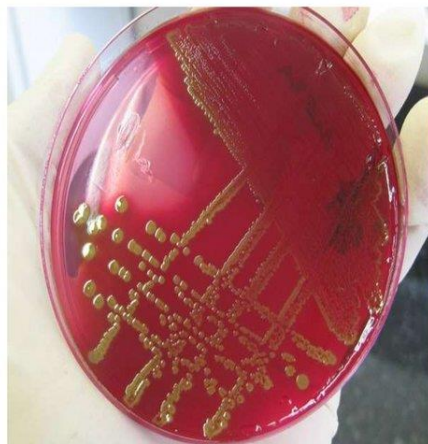
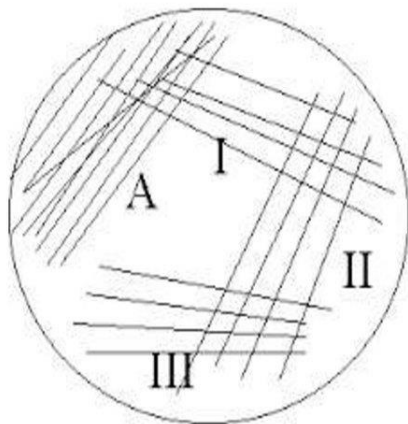
Методы бактериологического исследования мочи

включает следующие этапы:

- Приготовление мазков и окраска их по Граму.
- Скрининговые методы (ТТХ-тест, нитритный тест)
- Культивирование проб мочи, результаты скрининга которых оказались положительными, а также культивирование всех проб мочи, полученных с помощью цистоскопии, надлобковой пункции мочевого пузыря или катетеризации.
- Определение чувствительности к антибиотикам для клинически значимых культур.

Техника посева

Метод секторных посевов



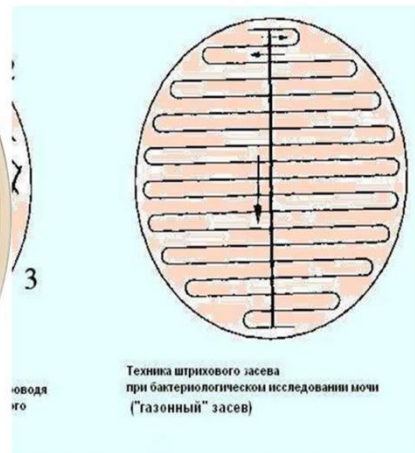
Степень бактериурии

Метод секторных посевов

Количество бактерий в 1 мл мочи	Число колоний в различных секторах чашки Петри			
	A	1-й	2-й	3-й
1000	1—6	Роста нет	Роста нет	Роста нет
3000	8—20	То же	То же	То же
5000	20—30	» »	» »	» »
10 000	30—60	» »	» »	» »
50 000	70—80	» »	» »	» »
100 000	100—150	5—10	» »	» »
500 000	Очень большое	20—30	» »	» »
1 000 000	То же	40—60	» »	» »
5 000 000	» »	100—140	10—20	» »
10 000 000	» »	Очень большое	30—40	» »
50 000 000	» »	То же	60—70	Единичные От единичных до 25
100 000 000	» »	» »	80—140	

Техника посева

Штриховой «газонный» посев



Степень бактериурии

Штриховой посев

Объем высеянной мочи, мкл	Число выросших колоний	Титр бактерий в моче, КОЕ/мл
1	1	1000
	10	10000
	100	100000
10	1	100
	10	1000
	100	10000
100	1	10
	10	100
	100	1000

Оценка результатов исследования при инфекциях мочевыводящей системы

Основная задача при интерпретации полученных данных заключается в доказательстве этиологической роли микроорганизмов, выделенных из мочи.

Учитывается целый комплекс тестов:

- степень бактериурии;
- вид выделенного микроорганизма;
- повторность его выделения в процессе заболевания;
- присутствие в моче монокультуры или ассоциации.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Количество микроорганизмов, не превышающее 10^3 клеток в 1 мл, свидетельствует о естественной контаминации мочи;
- Обнаружение микроорганизмов в количестве *от 10^3 до 10^5 клеток в 1 мл* рассматривается как сомнительный результат и требует повторения исследования.
- Обнаружение бактерий в количестве, превышающем 10^5 клеток в 1 мл, свидетельствует о наличии воспалительного процесса.

КАЧЕСТВЕННЫЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

- обнаружение эшерихий, протеев, синегнойной палочки, клебсиелл - неблагоприятный признак.
- находки дифтероидов, лактобацилл, грамположительных палочек свидетельствуют о загрязнении нормальной микрофлорой.

Воспалительные процессы в мочевыводящей системе могут протекать и при низких уровнях бактериурии:

- на фоне форсированного диуреза (низкий удельный вес мочи),
- на фоне антибиотикотерапии, в сочетании с низкими (менее 5) значениями рН мочи.

Обнаружение монокультуры в сочетании с высокой степенью бактериурии характерны для острого воспалительного процесса, ассоциации микроорганизмов более характерны для хронических процессов.

ЗППП – это Заболевания, Передающиеся Половым Путем.

