

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ОРЕНБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ДЛЯ ОБУЧАЮЩИХСЯ
ПО ОСВОЕНИЮ ДИСЦИПЛИНЫ**

Б1.В.16 Клиническая микробиология

Направление подготовки 06.03.01 Биология

Профиль образовательной программы Микробиология

Форма обучения очная

СОДЕРЖАНИЕ

1. Конспект лекций	5
1.1 Лекция № 1 «Основы клинической микробиологии, введение в специальность».....	5
1.2 Лекция № 2 «Классификация оппортунистических инфекции».....	8
1.3 Лекция № 3 «Основные отличия заболеваний, вызванных УПМ».....	11
1.4 Лекция № 4 «Причины возникновения госпитальных инфекций».....	12
1.5 Лекция № 5 «Классификация заболеваний кожи (пиодермии, стрептодермий, фурункулез, поверхностные микозы), особенности взятия клинического материала для исследования, выделения и идентификации возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) кожи. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ кожи».....	14
1.6-7 Лекция № 6-7 «Основные возбудители ГВЗ ногтей (паронихии и онихомикозы), особенности выделения и идентификации возбудителей, основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения».....	18
1.8 Лекция №8 «Основные возбудители гнойно-воспалительных заболеваний волос (себорея, перхоть), особенности выделения и идентификации возбудителей, основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения».....	20
1.9-10 Лекция №9-10 «Основные виды раневой инфекции (осложнения травм, послеоперационные осложнения, ожоговая инфекция). Основные аэробные и анаэробные возбудители раневой инфекции. Их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность»	24
1.11 Лекция №11 «Особенности взятия клинического материала для исследования. Особенности выделения и идентификации возбудителей раневой инфекции. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения раневой инфекции».....	26
1.12-13 Лекция №12-13 «Основные представители аутохтонной и аллохтонной микрофлоры дыхательных путей. Основные возбудители ГВЗ дыхательных путей (ангина, ОРЗ, бронхиты, пневмонии, плевриты, абсцессы легких). Их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность».....	29
1.14-15 Лекция №14-15 «Особенности взятия клинического материала для исследования (соскоб, мокрота, бронхиальный смыв, плевральный выпот, биоптат). Особенности выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ дыхательных путей»	35
1.16-17 Лекция №16-17 «Основные представители аутохтонной и аллохтонной кишечной микрофлоры и их количественное содержание. Их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность».....	37
1.18-19 Лекция №18-19 «Основные представители аутохтонной и аллохтонной микрофлоры мочевыводящих и половых путей. Основные возбудители ГВЗ мочевыводящих и половых путей, их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность».....	55
1.20-21 Лекция №20-21 «Особенности взятия клинического материала для исследования выделения и идентификации возбудителей ГВЗ мочевыводящих и половых путей. Основные противомикробные лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ мочевыводящих и половых путей».....	54
2. Методические указания по выполнению лабораторных работ.....	58

2.1 Лабораторная работа № ЛР-1 «Методы клинической микробиологической диагностики».	58
2.2 Лабораторная работа № ЛР-2 «Отбор патологического материала (отбор исследуемого материала из носа, из зева, с кожи). Заполнение направления на бактериологическое исследование клинического материала»	60
2.3 Лабораторная работа № ЛР-3 «Микроскопическое исследование клинического материала на примере соскоба зубного налета, мокроты, крови, мочи и др. с окраской по Граму и по Цилю-Нильсену»	62
2.4 Лабораторная работа № ЛР-4 «Экспериментальное заражение лабораторных животных»	63
2.5 Лабораторная работа № ЛР-5 «Способы посева патологического материала и методы культивирования аэробов и анаэробов»	64
2.6-7 Лабораторная работа № ЛР-6-7 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»	66
2.8 Лабораторная работа № ЛР-8 «Особенности госпитальных штаммов»	67
2.9-10 Лабораторная работа № ЛР-9-10 «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях (ГВЗ) кожи»	69
2.11-12 Лабораторная работа № ЛР-11-12 «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях ногтей (паронихий и онихомикозов)»	71
2.13-14 Лабораторная работа № ЛР-13-14 «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях волос (себореи, перхоти)»	74
2.15-16 Лабораторная работа № 15-16 «Особенности взятия клинического материала при раневых инфекциях, его микроскопия и бактериологическое исследование. Особенности выделения и идентификации возбудителей раневой инфекции. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения раневой инфекции»	76
2.17 Лабораторная работа № 17 «Лабораторная диагностика столбняка и газовой гангрены»	78
2.18 Лабораторная работа №18 «Особенности взятия клинического материала для исследования при заболеваниях дыхательных путей (соскоб, мокрота, бронхиальный смыв, плевральный выпот, биоптат)»	81
2.19-20 Лабораторная работа №19-20 «Особенности выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей (ангина, ОРЗ, бронхиты, пневмонии, плевриты, абсцессы легких). Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ дыхательных путей»	85
2.21 Лабораторная работа №21 «Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции»	90
2.22 Лабораторная работа №22 «Особенности взятия клинического материала для исследования кишечной микрофлоры»	93
2.23 Лабораторная работа №23 «Лабораторная диагностика дисбиоза кишечника»	94
2.24 Лабораторная работа №24 «Лабораторная диагностика хеликобактерной инфекции с помощью уреазного теста»	96
2.25 Лабораторная работа №25 «Лабораторная диагностика гарднереллеза»	96
2.26 Лабораторная работа №26 «Лабораторная диагностика генитального кандидоза»	98
2.27 Лабораторная работа №27 «Лабораторная диагностика микоплазменной	

и уреаплазменной, хламидийной инфекции».....	99
--	----

1. КОНСПЕКТ ЛЕКЦИЙ

1.1. Лекция № 1 (2 часа)

Тема: «Основы клинической микробиологии, введение в специальность»

1.1.1 Вопросы лекции:

1. Этапы диагностика в клинической микробиологии.
2. Анализ проводимых исследований.

1.1.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Причины появления клинической микробиологии: рост числа заболеваний, вызванных УПМ и резидентной (нормальной) микрофлорой; рост числа антибиотикорезистентных штаммов; снижение иммунитета в результате антибактериальной терапии; появление значительного числа заболеваний имеющих смешанную природу.

Клиническая микробиология как раздел медицинской микробиологии призвана решать две основные задачи: этиологическая диагностика инфекционного процесса и выбор рациональных средств этиотропной терапии. Обе эти задачи непосредственно связаны между собой и без успешного решения первой, как правило, невозможно решение второй. Выбор рациональных средств терапии может быть осуществлен аналитическим путем, на основании представлений об этиологии процесса, либо с помощью дополнительных исследований, например, определения чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам. С другой стороны, успех этиотропной терапии, заключающийся в улучшении состояния пациента и одновременном исчезновении возбудителя из организма, является наиболее эффективным подтверждением правильности этиологического диагноза.

Диагностический процесс в клинической микробиологии складывается из четырех основных этапов:

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

Формулировка задачи исследования подразумевает создание рабочей гипотезы возможной этиологии патологического процесса у данного больного. Задача исследования определяет как выбор метода исследований, так и вид исследуемого материала и отражается в бланке направления, который прикладывается к материалу, доставляемому в лабораторию. Многообразие мира патогенных микроорганизмов порождает многообразие методов, используемых для диагностики инфекционных заболеваний. Каждый из них имеет свои достоинства и недостатки, но, к сожалению, идеального метода, одинаково эффективного при диагностике любого патологического процесса, нет. Кроме того, ни один из существующих методов не позволяет искать в материале все микроорганизмы сразу. Поэтому врач-микробиолог, который, как правило, не видит больного, должен получить представление о предполагаемой этиологии патологического процесса, определенной на основании эпидемиологических и клинических данных.

Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов (бактерий, грибов, вирусов, простейших): микроскопический, бактериологический, иммунологический, генетический, серологический,

Выбор метода исследования необходимо проводить с учетом всего комплекса диагностических и лечебных процедур, проводимых данному больному. Например, на фоне антибиотикотерапии использование бактериологического метода будет заведомо мало эффективным. Методы, не позволяющие дифференцировать живые и убитые микроорганизмы (ПЦР, РИФ и др.) следует с осторожностью использовать при контроле излеченности. Подобные исследования необходимо проводить не ранее чем через

несколько недель после окончания этиотропной терапии, так как погибшие микробные клетки или их антигены могут длительное время сохраняться в организме и выявляться с помощью указанных методов.