В настоящее время известно более 25
таких заболеваний.



ЗППП
распространяются,
когда жидкости
организма
передаются от
одного человека к
другому при
сексуальных
контактах.

ПАПИЛЛОМАВИРУС

СИФИЛИС

КАНДИДОЗ

ЗППП

ЗАБОЛЕВАНИЯ, ПЕРЕДАЮЩИЕСЯ
ПОЛОВЫМ ПУТЕМ

ГЕРПЕС

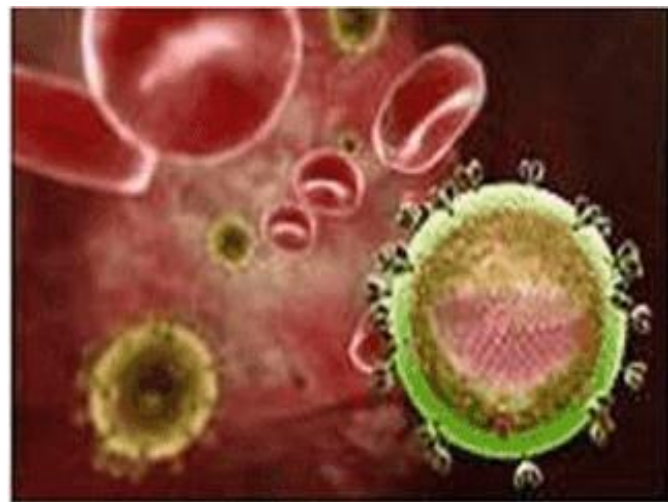
ГОНОРЕЯ

ТРИХОМОНИАЗ

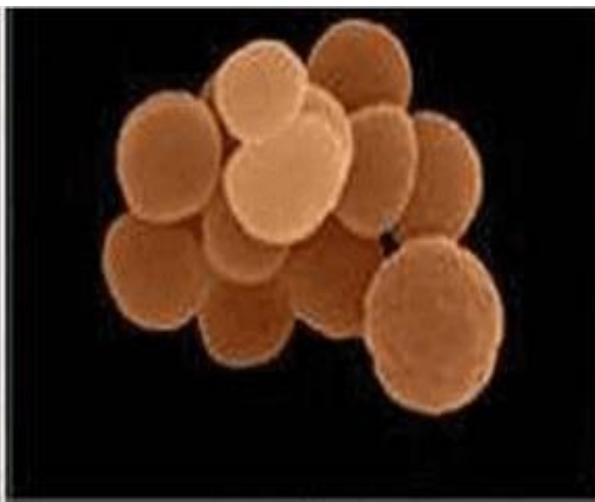
ХЛАМИДИОЗ



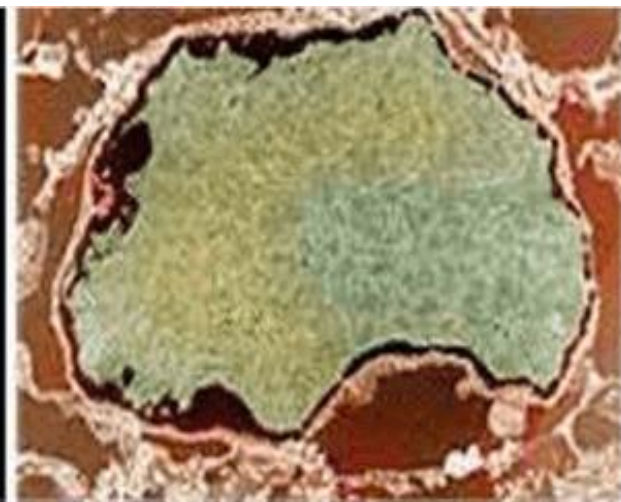
Инфекции, передающиеся половым путем



ВИЧ



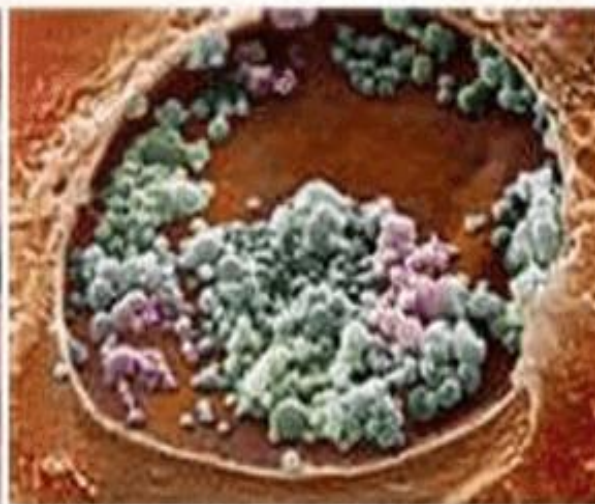
гонорея



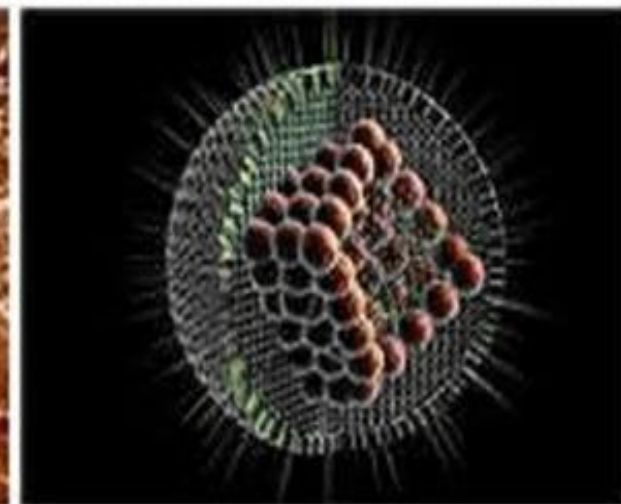
вирус папилломы человека (ВПЧ)



сифилис



хламидиоз



генитальный герпес

Микробиология заболеваний, передающихся половым путем

❖ Большинство возбудителей заболеваний, передающихся половым путем у мужчин, попадают в организм через слизистую мочевыводящих путей. В таких случаях развивается уретрит. ***Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Ureoplasma urealyticum*** – основные возбудители уретритов.

❖ Уретриты называются соответственно наименованиями возбудителя. Например, гонококковый уретрит, хламидийный уретрит и др. Термин «негонококковый уретрит» также используется для различения других уретритов, не связанных с гонококком.

Инфекции мужских половых органов

- **Простатит** – воспаление предстательной железы может быть неинфекционного или инфекционного происхождения. Инфекционные агенты попадают в предстательную железу обычно через мочеиспускательный канал.
- В ряде случаев возбудителями простатита могут быть возбудители инфекций мочевыводящих путей, особенно **энтеробактерии** (кишечная палочка, клебсиелла, род *Proteus* и др.), а также *P. aeruginosa*, энтерококки, *S. epidermidis*, грибы *Candida*.
- При венерических заболеваниях возбудители попадают в предстательную железу обычно восходящим путем. При уретрите возбудители могут попадать в заднюю уретру, в том числе в предстательную железу, и повреждать ее.
- Так, простатиты могут быть вызваны, микроорганизмами, передающимися половым путем, такими как **гонококки, трихомонады, хламидии** и др..

Инфекции женских половых органов

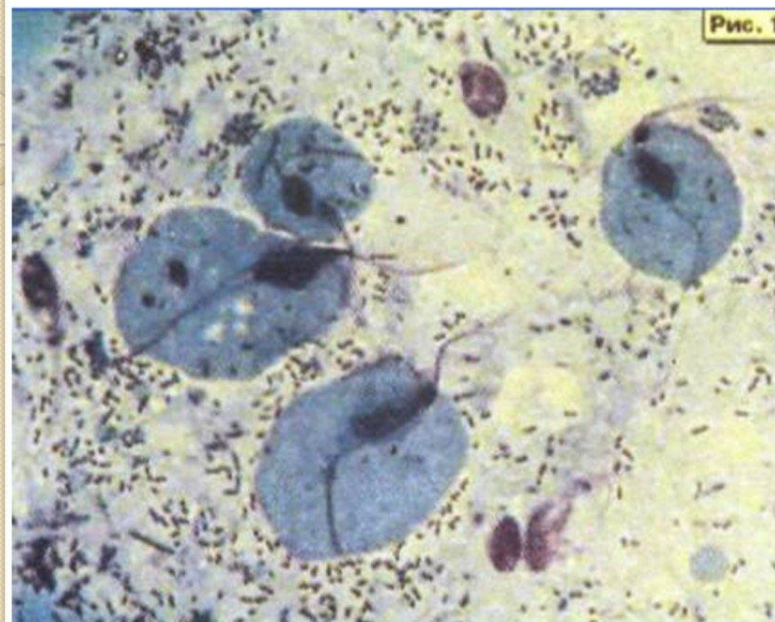
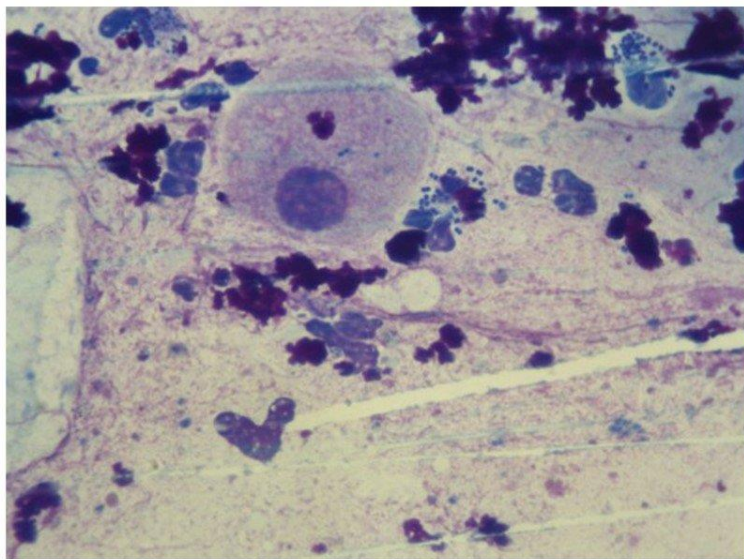
- **Инфекции женских половых органов** можно условно разделить на две группы: болезни, не передающиеся половым путем, и болезни, передающиеся преимущественно половым путем.
- **Вульвовагинит** — воспалительное заболевание вульвы и половых путей, часто протекающее вместе. Иногда его вызывает факультативная микрофлора вульвы и половых путей.
- ***Gardnerella vaginalis*** является основным возбудителем **бактериального вагиноза**, однако ряд анаэробных бактерий рода *Mobilincus* играют синергетическую роль в развитии патологии.
- Возбудителями вульвовагинита, вызванного инфекциями, передающимися половым путем, могут быть **гонококки**, ***T. vaginalis***, ***C. trachomatis***, ***M. hominis***, ***U. urealyticum***.
- Во всех случаях инфекция может распространиться восходящим путем и вызвать воспаление шейки матки - **цервицит**, воспаление канала шейки матки - **эндоцервицит**, воспаление слизистой оболочки матки - **эндометрит**, воспаление маточных труб - **сальпингит** - **оофорит**.