Выбор вида исследуемого материала зависит от вида заболевания и преимущественной локализации возбудителя на данном этапе его развития. Классическим примером, подтверждающим значение обоснованного выбора материала в зависимости от этапа патогенеза болезни, является брюшной тиф. При этой инфекции на разных этапах её развития для бактериологического исследования используют вначале кровь, а затем испражнения. Важно осуществить взятие материала в оптимальные сроки. Процедуры взятия материала для бактериологического исследования зачастую достаточно технически сложны, а правильность их выполнения имеет решающее значение. Например, нарушение правил взятия крови ведёт к её контаминации микроорганизмами с кожи или из окружающей среды и может стать причиной ошибочного этиологического диагноза. Тяжесть процедуры должна оправдывать ценность получаемой информации. Так, наиболее эффективным способом получения мочи для бактериологического исследования, максимально гарантирующим от контаминации посторонней микрофлорой, является надлобковая пункция мочевого пузыря. Тем не менее, на практике, из-за травматичности для пациента ее используют редко, ограничиваясь исследованием средней порции свободно выпущенной мочи. В большинстве случаев время от момента взятия материала до начала исследования лимитировано, и чаще всего не должно превышать 2 часов.

2. Наименование вопроса №2.

Проведение исследований в лаборатории регламентировано национальными стандартами и инструкциями фирм изготовителей реагентов. Строгое соблюдение правил, определяющих технологию диагностических процессов, обеспечивает унификацию исследований и возможность сопоставления данных, полученных в различных учреждениях. Основным документом, регламентирующим технику исследований в области клинической микробиологии в нашей стране, являются "Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях", утвержденные приказом МЗ СССР №535 в 1985. Полезную информацию об организации работы клинко-микробиологических исследований и технике исследований можно также подчерпнуть из подготовленного ВОЗ руководства "Basic laboratory test of clinical microbiology.", 1991 (в русском переводе "Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии" М., Медицина, 1994), американского руководства "Manual of Clinical Microbiology" (в 1995 году вышло 6 издание), а также из многочисленных пособий по выделению и идентификации отдельных видов клинически значимых микроорганизмов.

Анализ результатов исследований включает оценку:

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

Достоверность полученных результатов обеспечивает осуществление в лабораториях работ по внешнему и внутреннему контролю качества исследований. Внешний контроль осуществляется путем внешних инспекций, включающих решение диагностических задач. По результатам таких инспекций лаборатории проходят лицензирование на право проведения диагностических исследований.

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

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

Анализ полноты полученной информации в первую очередь подразумевает решение вопроса: достаточно ли результатов поставленных тестов для постановки этиологического диагноза? А если нет, то какие исследования могут быть выполнены дополнительно? В ряде случаев дополнительные исследования могут быть выполнены без повторного взятия материала. Например, могут быть определены факторы вирулентности выделенного возбудителя или поставлены дополнительные серологические реакции при исследовании сыворотки крови. В противном случае план дальнейших исследований должен быть согласован с лечащим врачом.

Точная этиологическая диагностика многих форм инфекционной патологии, таких как Ку-лихорадка, гастроэнтероколиты и многих других крайне затруднена или даже невозможна без проведения комплекса лабораторных исследований. В связи с этим переоценить значение лабораторных методов в диагностике невозможно. В то же время нельзя забывать, что результат лабораторного исследования не является "истиной в последней инстанции" и диагноз больному ставит в конечном счете врач-клиницист на основании всего комплекса многообразной информации, включающего как данные объективных методов

При оценке диагностической значимости бактериологического исследования необходимо, прежде всего, помнить о неравнозначности положительного и отрицательного результатов исследования. Если обнаружение микроорганизма в исследуемом материале однозначно говорит о его присутствии в организме больного в момент исследования (конечно, если исключить случайную контаминацию пробы персоналом), то отрицательный результат не всегда свидетельствует об их отсутствии. В ходе специального эксперимента на волонтерах, зараженных вирулентными штаммами шигелл и заболевших дизентерией, возбудитель удалось выделить только в 70% случаев. Причины, по которым возбудитель не удастся выделить от больного тем или иным инфекционным заболеванием многообразны. Среди них следует отметить неравномерность распределения микроорганизмов в общей массе исследуемого материала, неравномерность выделения возбудителей из организма больного по времени. В связи с этим вероятность обнаружения патогенных микроорганизмов резко возрастает по мере увеличения кратности обследования больного и увеличения числа исследованных видов материала.

Таким образом, отрицательный результат бактериологического исследования, особенно однократного, еще не является достаточным основанием для исключения данного инфекционного заболевания. С другой стороны и факт обнаружения патогенного микроорганизма, вне связи с конкретными обстоятельствами, не всегда является достаточным основанием для постановки конкретного диагноза. Это связано с широким распространением при ряде нозологических форм бактерионосительства. Значимость факта обнаружения патогенного микроорганизма во многом определяется видом исследуемого материала. Например, обнаружение возбудителей брюшного тифа в крови, в соскобе из розеол, в моче, имеет большую диагностическую ценность, чем их находки в испражнениях или желчи. В последних двух случаях с высокой вероятностью речь может идти о каком-либо другом заболевании на фоне брюшнотифозного носительства.

Наибольшую сложность представляет трактовка результатов бактериологического исследования в случае обнаружения условно-патогенных микроорганизмов, многие из которых являются представителями нормальной микрофлоры. В этом случае правомочно говорить о доказательстве этиологической роли выделенного микроорганизма, как об особом этапе диагностического исследования. Универсальные критерии для оценки диагностической значимости факта обнаружения тех или иных условно-патогенных микроорганизмов отсутствуют. Наиболее часто во внимание принимаются следующие обстоятельства:

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

Таким образом, отрицательный результат бактериологического исследования, особенно однократного, еще не является достаточным основанием для исключения данного инфекционного заболевания. С другой стороны и факт обнаружения патогенного микроорганизма, вне связи с конкретными обстоятельствами, не всегда является достаточным основанием для постановки конкретного диагноза. Это связано с широким распространением при ряде нозологических форм бактерионосительства. Значимость факта обнаружения патогенного микроорганизма во многом определяется видом исследуемого материала.

1.2 Лекция № 2 (2 часа)

Тема: «Классификация оппортунистических инфекций».

1.2.1 Вопросы лекции

1. Оппортунистические инфекции, определение, распространенность.
2. Механизм и причины развития
3. Виды ОИ.

1.2.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Оппортунистические инфекции (ОИ) (лат. *opportunus* — склонный к заболеванию) — это заболевания, вызванные различными возбудителями, в большинстве случаев представителями условно-патогенной микрофлоры организма человека, вследствие значительного снижения функциональной активности иммунитета (иммунодефицит). Условно-патогенные микроорганизмы, вызывающие ОИ: грамположительные анаэробные палочки (представители родов: *Clostridium*, *Eubacterium*, *Atopobium*, *Collinsella* и др.); грамотрицательные анаэробные палочки (представители родов: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Bilophila*); грамположительные анаэробные кокки (представители родов: *Peptostreptococcus*, *Anaerococcus*, *Peptoniphilus*, *Finegoldia*, *Micromonas* и др.); грамотрицательные анаэробные кокки (представители родов: *Veillonella*, *Anaeroglobus*, *Megasphaera* и др.); грамположительные факультативно-анаэробные палочки (представители родов: *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Corynebacterium*, *Actinomyces*, *Gardnerella* и др.); грамотрицательные факультативно-анаэробные палочки (представители родов: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Yersinia*,

Citrobacter, Pseudomonas, Legionella и др.); грамположительные факультативно-анаэробные кокки (представители родов: Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus и др.); грамотрицательные факультативно-анаэробные кокки (представители родов: Neisseria, Moraxella (Branhamella), Acinetobacter, Kingella и др.); спирохеты (представители родов: Treponema, Brachyspira и др.); возбудители оппортунистических микозов (представители родов: Aspergillus, Candida, Mucor, Rhizopus, Pneumocystis и др.); многие вирусы.

2. Наименование вопроса №2.

Механизм и причины развития. Некоторые микроорганизмы относятся к условно-патогенным представителям микрофлоры человека. Это означает, что они в небольшом количестве постоянно обитают на слизистых оболочках или коже, но развитие инфекционного заболевания не вызывают, так как иммунная система постоянно их подавляет. Оппортунистические инфекции являются результатом недостаточной активности клеточного (Т-лимфоциты, макрофаги) и гуморального (антитела, интерлейкины) звена иммунной системы (иммунодефицит). Существует несколько основных причин развития иммунодефицита:

- Врожденная (генетическая) функциональная недостаточность иммунитета, связанная с наличием дефектного гена, который отвечает за продукцию антител секреторных иммуноглобулинов (IgA) или количество и качество клеток. При этом оппортунистические инфекции развиваются уже в раннем детском возрасте;

- Применение химиотерапии во время лечения онкологического процесса (рак различной локализации, лейкоз) – цитостатики, которые подавляют деление опухолевых клеток, заодно угнетают и иммунную систему;

- Опухолевые заболевания красного костного мозга и лимфоидной ткани, отвечающих за формирование клеток Туберкулез на фоне иммунодефицита иммунитета – при этом количество иммунокомпетентных клеток остается таким же или увеличивается, но они практически все являются функционально дефектными;

- Применение иммуносупрессоров – лекарственные средства, которые подавляют иммунитет, их длительное время используют в ситуациях, когда необходимо искусственно снизить иммунитет (аутоиммунные заболевания, ревматизм, ревматоидный артрит, после пересадки органа для предотвращения его иммунного отторжения).

- Длительное лечение антибиотиками (больше месяца), которые вначале приводят к дисбактериозу (нарушение нормальной микрофлоры с преобладанием условно-патогенных микроорганизмов), затем – к непосредственному подавлению активности иммунитета;

- Инфекции иммунной системы – ВИЧ, вирусные гепатиты (особенно вирусный гепатит С), вирус Эпштейна-Барр паразитируют в лимфоцитах, что приводит к снижению их численности и функциональной активности. Иммунитет наиболее повреждается при паразитировании ВИЧ, который приводит к развитию СПИДа (синдром приобретенного иммунодефицита).

В случае комбинированного наличия нескольких причинных факторов, развитие иммунодефицита более выражено, а это в свою очередь приводит к более быстрому и тяжелому течению оппортунистических инфекций

Факторы патогенности возбудителей ОИ: адгезины, токсины, ферменты защиты и агрессии и др.

3. Наименование вопроса №3.

Оппортунистические инфекции включают в себя герпес, кандидоз, вирус папилломы человека, криптококкоз, изопсориаз, малярию, криптоспоридиоз, лимфому, саркому Капоши, пневмоцистную пневмонию, токсоплазмоз, цитомегаловирус, туберкулез. Рассмотрим наиболее распространенные из них. Вирус папилломы человека (ВПЧ) – весьма распространенная инфекция, развитие которой обусловлено вирусами, объединенными под названием "вирус папилломы человека". Довольно легко

осуществляется передача ВПЧ при сексуальных контактах. Вирус обуславливает развитие генитальных бородавок, некоторые виды данного вируса вызывают рак шейки матки. Лекарственных средств от ВПЧ на современном этапе нет, имеются лишь различные методы удаления бородавок, терапии диспластических процессов шейки матки и ануса, которые вызываются ВПЧ.

Кандидоз часто локализуется в ротовой полости, гортани, легких и/или влагалище. Это заболевание зачастую возникает из-за того, что грибки составляют естественную микрофлору человеческого организма, а при снижении иммунитета они активизируются и вызывают развитие кандидоза. Лечится он противогрибковыми препаратами, однако часто возникают рецидивы.

Криптококковый менингит развивается при наличии клеток CD4 ниже 50. Агентом, вызывающим его, является грибок *Cryptococcus*, который попадает в организм человека при вдыхании пыли. Данному воздействию подвергаются очень многие, но здоровый организм справляется – и болезнь не развивается. Данный вид менингита не передается от человека к человеку. Пневмоцистная пневмония развивается при попадании микроорганизма *Pneumocystis carinii*, который обитает в окружающей среде повсеместно. Распространение происходит воздушным путем. Возникновение пневмоцистной пневмонии происходит при наличии иммунного статуса у больного ниже 200 клеток/мл. Профилактика и лечение успешны при данной патологии, однако при отсутствии терапии в должном объеме возможен летальный исход.

Простой герпес вызывает вирус *Herpes simplex*: образуются язвочки на губах, также возможно их появление на гениталиях или анусе. У ВИЧ-положительных такие высыпания встречаются значительно чаще и выражены сильнее. Существующие препараты против герпеса снимают и предотвращают его проявления, но не вылечивают полностью, так как сохраняется циркуляция вируса в нервной ткани. Передача токсоплазмоза происходит при употреблении полусырого мяса или от контакта с кошками. Данное заболевание не передается через людей и не развивается при наличии здоровой иммунной системы. Оппортунистические инфекции необходимо лечить современными антибактериальными, противогрибковыми и противовирусными препаратами, иногда на протяжении весьма длительного периода. - Читайте подробнее на

Криптоспоридиоз - кишечная инфекция, легко передающаяся при контакте с водой, фекалиями и пищей, зараженными обыкновенным паразитом *Cryptosporidium*. У ВИЧ-отрицательных болезнь продолжается одну-две недели, однако у людей с ВИЧ она может продолжаться значительно дольше и даже представлять угрозу жизни. Медикаментов для предотвращения и лечения криптоспоридиоза не существует, однако имеются различные методы облегчения диареи, вызванной инфекцией.

Опоясывающий герпес, также известный под названием опоясывающий лишай, вызывается тем же вирусом *Herpes Varicella-zoster*, что и ветряная оспа. Хотя этот вирус поражает и ВИЧ-отрицательных людей, он наиболее широко распространен среди ВИЧ-положительных ввиду ослабления иммунной системы. Результатом поражения вирусом являются чрезвычайно болезненные высыпания на груди, спине и лице. Высыпания обычно появляются на одном участке тела и держатся несколько недель. Опоясывающий герпес лечатся противогерпетическими препаратами и средствами для обезболивания.

Простой герпес (ВПГ) - заболевание, вызываемое вирусом *Herpes simplex*. Вирус простого герпеса вызывает язвочки на губах ("лихорадка") и глазах, а также этот вирус вызывает генитальный или анальный герпес. У людей с ВИЧ высыпания герпеса встречаются чаще и более сильны, чем у ВИЧ-отрицательных. При низком иммунном статусе представляет серьезную проблему. Существующие противогерпетические препараты снимают и предотвращают симптомы герпеса, хотя и не вылечивают его полностью. Если вы у вас нет вируса простого герпеса, избегайте заражения, которое может произойти половым путем или при контакте с людьми, болеющими активной формой герпеса.

Токсоплазмоз. Возбудитель - внутриклеточный паразит *Toxoplasma gondii*, вызывающий у людей с иммунным статусом ниже 100 воспаление головного мозга - энцефалит. Токсоплазмоз передается при употреблении полусырого мяса, а также от контакта с пометом кошек. Токсоплазмоз не передается от одного человека другому и не развивается у людей со здоровой иммунной системой. После заражения токсоплазма может долго жить в организме человека, пока снижение иммунного статуса не позволит инфекции перейти в опасное заболевание.

Туберкулез (ТБ). Опасная бактериальная инфекция, обычно поражающая легкие. Заразиться туберкулезом человек может от больного с активной формой туберкулеза при кашле, чихании или при разговоре. Хотя туберкулезом могут заболеть и ВИЧ-отрицательные, для людей с ВИЧ риск значительно выше. Хотя туберкулезом болеет не каждый инфицированный ВИЧ человек, ТБ-инфекция ускоряет развитие ВИЧ-инфекции и является основной причиной смерти среди ВИЧ-положительных во всем мире. Именно поэтому для ВИЧ-положительных очень важна профилактика, своевременная диагностика и лечение туберкулеза. Наличие микобактерии определяют с помощью кожной пробы Манту - ее следует проводить регулярно, не реже раза в год. Если проба положительная (папула более 5 мм в диаметре), назначают профилактическое лечение изониазидом. В зависимости от степени тяжести заболевания лечение может занять несколько месяцев и даже лет.

Цитомегаловирус (ЦМВ) может вызывать у людей с низким иммунным статусом опасное заболевание глаз - ретинит - приводящее к потере зрения. ЦМВ также вызывает заболевания желудочно-кишечного тракта, нервной системы и других органов. Наиболее велик риск при CD4 ниже 50. При положительной реакции на ЦМВ-антитела и низком иммунном статусе назначается профилактическое лечение (ганцикловир и др. препараты). ЦМВ уже присутствует в организме большинства людей: он чаще всего передается половым путем. Если вы ЦМВ-отрицательны, предохраняйтесь, используя презервативы или безопасный секс.

1.3 Лекция № 3 (2 часа)

Тема: «Основные отличия заболеваний, вызванных УМП»

1.3.1 Вопросы лекции:

1. Характеристика условно-патогенной микрофлоры (УМП).
2. Отличительные особенности заболеваний, вызванных УМП.
3. Классификация заболеваний, вызванных УМП.

1.3.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Наша планета буквально заселена вездесущими микроорганизмами. Не является исключением и организм человека, представляющий собой частичку биосферы. Эта своеобразная и весьма специфическая экосистема прекрасно освоена микробами. Свидетельством тому служит тот факт, что количество микроорганизмов, живущих и размножающихся внутри организма или на его поверхности (коже), на порядок превышает число клеток хозяина. Это обстоятельство дает основание рассматривать организм человека как универсальную и одновременно сложную экосистему, которая заполняется микробами от момента рождения до старости, претерпевая при этом определенную динамику микромира в зависимости от смены условий существования индивидуума.