Микробиология венерических заболеваний

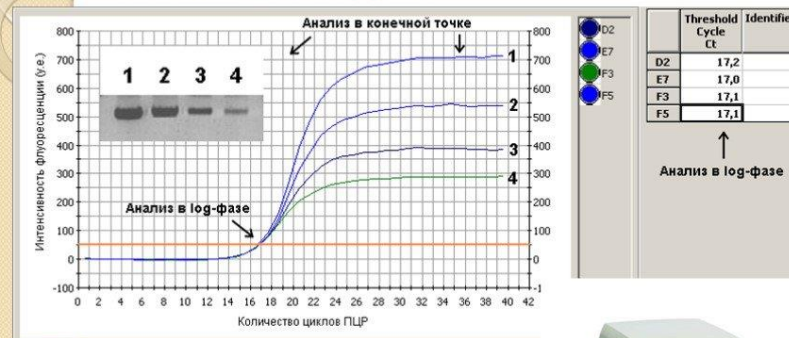
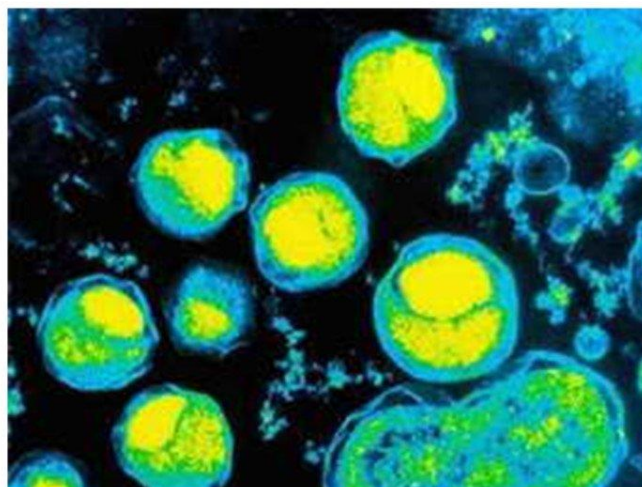
- Возбудители некоторых венерических заболеваний могут проникать непосредственно через кожу и образовывать везикулярные поражения и поверхностные язвы.
- Везикулезные поражения в основном вызываются вирусами, в частности, вирусом простого герпеса. Инфекции **HSV типа II** также известны как **генитальный герпес**, поскольку они передаются половым путем.
- Инфекционное поражение кожи половых органов иногда может проявляться в виде поверхностных ран и эрозий. **При сифилисе** на поверхности кожи, куда проникает бледная трепонема, образуется **твердый шанкр**.
- Повреждения, вызванные ***Haemophilus ducrei*** на поверхности кожи, имеют вид **мягкого шанкра**.
- При половых инфекциях иногда наблюдается **разрастание паховых лимфатических узлов (бубонов)**. Это характерно для первичного сифилиса, генитального герпеса, венерической лимфогранулемы и легкого шанкра. Генерализованная лимфаденопатия также характерна для СПИДа.

Лабораторная диагностика

1. микроскопия мазка (прямая и люминесцентная)
2. культуральный метод (нанесение образца на питательную поверхность, затем анализ лекарственной устойчивости)
3. выявление антигенов к возбудителю (методами ИФА — иммуно-ферментного анализа и ПИФ — прямой иммунофлюоресценцией)
4. выявление ДНК возбудителя (методом ПЦР — полимеразной цепной реакции)
5. выявление антител в крови (иммунного ответа организма на возбудителя)



Результаты ПЦР на образцах с одинаковым количеством ДНК



Инфекции центральной нервной системы

- **Менингит** — воспаление оболочек головного мозга и спинного мозга.
- Различают лептоменингит — воспаление мягкой и паутинной мозговых оболочек, и пахименингит — воспаление твёрдой мозговой оболочки.
- В клинической практике под термином «менингит» обычно подразумевают воспаление мягкой мозговой оболочки.
- Менингит возникает как самостоятельное заболевание или как осложнение другого процесса.
- Наиболее часто встречающиеся симптомы менингита — головная боль, ригидность затылочных мышц одновременно с лихорадкой, изменённым состоянием сознания и чувствительностью к свету (фотофобией) или звуку. Иногда, особенно у детей, могут быть только неспецифические симптомы, такие как раздражительность и сонливость.