В процессе длительной эволюции, когда пересекаются пути микроба и приютившего его хозяина, между ними сложились далеко не однозначные отношения, которые волнуют как медиков, так и биологов с их различным подходом к оценке целесообразности данного симбиоза. При рассмотрении этой темы необходимо рассмотреть: симбиотические взаимоотношения человека и микробов; особенности

колониционной резистентности хозяина; адаптивные стратегии микробной клетки, не желающей менять своего хозяина (экосистему); возможности и новые перспективы популяционно-коммуникативного подхода в микробиологии, открываемые в экологии микробов и человека; вопросы регуляции индигенной микрофлоры как основы создания гомеостатической равновесной системы, т. е. здоровья самого хозяина..

Основные признаки УПМ:

- в организме человека УПМ являются представителями постоянной микрофлоры;
- широко распространены в природе, способны длительное время сохраняться в окружающей среде;
- имеют высокую резистентность, в том числе и к антибиотикам;
- высокую биологическую активность;
- генетически неоднородны, имеют большое число вариантов, которые отличаются по антигенным свойствам, по патогенности, по чувствительности к антибиотикам;
- способны проявлять патогенные свойства только при снижении иммунно защитных функций организма;

2. Наименование вопроса №2.

Основные отличия заболеваний, вызванных УПМ:

- отсутствие четкой органной локализации;
- полиэтиологичность, то есть одна и та же клиническая форма может вызываться любым УПМ;
- клиническая картина мало специфична и зависит больше от пораженного органа, чем от этиологического агента;
- частая смена возбудителя в процессе заболевания, наличие ассоциаций;
- низкая эффективность антимикробной терапии, что связано с высокой устойчивостью УПМ к антибиотикам.

3. Наименование вопроса №3.

Классификация инфекций, вызванных УПМ:

- первичные инфекции - возникают в результате экзогенного заражения;
- вторичные инфекции - вызываются микроорганизмами, которые входят в состав микрофлоры организма человека. Инфекция развивается эндогенными путями поэтому называется аутоинфекцией. Практически все представители нормальной микрофлоры могут вызывать УПИ при ослаблении защитных сил организма.

Микробиологическая диагностика инфекций, вызванных потенциально- патогенными микробами имеет ряд особенностей:

- поскольку потенциально-патогенные микробы обнаруживаются у здоровых людей в составе нормальной микрофлоры, факт их обнаружения в исследуемом материале не может свидетельствовать об их этиологической роли (причинности) при данном заболевании;
- имеет значение обнаруженные в ходе диагностики количество и локализация возбудителя в организме больного, а также динамика этих показателей в ходе лечения инфекции;
- поскольку часто причиной возникновения такой инфекции является снижение антиинфекционной резистентности, данные о микрофлоре должны сопоставляться с данными о состоянии естественной резистентности и иммунного статуса больного в целом;
- для более точного суждения об этиологической роли того или иного возбудителя проводят изучение его факторов патогенности (определяют вирулентность).

1.4 Лекция № 4 (2 часа)

Тема: «Причины возникновения госпитальных инфекций»

1.4.1 Вопросы лекции:

1. Определение ВИ, распространённость.
2. Причины возникновения.
3. Формы проявления.

1.4.2. Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Внутрибольничными или нозокомиальными (лат. nosocomium - больница, греч. nosokomeo - больница, ухаживать за больным) называют любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, которое поражает больного в результате его поступления в больницу или обращения в нее за лечебной помощью, или инфекционное заболевание сотрудника больницы вследствие его работы в данном учреждении, вне зависимости от проявления симптомов заболевания во время или после пребывания в больнице.

Внутрибольничные или нозокомиальные инфекции продолжают оставаться одними из наиболее частых осложнений у госпитализированных больных. Они являются четвертой по частоте причиной летальности в США после болезней сердечно-сосудистой системы, злокачественных опухолей и инсультов.

По данным официальной статистики, в России в 2007 г. зарегистрировано 56 тыс. больных нозокомиальными инфекциями, хотя их предполагаемое число составило 2,5 млн. Понятие "нозокомиальная инфекция" впервые разработано Европейским региональным бюро ВОЗ в 1979 г. и предлагалось как "любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, которое развивается у пациента в результате его поступления в больницу, обращения в нее за лечебной помощью, или любое инфекционное заболевание сотрудника больницы, развившееся вследствие его работы в данном учреждении вне зависимости от времени появления симптомов заболевания (до или во время пребывания в больнице)". По мнению Комиссии по проведению второго обзорного исследования частоты встречаемости нозокомиальных инфекций к нозокомиальной инфекции можно отнести следующие случаи: если пациент повторно поступает в стационар с установленной инфекцией явившейся следствием предыдущей госпитализации; если инфекция развилась через 48 ч и более после поступления в лечебное учреждение.

Общепризнанным является положение о том, что в первую очередь должны существовать клинические признаки наличия инфекции, которые выявляются или путем непосредственного ("прямого") наблюдения за пациентом, или при анализе первичной документации пациента (например, график динамики температуры тела). Дополнением к клиническим признакам инфекции являются результаты параклинических методов исследования (например, рентгенологического исследования при нозокомиальной пневмонии), а также данные лабораторных исследований. При комплексном анализе этих данных необходимо принимать во внимание, что некоторые внебольничные инфекции имеют инкубационный период более 48 ч, например брюшной тиф, а внутриутробные инфекции, симптомы и признаки которых появляются через короткое время после рождения, также не относятся к нозокомиальным инфекциям.

В начале эры антибиотиков, когда пенициллин внедрялся в клиническую практику и 65% всех инфекций имело стафилококковое происхождение, проблема нозокомиальных инфекций, казалось, была успешно решена. Однако уже в 1944 г. появились сообщения о бета-лактамазапродуцирующих штаммах *S.aureus*, устойчивых к пенициллину.

Позднее, в 1955-1965 гг., вспышки нозокомиальных инфекций, вызванных пенициллинорезистентными стафилококками, представляли большую проблему во многих стационарах. Внедрение в клиническую практику пенициллиназостабильных бета-лактамных антибиотиков привело к снижению роли стафилококков в этиологии нозокомиальных инфекций. Одновременно, в 60-80 х годах, произошел значительный рост числа инфекций, вызванных грамотрицательными возбудителями. В большинстве исследований того времени на долю грамотрицательных аэробных бактерий приходилось

около 60% всех нозокомиальных инфекций, 30% - на долю грамположительных возбудителей, 3% - на анаэробы, оставшиеся 7% имели грибковую или вирусную этиологию. Впоследствии были описаны фенотипы резистентности, обусловленные различными механизмами, у целой группы возбудителей нозокомиальных инфекций. Несмотря на то, что заболевания, вызванные возбудителями с множественной устойчивостью (то есть устойчивостью к 2 и более антимикробным препаратам, к которым они обычно чувствительны) отмечались в 50-60-е годы, особое внимание на них было обращено только в конце 70-х - в начале 80-х годов в связи с возникновением эпидемий инфекций в различных стационарах. Так, например, в ряде лечебных учреждений отмечались вспышки заболеваний, вызванных штаммами *Serratia* spp., *Klebsiella* spp. и *S. aureus*, резистентными к 13 антимикробным препаратам. Часть штаммов той эпидемии продолжает циркулировать в стационарах и в настоящее время.

2. Наименование вопроса №2.

Выделяют следующие основные причины развития внутрибольничных инфекций:

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

3. Наименование вопроса №3.

Характер заболеваний, вызываемых условно-патогенными микроорганизмами (клинические формы ВИ):

- гнойно-воспалительные и гнойно-септические заболевания различных органов и тканей;
- бактериемия и сепсис;
- раневая и ожоговая инфекции;
- бронхо-легочные инфекции;
- инфекции мочевых путей;
- острые кишечные инфекции и др.

1.5 Лекция № 5 (2 часа)

Тема: «Классификация заболеваний кожи (пиодермии, стрептодермии, фурункулез, поверхностные микозы), особенности взятия клинического материала для исследования, выделения и идентификации возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) кожи. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ кожи»

1.5.1 Вопросы лекции:

1. Классификация заболеваний кожи.
2. Взятие патологического материала, выделение и идентификация возбудителей.
3. Основные противомикробные препараты.