Классификация менингитов

А. Бактериальные менингиты

1. Гнойные:
 - первичные (менингококк, пневмококк, Hib-инфекция, листерии)
 - вторичные (стафилококк, стрептококк, колабацилла, протей, синегнойная палочка)
2. Серозные (туберкулез, сифилис, бруцеллез, лептоспироз, листерии, орнитоз, брюшной тиф)

В. Вирусные менингиты (серозные)

- первичные (болезнь Армстронга, энтеровирус, герпес, паротит, клещевой энцефалит)
- вторичные (грипп, парагрипп, RS-вирус, аденовирус, микоплазма, герпес)

С. Грибковые (серозно-гнойные)

Д. Протозойные (серозные)

ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ МЕНИНГИТОВ

Патогены высокого уровня приоритетности:

- *Neisseria meningitidis*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Haemophilus influenzae*
- Грамотрицательные палочки
- *Mycobacterium tuberculosis*
- *Cryptococcus neoformans*

Патогены среднего уровня приоритетности:

- *Streptococcus agalactiae* (группа В)

Патогены низкого уровня приоритетности:

- *Listeria monocytogenes*

Диагностика менингита

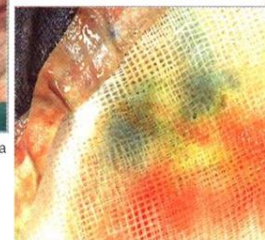
- Анализ спинномозговой жидкости (СМЖ)
- Биохимические и микроскопические анализы для дифференциации форм менингита
 - Микробиологическое культивирование
 - Окраска по Граму
 - Быстрые тесты (например Latex & Lateral flow)
 - ПЦР

Понятие раневой инфекции

- это такое состояние раны, при котором наличие микрофлоры осложняет течение репаративных процессов, вызывает инфекционные осложнения как непосредственно в области раны, так и далеко за ее пределами.



Обширная раневая гематома



Пиогенная инфекция, вызванная синегнойной палочкой

Этиологическая структура

Род	Наиболее значимые виды
	Аэробные бактерии
<i>Staphylococcus</i>	Коагулазопозитивные: <i>S.aureus</i> , <i>S. intermedius</i> Коагулазонегативные: <i>S.epidermidis</i> , <i>S.saprophyticus</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S.capitis</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Str.pyogenes</i> , <i>Str. agalactiae</i> , <i>Str. faecalis</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia</i> <i>Salmonella</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i> <i>Enterobacter</i> , <i>Serratia</i> , <i>Citrobacter</i> и др.	<i>E.coli</i> <i>S.typhimurium</i> <i>K.pneumoniae</i> <i>P.vulgaris</i> , <i>P.mirabilis</i>

Этиологическая структура

Род	Наиболее значимые виды
	Анаэробы
<i>Clostridium</i>	<i>C.perfringens</i> , <i>C.novyi</i> , <i>C.septicum</i> , <i>C.histolyticum</i> <i>C.Difficile</i> <i>C.tetani</i>
<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Fusobacterium</i>	<i>B.fragilis</i> <i>P.melaninogenica</i> <i>P.gingivalis</i>
<i>Peptococcus</i>	
<i>Peptostreptococcus</i>	
<i>Veilonella</i>	

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРИ РАНЕВЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Показания к проведению исследования: признаки гнойно-воспалительного процесса в ране.

Исследуемый материал:

- Мазок из раны
- Отделяемое из дренажей
- Биопсийный материал из раны
- Отпечаток с поверхности ран

Материал должен быть доставлен в лабораторию в течение часа и немедленно засеян на питательные среды. Хранение образцов допускается только в крайнем случае на протяжении не более 2 часов в холодильнике.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