1.5.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Все заболевания кожи можно разделить на несколько обширных групп:

- пиодермии - это гнойничковые болезни, вызываемые гноеродными микроорганизмами (стафилококком, стрептококком и др.). Пиодермии являются самыми распространенными заболеваниями кожи у любых возрастных групп. К ним относятся фолликулиты, сикоз вульгарный, фурункулез, карбункулы, гидраденит, импетиго и множество других;

- микозы - грибковые заболевания, вызываемые патогенными грибами: разноцветный лишай, эпидерматофития паховая, эпидерматофития стоп, трихофития, руброфития, кандидоз, бластомикоз и др.;

- вирусные дерматозы, вызываемые различными вирусами: герпес простой и опоясывающий, бородавки, контагиозный моллюск;

- хронические инфекционные болезни: туберкулез кожи, лепра, боррелиоз.

Вызванные стрептококками и стафилококками заболевания кожи составляют большую группу пиодермий. Пиодермия - заболевание с развитием гнойных пузырьков. Может протекать самостоятельно или быть следствием отягощенной чесотки, экземы и др. Встречаются пиодермии и у грудных детей. Неотягощенные пиодермиты - это фолликулит и остеофолликулит. В случае фолликулита под действием стафилококковой инфекции образуются гнойничковые пустулы красного цвета. После прорыва возможны небольшие рубчики. Остеофолликулит характеризуется образованием безболезненных пустул, которые вскоре исчезают без следа. Наиболее часто встречающиеся пиодермиты у мужчин - стафилококковый сикоз и масляный фолликулит. При уменьшении тестостерона развиваются рецидивные формы фолликулита, стафилококковый сикоз прогрессирует на коже, где расположены усы и борода. Масляный фолликулит встречается у лиц, имеющих дело с производством органических реагентов, занимающихся перегонкой нефтепродуктов и др. При этом заболевании образуется ярко выраженное камедоноподобное уплотнение. Носит длительный характер, поскольку пробка рассасывается очень медленно, на ее месте образуется поверхностный рубец.

Стафилококк при ослабленном иммунитете, нарушенном обмене веществ вызывает фурункул. При нем происходит воспаление волосяного фолликула и близ лежащих тканей. Процесс происходит остро и болезненно. После прорывания фурункула выходит гной и некротический стержень. При наличии нескольких фурункулов можно судить о фурункулезе. Карбункул прогрессирует у лиц с серьезными нарушениями в иммунной системе, при наличии сахарного диабета. Состоит из нескольких слившихся фурункулов. Захватывает все слои кожи, от эпидермиса, дермы и подкожной жировой клетчатки. Протекает крайне остро. После остается рубец.

ГВЗ - это большая группа этиологически полиморфных заболеваний, возбудителями которых принадлежат различным семействам. Насчитывается свыше 5 тыс. микроорганизмов которые могут вызвать ГВЗ. Всех возбудителей ГВЗ делят на 3 группы: Гноеродные. На их долю приходится до 80% всех ГВЗ. Наиболее часто ГВЗ вызывают представители: а) стафилококков, б) стрептококков, в) нейссерий. Грамотрицательные факультативно- анаэробные палочки: а) энтеробактерии (все условно патогенные этого семейства), б) псевдомонады, в) пастереллы, г) аэромонады. Облигатные анаэробы. Различают две подгруппы: а) клостридиальные, б) неклостридиальные.

В настоящее время ГВЗ вызывается не одним микроорганизмом, а ассоциацией видов микроорганизмов и наиболее часто это облигатные анаэробы и аэробы. Их две группы: 1) анаэробы, 2) факультативные анаэробы. Все ГВЗ могут протекать с различной клинической картиной (от локальной до генерализованной формы). Возбудителями ГВЗ в основном являются условно патогенные и могут входить в состав нормальной микрофлоры, следовательно, они могут вызывать заболевания при снижении иммунологической реактивности макроорганизма и поэтому они являются эндогенными инфекциями. Один и тот же возбудитель может вызывать самые различные клинические проявления. Пример: Кишечная палочка, пилонефрит. Одинаковые по клинике

заболевания могут быть вызваны самыми различными возбудителями. Пример: менингиты, пневмококки, гемофильные палочки.

2. Наименование вопроса №2

Диагностические лабораторные исследования включают специальные методы исследования, позволяющие подтвердить правильность диагноза.

- Патоморфологическое исследование: микроскопия биоптата и определение характера патологического процесса, типа клеток, проведение иммунофлюоресценции, иммунофенотипирования, использование специальных методов окраски и т.д.
- Микроскопическое исследование чешуек кожи, корок, экссудата, волос, ногтей.
- Грибы: препарат обрабатывают 10% раствором КОН; посев на специальные среды.
- Бактерии: окраска мазка по Граму, бактериологическое исследование, определение чувствительности к антибиотикам.
- Исследование крови: общий анализ крови, биохимический анализ крови, определение гормонального профиля, исследование крови на стерильность, определение антител к инфекционным агентам, уровень антинуклеарных антител, проведение аллерготестов, серологических реакций и т.д.
- Люминесцентная диагностика с помощью лампы Вуда кожи, волос.
- Аллергические кожные пробы (аппликационные, скарификационные и внутрикожные).
- Инструментальные методы: ультразвуковое исследование (УЗИ), рентгенография, компьютерная томография (КТ), магнитнорезонансная томография (МРТ) и др.

3. Наименование вопроса №3.

Препараты, применяемые для лечения и профилактики гнойно-септических заболеваний.

Вакцины

Химические вакцины. Протейная вакцина. Химическая вакцина, представляет собой белково-липополисахаридный комплекс, содержит протективные антигены протей. Стимулирует выработку активного антибактериального иммунитета. Используется для лечения и профилактики гнойно-воспалительных заболеваний (ГВЗ) протейной этиологии. Вакцина стафилококковая сухая лечебная. Содержит антигенный комплекс, полученный методом водной экстракции из микробной массы золотистого стафилококка. Вакцина предназначена для иммунотерапии, вызывает выработку антител к стафилококку и стимулирует неспецифическую резистентность.

Стафилококковый антифагин. Содержит комплекс растворимых термостабильных антигенов стафилококка. Стимулирует выработку активного антибактериального иммунитета. Используется для лечения заболеваний кожи стафилококковой этиологии.

Убитые вакцины.

Синегнойная поливалентная корпускулярная инактивированная жидкая. Смесь убитых эктерицидом культур 7 штаммов синегнойных палочек, относящихся к наиболее часто встречающимся серогруппам. Стимулирует выработку активного антибактериального иммунитета. Применяется для иммунотерапии и иммунопрофилактики синегнойной инфекции в реанимационных, хирургических и ожоговых отделениях, а также для иммунизации доноров с целью получения антисинегнойной плазмы.

Комплексные вакцины.

- Вакцина поликомпонентная из антигенов условнопатогенных микробов (ВП-4). Содержит антигенные комплексы стафилококка, протей, клебсиеллы пневмонии и кишечной палочки, выделенные путем экстракции гидроксиламином или водной экстракцией. Вакцина вызывает у привитых выработку антител к клебсиелле пневмонии, стафилококку, протее кишечной палочке. Стимулирует неспецифическую резистентность организма по отношению к перечисленным микробам, а также к другим условнопатогенным микроорганизмам. Препарат предназначен для иммунотерапии больных с хроническими воспалительными и обструктивными заболеваниями органов

дыхания, а также для иммунотерапии хронических и затяжных форм ГВЗ, вызванных указанными микроорганизмами.

- Вакцина стафило-протейно-синегнойная адсорбированная, жидкая. Представляет собой комплекс очищенных концентрированных анатоксинов стафилококка и синегнойной палочки, цитоплазматического антигена стафилококка и химической протейной вакцины, адсорбированных на гидроокиси алюминия. Препарат предназначен для активной иммунизации больных с целью терапии и профилактики больных с инфекциями, обусловленными стафилококками, протеем, синегнойной палочкой.

Анатоксины.

- Анатоксин синегнойной палочки адсорбированный. Препарат содержит обезвреженный формалином и теплом экзотоксин А синегнойной палочки, адсорбированный на гидроокиси алюминия. Стимулирует выработку активного анитоксического иммунитета. Препарат используют для иммунотерапии и иммунопрофилактики синегнойной инфекции, а также для иммунизации доноров с целью получения анитоксической антисинегнойной плазмы.

- Анатоксин стафилококковый адсорбированный. Препарат представляет собой фильтрат бульонной культуры стафилококка, обезвреженный формалином и теплом, очищенный от балластных белков, адсорбированный на гидроокиси алюминия. Введение препарата приводит к образованию специфических анитоксических антител. Он предназначен для профилактики стафилококковых инфекций у контингентов с повышенным риском заболевания (напр., больные, которым предстоят плановые операции), а также для иммунизации доноров с целью получения антистафилококковой плазмы и антистафилококкового иммуноглобулина.

Плазма.

Антибактериальная плазма.