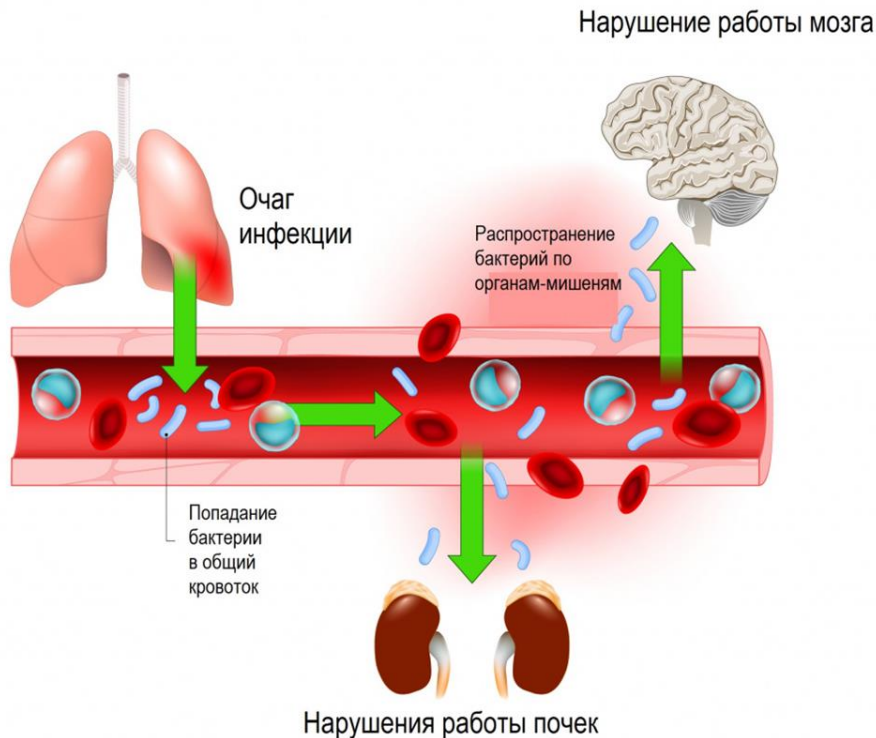
- Микроскопический - оценивают количество микробных клеток, морфологические и тинкториальные свойства, позволяет быстро получить представление о наиболее вероятной этиологии процесса, осуществить выбор оптимальных питательных сред бактериологического исследования.
- Бактериологический – оценка качественного и количественного состава микрофлоры раны; оценка антибиотикорезистентности выделенных микроорганизмов.
- Биохимический (газовая хроматография)

ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

- Обнаружение микробной обсемененности раны 10^5 кл/г ткани (на 1 мл отделяемого) и выше нагноение развивается даже в жизнеспособных тканях.
- При уровнях обсемененности раны более 10^5 кл/г резко возрастает угроза развития сепсиса.
- При одновременном обнаружении в материале нескольких видов микроорганизмов ведущее значение следует придавать видам, обнаруженным в наибольшем количестве.

Сепсис

СЕПСИС



- **Сéпсис**— системная воспалительная реакция в ответ на генерализацию местного инфекционного процесса с развитием токсемии и bacteriemia. Является синдромом системного воспалительного ответа на эндотоксическую агрессию. При отсутствии эффективной терапии сопровождается синдромом полиорганной недостаточности.
- Сепсис является угрожающим состоянием, вызываемым попаданием в кровь (необходимо отличать от понятия bacteriemia) и ткани организма патогенных микроорганизмов. Характеризуется воспалительным процессом не в каком-либо отдельном органе, а во всём организме.

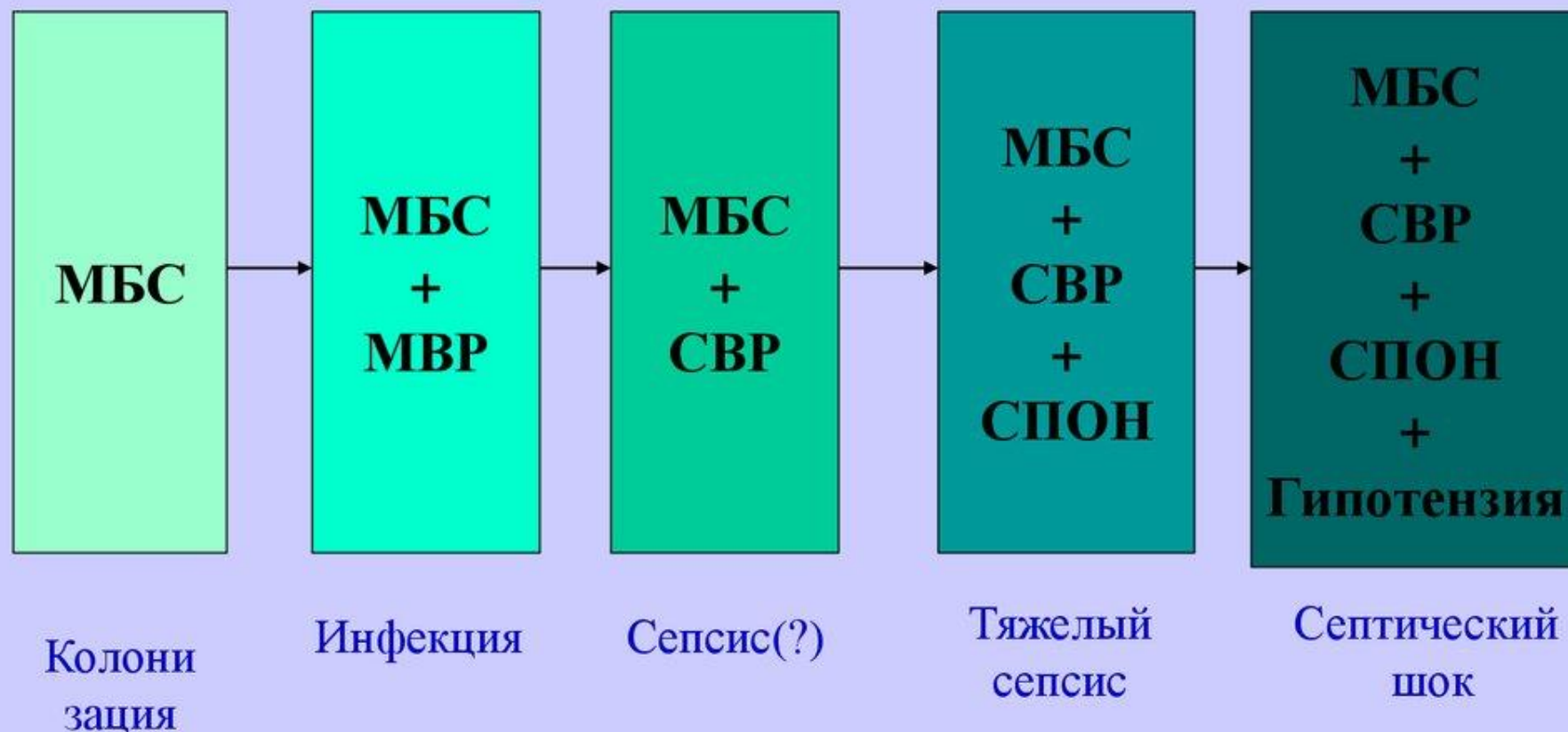
Сепсис (ВОЗ, август 2020г)