1). Антипротейная плазма. Препарат содержит антипротейные антитела и получается от доноров, иммунизированных протейной вакциной. При введении препарата создается пассивный антибактериальный иммунитет. Используется для иммунотерапии ГВЗ протейной этиологии.

2). Антисинегнойная плазма. Препарат содержит антитела к синегнойной палочке. Получается от доноров, иммунизированных синегнойной корпускулярной вакциной. При введении препарата создается пассивный специфический антибактериальный иммунитет. Используется для иммунотерапии синегнойной инфекции.

Антитоксическая плазма.

Плазма анитоксическая антисинегнойная. Препарат содержит антитела к экзотоксину А синегнойной палочки. Получают от доноров, иммунизированных синегнойным анатоксином. При введении препарата создается пассивный анитоксический антисинегнойный иммунитет. Используется для иммунотерапии синегнойной инфекции.

Плазма антистафилококковая гипериммунная. Препарат содержит антитела к токсину стафилококка. Получают от доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. При введении создает пассивный антистафилококковый анитоксический иммунитет. Используется для иммунотерапии стафилококковой инфекции.

Иммуноглобулины. Иммуноглобулин антистафилококковый человеческий. Препарат содержит иммунологически активную белковую фракцию, выделенную из плазмы крови доноров, иммунизированных стафилококковым анатоксином. Активным началом являются антитела к стафилококковому токсину. Создает пассивный антистафилококковый анитоксический иммунитет. Используется для иммунотерапии стафилококковой инфекции.

Бактериофаги. Для лечения гнойных заболеваний используются следующие препараты бактериофагов: пиобактериофаг поливалентный, бактериофаг клебсиелл пневмонии, бактериофаг коли жидкий, бактериофаг протейный, бактериофаг псевдомонас

аэругиноза, бактериофаг стафилококковый, бактериофаг стрептококковый. Все указанные препараты содержат стерильные фильтраты фаголизатов гноеродных микроорганизмов.

1.6-7 Лекция № 6-7 (2 часа)

Тема: «Основные возбудители ГВЗ ногтей (паронихии и онихомикозы), особенности выделения и идентификации возбудителей, основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения»

1.6-7.1 Вопросы лекции:

1. Классификация ГВЗ ногтей
2. Особенности выделения и идентификации возбудителей
3. Специфические лечебные препараты.

1.6-7.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Одной из наиболее уязвимых частей тела у человека считаются ногти. Именно они, точно так же, как кожа и волосы, в первую очередь сигнализируют человеку о происходящих изменениях в его организме, вызванных некоторыми патологическими процессами. Иногда ухудшение состояния ногтевых пластин может быть вызвано дефицитом определенных витаминов и питательных веществ, но в некоторых случаях они поражаются серьезными заболеваниями. Ногти имеют свойство видоизменяться, менять цвет или разрушаться. Болезни ногтей встречаются, как у женщин, так и у мужчин, реже они поражают детей. Здоровые ногтевые пластины характеризуются выпуклой формой, гладкой блестящей поверхностью при сохранении постоянного уровня прозрачности, заканчиваются они выступающим свободным краем.

Паронихия ногтя относится к дерматологическим заболеваниям. Как правило, заболевание проявляется как острое воспаление кожи пальца в области ногтевого ложа. В редких случаях встречается хроническая форма, которая связана с профессиональными особенностями, например, частый контакт с активными химическими веществами. Основной причиной развития острого паронихия является занесение инфекции в мелкие ранки и заусеницы вокруг ногтей, которое в некоторых случаях переходит в гнойную стадию. Абсцесс с гнойным содержимым может привести к потере ногтя. Без должного лечения, воспаление продолжает поражать мягкие ткани по периметру и вглубь пальца вплоть до гнойного расплавления ногтевой фаланги. Возбудители паронихия – это довольно распространенные инфекционные агенты: стрептококк; золотистый стафилококк; различные грибковые инфекции. Паронихия также может стать осложнением других заболеваний, например, экземы, псориаза и даже сифилиса. В таком случае панариций считается хроническим. Классификация и симптоматика заболевания

В дерматологии существует общепринятая классификация паронихия, которая и определяет курс лечения заболевания. Виды заболевания таковы: простая форма; гнойная (пиококковая); кандидамикотическая; язвенная; роговая; при псориазе или экземе. Пиококковая паронихия характеризуется проникновением в толщу кожи возбудителей гнойных инфекций – стрептококк, стафилококк. При такой форме воспалительный процесс развивается стремительно, резко нарастает отек, сопровождается пульсирующими болями. Через несколько дней под ногтевым валиком скапливается гной и формируется абсцесс, который может прорываться самостоятельно, либо требуется хирургическое вмешательство. Кандидамикотическая паронихия еще называется болезнью кондитеров. Это связано с поражением кожи вокруг ногтей грибом кандидой. Воспаление развивается вследствие частых механических раздражений кожи вокруг ногтей, при контакте с грибом. Сочетание данных факторов с пониженным иммунитетом приводит к умеренному воспалению с периодическим обострением в виде гнойного образования.

Данный вид паронихия имеет затяжной характер течения. При этом виде поражения отмечается постепенное исчезновение тонкого слоя эпонихия над ногтевым валиком. Такой вид воспаления провоцирует развитие грибкового поражения ногтя. Паронихия язвенная появляется вследствие воздействия химических реагентов. При этом виде воспаления появляются довольно болезненные язвы, через которые инфекция попадает в глубокие ткани. Появление папулезных элементов в области ногтевого валика свидетельствует о возможном наличии в организме возбудителей сифилиса. Такой вид называется роговой паронихией.

Онихомикоз представляет собой грибковую инфекцию ногтевой пластинки, которая может вызываться различными видами патогенных грибов. При онихомикозе может поражаться одна или несколько ногтевых пластинок на руках, на стопах или одновременно на пальцах нижней и верхней конечности человека. Однако клиническая картина и особенности течения инфекции совершенно одинаковы, как на ногтевых пластинках пальцев рук, так и стоп. То есть, онихомикоз ногтей рук не отличается от такового на пальцах стоп. Однако существуют различные варианты течения грибковой инфекции ногтей, которые определяются только типом возбудителя, длительностью существования патологического процесса и объемом поражения ногтевой пластинки. Онихомикозы у детей, взрослых и пожилых людей представляют собой совершенно одинаковые заболевания, отличающиеся друг от друга только скоростью выздоровления. Онихомикозы могут вызываться следующими видами патогенных и условно-патогенных грибов: Дерматофит *Trichophyton rubrum* (является возбудителем инфекции в 75 – 90% случаев); Дерматофит *Trichophyton interdigitale* (является возбудителем инфекции в 10 – 20% случаев); Трихофиты *T. violaceum*, *T. tonsurans*, *T. schoenleinii*, *T. mentagrophytes* var. *gypseum*, *T. Verrucosum* (являются возбудителями инфекции с 1 – 3% случаев); Паховый эпидермофитон *Epidermophyton floccosum*; Возбудитель микроспории *Microsporum canis*; Дрожжеподобные грибки рода *Candida*; Плесневые грибки рода *Aspergillum*. В последние годы выросло число случаев онихомикоза, вызванных плесневыми грибами или несколькими видами грибов одновременно. Так, наиболее часто отмечается сочетанное поражение ногтевых пластинок дерматофитами и плесневыми или дрожжевыми грибами.

2. Наименование вопроса №2.

На первичном этапе при визуальном осмотре опытному специалисту трудно определить тип воспаления и нагноения на зараженном пальце. В лабораторных условиях проводится тщательное изучение всех видов выделений, кусочков эпидермиса, проводятся посевы в питательные среды для выделения различных возбудителей.

Онихомикоз предварительно диагностируют на основании анамнеза и клинических проявлений. Диагноз подтверждают при осмотре пораженного участка в лучах лампы Вуда (люминисцентная диагностика), конфокальной лазерной микроскопии соскобов с очага поражения на грибки, посеве исследуемого материала на питательные среды.

3. Наименование вопроса №3.

Поверхностный панариций лечится местным применением лекарственных препаратов. В случае проникновения инфекции в глубокие слои кожи врач дополнительно назначает антибактериальную терапию, антибиотики и физиопроцедуры, например, ультрафиолетовое облучение места поражения. Некоторые препараты для лечения паронихия пальца на руке: Димексид; мазь ихтиоловая; Левомеколь; мазь Вишневского; Фурациллин; Тетрациклиновая мазь при паронихии; Линкомицин.

Методы лечения онихомикоза определяются клинической разновидностью патологии. Поверхностное поражение ногтей требует только местной терапии с применением антимикотических, антибактериальных и кератолитических лаков и кремов, пластырей на основе клотримазола и миконазола. Более глубокое поражение ногтевой пластинки с частичной отслойкой ногтя предполагает подключение системной или

комбинированной терапии с использованием специальной обработки ногтя, антимикотиков группы азолов и аллиламинов внутрь, коррекцией фоновой патологии и симптоматической терапией препаратами, улучшающими микроциркуляцию крови, для гарантированной транспортировки необходимой терапевтической дозы антимикотика в очаг тлеющей инфекции. Полное поражение ногтя грибковой инфекцией требует малоинвазивного (с помощью кератолитического пластыря) или радикального удаления роговой пластинки в сочетании с санацией ложа, послеоперационными антисептическими и антимикотическими перевязками, последующей восстанавливающей терапией желатиновыми растворами и минерально-витаминовыми комплексами. На заключительной стадии лечения показано применение физиопроцедур: УВЧ, амплипульс-терапии, диатермии и других методик. При использовании современных препаратов терапия онихомикоза достаточно эффективна, в 10% случаев возможны рецидивы, требующие индивидуального подхода к пациенту.

1.8 Лекция № 8 (2 часа)

Тема: «Основные возбудители гнойно-воспалительных заболеваний волос (себорея, перхоть), особенности выделения и идентификации возбудителей, основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения»

1.8.1 Вопросы лекции:

1. Себорея, перхоть, клинические признаки, этиологические факторы, лечение.
2. Алопеция, разновидности, этиологические факторы, лечение.

1.8.2 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Среди болезней сальных желез наибольшее значение имеют себорея. Себорея – заболевание, обусловленное расстройством салообразования, проявляющееся усиленной секреторной активностью сальных желез и изменением химического состава кожного сала. Этиология и патогенез себореи недостаточно ясны. Бактерицидные свойства кожного сала подавляются в результате изменений в составе секрета сальных желез, что в свою очередь создает условия для размножения микрофлоры и трансформации сапрофитной флоры в патогенную. Количество кожного сала и его качественная характеристика зависят от общего состояния организма (особенно эндокринной и нервной системы, пищеварительного тракта), пола и возраста, характера питания, сопутствующих заболеваний и др. Наибольшее количество кожного сала образуется и выделяется в период полового созревания. В старческом возрасте его количество значительно снижается. Расстройство секреции кожного сала обычно возникает в результате нарушения физиологического равновесия между эстрогенными и андрогенными гормонами в сторону последних, что чаще наблюдается в возрасте от 14 до 25 лет. При себорее изменяется состав кожного сала в основном за счет увеличения содержания в нем свободных жирных кислот. Характерными гистологическими признаками себореи являются гиперкератоз, сглаживание сосочков дермы, гипертрофия сальных желез, воспалительный лимфогистиоцитарный инфильтрат вокруг придатков кожи и кровеносных сосудов. В результате усиленного ороговения затрудняется выделение секрета, происходят атрофия и гибель сальных желез и волосяных сосочков, развивается перифолликулярная гиперплазия соединительной ткани. В большей степени подобные изменения выражены при густой жирной себорее и в меньшей – при жидкой ее разновидности. При сухой форме ведущими патоморфологическими изменениями являются фолликулярный гиперкератоз и не– достаточное развитие сально-волосяного аппарата. Клиническая картина. Выделяют себорею жирную (густую и жидкую), сухую и смешанную. Наиболее выражены проявления себореи на участках кожного покрова, где сальные железы

располагаются в большом количестве: лицо, волосистая часть головы, грудь, спина. Густая жирная себорея характеризуется уплотнением и снижением эластичности кожи, буровато-сероватой ее окраской, значительным расширением устьев сальных желез. Нередко выводной проток железы закупоривается отторгающимися эпителиальными клетками, пропитанными кожным салом. Так возникает комедон (черный угорь) – роговая пробка; если этот элемент сдавить, то выделяется густая сальная масса. При этой форме себореи довольно часто встречаются атеромы – кисты сальных желез. В случае воспаления атеромы происходят ее вскрытие, выделение гноя и формирование рубца. При густой форме жирной себореи волосы грубые, жесткие. Из осложнений, возникающих при этой форме заболевания, в первую очередь необходимо отметить вторичные пиодермии: фурункулы абсцессы, фолликулиты. При жидкой жирной себорее кожа лоснится, напоминает апельсиновую корку (поры расширены, зияют), из расширенных протоков сальных желез в избытке выделяется кожное сало. Волосы на голове имеют вид смазанных маслом, склеиваются в пряди. На волосах более или менее плотно сидят довольно обильные желтоватые чешуйки. Возможно развитие облысения. При этой форме болезни в результате изменения химического состава кожное сало теряет присущие ему стерилизующие свойства, что ведет к присоединению вторичной инфекции и развитию пиодермии: фолликулитов, фурункулов, сикоза, импетиго и др. При сухой себорее салоотделение снижено, роговые чешуйки почти сплошь покрывают кожу головы и волосы. Развитие этого процесса связывают с активизацией возбудителя – *Pityrosporum ovale*. Шелушение развивается, как правило, в затылочно-теменной области либо по всей поверхности волосистой части головы. Чешуйки легко отделяются, загрязняют волосы, падают на одежду (перхоть). Волосы обычно сухие, тонкие, ломкие, с расщепленными концами. При этой форме заболевания на коже разгибательных поверхностей конечностей и боковых поверхностей туловища может быть выражен фолликулярный кератоз; кроме того, на коже могут располагаться пятна розового или красноватого цвета, покрытые мелкими чешуйками, – себорейды. Из субъективных ощущений больные отмечают чувство стягивания кожи, небольшой зуд, усиливающийся после умывания (особенно холодной водой). При смешанной себорее кожа в средней части лица (лоб, нос, подбородок) жирная, а на щеках – сухая; в лобной и теменной областях салоотделение резко усилено, а на остальной поверхности головы оно умеренно выражено или снижено. Возможно наличие смешанных форм жирной себореи: на лице выражены признаки жидкой, а на волосистой части головы – густой жирной себореи. Диагноз себореи ставится на основании клинической картины. В неясных случаях дифференциальный диагноз проводят с себорейной экземой, псориазом.

Лечение включает соблюдение диеты: ограничение углеводов, животных жиров, поваренной соли, экстрактивных веществ. Пища должна быть богата клетчаткой, витаминами, кисломолочными продуктами. Необходимо выявлять и по возможности устранять патогенетические факторы, способствующие длительному и упорному течению болезни (нарушения функций вегетативной нервной системы, пищеварительного тракта, печени, очаги хронической инфекции). Рекомендуются антиандрогенные препараты, способные ингибировать выделение кожного сала. Так, противозачаточный препарат «Диане», обладающий антиандрогенными свойствами, используется при лечении жирной себореи. Его назначают женщинам по 1 таблетке в день, начиная с 5-го дня менструации, в течение 21 дня. Затем после 7-дневного перерыва лечение возобновляют и проводят курсами в течение 3—5 мес. Мужчинам препарат назначают циклами по 10 дней с 20-дневными интервалами. Применяют также витамины А, С, Е, группы В, микроэлементы (сера, железо, фосфор и др.). Местно при жирной себорее применяют спиртовые растворы, содержащие резорцин (2—5%), салициловую кислоту (2—3%), борную кислоту, серу («молоко» Видаля), при сухой себорее – серно 5—10%-салициловую (1,5%) мазь, кремы, содержащие витамины А, Е и Р. Для борьбы с перхотью используют также

крема «Особый», «Паприн», лосьон «Нолан», шампунь «Себорин», «Хэд энд шоулдез», «Низорал», 2,5% сульсеновую пасту или мыло (при жирной и сухой себорее).

Перхоть может вызывать кожный грибок. При лечении перхоти можно использовать:

- «Низорал» (содержит активное вещество кетоконазол). Убивает грибки, лечит себорейный дерматит, лишай. Уже после 1 использования уменьшается жжение и зуд. Мытье головы проводят три раза в неделю, в течение месяца или двух недель.

- «Перхотал» – более дешевый аналог. Мытье головы – два раза в неделю.

- «Биодерма Нодэ DS» – подходит для лечения таких заболеваний как псориаз, дерматит, эффективно удаляет перхоть, грибок. В составе ихтиол, салициловая кислота, экстракт морской капусты (ламинарии). Мыть голову 21 день 4 раза в неделю.

- «Паста Сульсена» недорогая и эффективная, помимо лечения себореи, псориаза и перхоти, восстанавливает структуру волосяной луковицы, предотвращая ее выпадение. Паста наносится на влажные корни (сразу после мытья головы), смывается через 10-15 минут.

- Серная мазь. Нанесите мазь на кожу головы ровным слоем и втирайте массажными движениями 4-5 минут. Средство наносят утром, днем и вечером на чистую и сухую голову. Курс лечения 10 суток.