- Сепсис развивается, когда ответ организма на инфекцию приводит к повреждению его собственных тканей и органов, и может привести к смерти или серьезному ухудшению состояния.
- Глобальное эпидемиологическое бремя сепсиса не поддается точной оценке. Согласно расчетам, он ежегодно развивается более чем у **30 миллионов человек и, возможно, уносит жизни 6 миллионов человек**. Проблема сепсиса, по всей вероятности, больше всего распространена в странах с низким и средним уровнем доходов.
- Согласно оценкам, каждый год сепсисом страдает **3 миллиона новорожденных и 1,2 миллиона детей**. Три из десяти случаев смерти в результате неонатального сепсиса предположительно вызваны лекарственно устойчивыми патогенами.
- **Каждая десятая смерть в связи с беременностью и родами** происходит по причине **материнского сепсиса**, при этом 95% случаев смерти от материнского сепсиса происходят в странах с низким и средним уровнем доходов. Каждый год в связи с материнскими инфекциями, в частности материнским сепсисом, **умирает один миллион новорожденных**.

Сепсис и септический шок

- **Сепсис** — осложнение раневого или воспалительного процесса. В его развитии у человека важную роль играет снижение общего иммунитета организма вследствие тяжёлого заболевания, операции, приёма иммунодепрессивных препаратов, большой кровопотери, недостаточного питания.
- **Септический шок** – тяжелый сепсис с артериальной гипотензией < 90 мм рт. ст., признаками снижения кровотока в тканях и органах, которые не устраняются с помощью адекватной инфузионной терапии и требуют применения вазопрессоров (препаратов, оказывающих сосудосуживающий эффект и способствующих повышению среднего артериального давления). При их неэффективности диагностируется рефрактерный септический шок.

Классификация инфекционного процесса (Vincent J.L. 1997)



МБС – микробиологическая ситуация;

МВР – местная воспалительная реакция;

СВР – системная воспалительная реакция (СВО);

СПОН – синдром полиорганной недостаточности (несостоятельности);

Причины возникновения сепсиса

- Возбудителями сепсиса могут быть **бактерии, вирусы или грибы**.
- Но чаще сепсис имеет бактериальную природу - его причиной становятся **стафилококки, стрептококки, пневмококки, менингококки, сальмонеллы, синегнойная палочка** и др.
- В большинстве случаев патологический процесс вызывают **условно-патогенные микроорганизмы**, которые присутствуют на коже, слизистых оболочках дыхательного и пищеварительного трактов, мочевыводящих путей и половых органов. Иногда при сепсисе выделяют сразу 2-3 микроорганизма.
- Причиной сепсиса могут стать гнойно-воспалительные заболевания кожи (абсцессы, фурункулы, флегмоны), обширные травмы, ожоги, инфекционно-воспалительные заболевания мочевыводящей системы (пиелонефрит), живота (например, гнойно-некротический деструктивный панкреатит), тяжелая ангина, гнойный отит, пневмония, инфицирование во время родов или абортов и др.

Классификация сепсиса

В зависимости от локализации входных ворот и первичного очага сепсис подразделяют на:

- **перкутанный (чрескожный)** – развивается при попадании возбудителя в организм через поврежденный кожный покров (ранки, царапины, фурункулы и др.);
- **акушерско-гинекологический** – развивается после родов и абортов;
- **оральный (одонтогенный и тонзиллогенный)** – развивается в результате первичной инфекции в полости рта;
- **оториногенный** – развивается в результате распространения инфекции из полости уха и/или носа;
- **пневмогенный** – при наличии инфекционного очага в нижних дыхательных путях;
- **хирургический**;
- **урологический**;
- **пупочный** – развивается у новорожденных вследствие проникновения инфекционных агентов в кровь через пупочную ранку;
- **криптогенный** (идиопатический, эссенциальный, генуинный) – сепсис неизвестного происхождения: первичный очаг гнойного воспаления неизвестен.

Предположительная этиология сепсиса в зависимости от локализации первичного очага

Локализация первичного очага	Наиболее вероятные возбудители
Легкие	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ИВЛ)
Брюшная полость	<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Bacteroides spp.</i> , <i>Enterococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i>
Почки	<i>E.coli</i> и другие грамотрицательные <i>Enterococcus spp.</i>
Ротоглотка	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Staphylococcus spp.</i> Анаэробы
После спленэктомии	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i>
Внутривенный катетер	<i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus aureus</i>

КРИТЕРИИ СЕПСИСА

- Температура тела $>38^{\circ}\text{C}$ или $<36^{\circ}\text{C}$;
- Тахикардия более 90 в минуту;
- Тахипное более 20 в минуту или снижение парциального давления CO_2 в артериальной крови менее 32 мм. рт. ст.;
- Количество лейкоцитов в периферической крови более $12 \times 10^9 / \text{л}$ или менее $4,0 \times 10^9 / \text{л}$, или появление незрелых форм лейкоцитов в крови более 10% от общего числа этих клеток;

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА

Показания к проведению исследования:

- клиническая картина сепсиса;
- лихорадочные состояния не установленной этиологии;
- подозрение на инфекционные заболевания;

Исследуемый материал: 10-20 мл крови, соотношение крови и среды - 1/10-1/60 для устранения бактерицидного действия крови путем ее разведения.

Однократное исследование крови мало результативно, необходима серия из 3 и более исследований за определенный промежуток времени.

ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ МАТЕРИАЛА ПРИ СЕПСИСЕ

1. Кровь для исследования необходимо забирать до назначения антибиотиков или непосредственно перед очередным введением препарата.
2. Необходимым минимумом забора являются две пробы, взятые из разных рук с интервалом 30 мин. Оптимальным является забор трех проб крови, что существенно повышает выявление возбудителя.
3. Кровь для исследования необходимо забирать из периферической вены. Не показано преимуществ забора крови из артерии. Не допускается забор крови из катетера! Исключением являются случаи подозрения на катетер-ассоциированный сепсис.
4. Забор крови из периферической вены следует проводить с тщательным соблюдением асептики. Кожу в месте венепункции обрабатывают раствором йода или повидон-йода движениями от центра к периферии в течение минимум 1 мин. Непосредственно перед забором кожу обрабатывают 70% спиртом. При проведении венепункции используют стерильные перчатки. Крышку флакона со средой обрабатывают спиртом. Для каждой пробы забирают не менее 10 мл крови у взрослых и не менее 5 мл у детей.

МЕТОДЫ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ

- Бактериологический метод является наиболее важным методом диагностики сепсиса

Минимальный набор питательных сред при исследовании крови включает : “двойную среду “, “среду для контроля стерильности”.

В дополнение можно использовать: "среду со стаканчиком", полужидкую среду Тароцци, жидкую среду Сабуро.

- Биохимический метод по определению эндотоксина в крови (люмулюс тест)
- РИФ (определение эндотоксина)

ОЦЕНКА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

- Обнаружение любого микроорганизма из крови при сепсисе является диагностически значимым
- Согласно рекомендациям ВОЗ подтверждением этиологической значимости является быстрое (в течение 48 часов) обнаружение микроорганизма

Автоматическая система гемокультуры

Автоматические системы культивирования используются для ускорения освоения гемокультуры, а также для облегчения множественных обследований.

Автоматическая система гемокультуры Bactec.

- Принцип метода основан на обнаружении углекислого газа, образовавшегося в результате развития микроорганизмов.
- Образцы крови культивируют путем непрерывного смешивания меченых изотопов углерода (например, изотопов ^{14}C) с глюкозой, аминокислотами и добавленными питательными средами. Выделение CO_2 , образующегося в результате жизнедеятельности микроорганизмов, обнаруживается компьютерными анализаторами.

Профилактика и ведение / лечение

- Меры профилактики ИСМП следует принимать как на уровне пациента, так и на уровне всего медицинского учреждения.
- **Контроль окружающей среды**
- Регулярный мониторинг воздуха, воды и поверхностей
- Строгий контроль очистки и дезинфекции оборудования и сред
- При необходимости изоляция пациента (или когорты)
- **Инфекционный контроль**
- Тщательный мониторинг пациентов и популяций из группы риска
- Гигиена рук и надлежащие общие гигиенические мероприятия
- Соблюдение гигиенических условий при проведении медицинских процедур
- Надлежащее использование антимикробных препаратов
- Использование катетеров только по показаниям
- Надзор
- Купирование вспышек
- Автоматическое оповещение об инфекциях, устойчивых к антимикробным препаратам
- Передача и управление информацией
- Скоординированная отчетность высокого уровня
- Эпидемиологический надзор и отслеживание
- **Лечение**
- Лечение соответствующими антимикробными препаратами
- По возможности удаление временных медицинских устройств (например, катетеров)
- Терапевтический мониторинг для скорейшего прекращения антимикробной терапии



Спасибо
за внимание!