- «Нафтадерм», «Себазол», «Кето плюс», крем «Кортизон» (снимает воспаление), «Дермазол», «Альгопикс», дегтярный шампунь, цинковая мазь (снимает воспаление), «Фридерм цинк», спрей «Пантенол» (восстанавливает поврежденные ткани, снимает раздражение).

2. Наименование вопроса №2.

Алопеция (син.: calvities, облысение, плешивость) – полное или частичное выпадение или поредение волос, чаще на голове, реже также на других частях тела.

Этиология и патогенез. В развитии облысения определенную роль играют функциональные нарушения нервной системы, эндокринные заболевания, очаги хронической инфекции, изменения иммунного статуса, генетические факторы, нарушения периферической сосудистой системы и церебральных сосудов, дисбаланс микроэлементов, изменения реологических свойств крови и др. Перечисленные факторы влияют на процессы в корне волоса, на смену волосяного цикла развития. В норме ежедневно человек теряет до 100 волос; потеря большего количества волос не обеспечивается своевременной компенсацией и ведет к развитию облысения. Клиническая картина. Алопеция может быть тотальной (полное отсутствие волос), диффузной (резкое поредение волос) и очаговой (отсутствие волос на ограниченных участках). По клиническим особенностям и происхождению выделяют врожденную, симптоматическую, себорейную, преждевременную и гнездную алопеции.

Алопеция врожденная обусловлена эктомезодермальной дисплазией, может проявляться как самостоятельное заболевание или являться составной частью комплексной патологии, включающей также дефекты развития ногтей, зубов, костей, эндокринной системы и др. В основе врожденного облысения лежит частичное или полное отсутствие волосяных фолликулов (гипотрихоз). В развитии заболевания существенную роль играют генетически обусловленные нарушения синтеза аминокислот, что приводит к нарушению кератинизации волос. Кожа в участках поредения волос не изменена, а сами волосы тонкие, редкие, короткие, некоторые из них обламываются; щетинистые волосы бровей заменяются пушковыми, ресницы, как правило, отсутствуют или резко разрежены.

Алопеция симптоматическая является осложнением тяжелых общих заболеваний: острых и хронических инфекций, например сифилиса и болезней соединительной ткани, эндокринопатии, или результатом отравлений, длительной цитостатической терапии, лучевого воздействия. Это следствие токсических или аутоиммунных влияний на волосяные сосочки; болезнь носит очаговый, диффузный или тотальный характер. Алопеции токсические развиваются под воздействием ряда химических веществ, в том

числе в процессе производственной деятельности, или при приеме некоторых лекарственных препаратов (цитостатиков и др.). Патологический процесс при этом, как правило, имеет диффузный характер. После прекращения воздействия химического вещества рост волос восстанавливается. Выделяют несколько групп заболеваний, которые могут привести к рубцовой алопеции: грибковые (инфильтративно-нагноительная трихофития, фавус), бактериальные (туберкулез, сифилис, карбункул, фурункул и др.), вирусные (опоясывающий лишай, ветряная оспа); болезни соединительной ткани (красная волчанка, склеродермия).

Алопеция себорейная – развивается примерно у 25% людей как осложнение себореи, начинаясь, как правило, в период полового созревания и достигая максимальной степени выраженности к 23—25 годам. Волосы при этом становятся жирными, склеиваются в пряди. На волосах и коже располагаются более или менее плотно сидящие жирные, желтоватого цвета чешуйки. Волосы вначале выпадают умеренно, срок жизни новых волос укорачивается, они истончаются, редуют и постепенно замещаются пушковыми. В последующем процесс быстро нарастает, иногда наблюдается катастрофическое выпадение волос и становится заметной лысина, которая начинается с краев лба и идет назад к затылку или же с темени по направлению ко лбу и затылку. Лысина всегда окаймлена на затылке и на боковых поверхностях головы узкой лентой крепко сидящих нормальных волос. Гистологически выявляют небольшой гиперкератоз, расширение мелких сосудов дермы с лимфоцитарной инфильтрацией вокруг них, расширение устьев волосяных фолликулов со скоплением роговых масс, истончение их стенок, дистрофические изменения корневых влагалищ, сосочка и луковицы волоса, в связи с чем замена выпавших волос новыми практически невозможна. Вследствие этого происходит неполное восстановление волосяного покрова, нарушается процесс физиологической смены волос.

Лечение: назначают психотропные и ноотропные средства (сибазон, азафен, ноотропил), витамины (А, Е, поливитамины, в том числе содержащие микроэлементы), фитин, биотин, иммунокорректирующие препараты (декарис, метилурацил, Т-активин). При гнездной алопеции, кроме перечисленных препаратов, назначают ангиопротекторы (доксум) и препараты, улучшающие микроциркуляцию (трентал). В тяжелых случаях может быть использована кортикостероидная терапия (внутрь или в виде обкалывания очагов), однако она не гарантирует от рецидива заболевания, который усугубляется развивающейся стероидной атрофией кожи. При лечении себорейной и преждевременной алопеции назначают антиандрогенные препараты («Диане» и др.). При всех видах облысения используют токи Дарсонваля, орошения хлорэтилом, криомассаж, УФ-лучи. В тяжелых случаях УФ-лучи целесообразно сочетать с приемом фотосенсибилизаторов (аммифурин, бероксан) или проводить фотохимиотерапию. Показана также рефлексотерапия, в том числе лазерорефлексотерапия. Наружно назначают раздражающие спиртовые втирания (настойка красного перца, экстракт нафталанской нефти), кортикостероидные кремы (недлительно во избежание развития атрофии кожи), препарат «Ригейн», в состав которого входит миноксидил (при себорейной и преждевременной алопеции), а также пилластин (холерная вакцина) и силокаст. Втирания пилластина в очаги поражения проводят курсами по 6 дней (1 раз в сутки) с интервалом 1,5 мес (наиболее эффективен при гнездном облысении). В состав силокаста входят мивал (кремнийорганическое соединение), касторовое масло и димексид. Им смазывают пораженные участки 1—2 раза в день в течение нескольких месяцев (при всех видах облысения, кроме врожденного). Существенное значение имеет правильное мытье головы (лучше использовать кипяченую воду, нейтральные пережиренные мыла, а для ополаскивания – настои и отвары трав: крапивы, корня лопуха, ромашки, череды, чистотела, зверобоя и др.). При себорейной алопеции рекомендуется мыть голову 1 раз в 5-7 дней; при других формах заболевания режим мытья может быть произвольным. При себорейной и преждевременной алопеции целесообразно исключить из рациона

раздражающие продукты (алкоголь, кофе, копчености, соленья, приправы, маринады, экстрактивные вещества), ограничить прием жиров и углеводов (исключить сладости, мучные и макаронные изделия).

При всех видах облысения в рацион питания желательно включать свежие овощи (особенно морковь и капусту), фрукты (яблоки, абрикосы, курага), а также продукты, содержащие желатин (холодец, заливные, желе), морскую капусту, необходимо устранение нарушений функций нервной и эндокринной систем, пищеварительного тракта, печени, почек, очагов хронической инфекции, глистной инвазии, способствующих развитию алопеции.

1.9-10 Лекция № 9-10 (4 часа)

Тема: «Основные виды раневой инфекции (осложнения травм, послеоперационные осложнения, ожоговая инфекция). Основные аэробные и анаэробные возбудители раневой инфекции. Их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность»

1.9-10 Вопросы лекции:

1. Виды раневых инфекций
2. Этиология раневых инфекций.
3. Характеристика возбудителей раневых инфекций

1.9-10 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Рана - это нарушение целостности кожного покрова тела в результате внешнего насилия. Раны могут быть: поверхностными, глубокими, проникающими. Инфекция раневая - это результат развития патогенной микрофлоры в полости раны, то есть происходит осложнение раневого процесса. При случайных ранах инфицирование происходит в результате первичного загрязнения, этому способствует несвоевременное наложение стерильной повязки или неправильная обработка раны. Что касается хирургических ран, инфицирование здесь, как правило, вторичное, из-за ослабленного состояния организма больного, или внутрибольничное инфицирование. Этиологическая структура раневой инфекции зависит от типа и локализации раны, времени и места инфицирования. При бытовых, производственных, боевых ранениях микроорганизмы проникают в рану с поверхности ранящего орудия, одежды, поврежденного участка кожи и органов, содержащих собственную микрофлору. Эти условно-патогенные микроорганизмы обладают низкой вирулентностью и чувствительностью к антибиотикам и антисептикам. Во время пребывания в больничном стационаре может происходить инфицирование раны другими видами возбудителей или тем же видом, но иным вариантом. Как правило, вновь попавшие в рану микроорганизмы относятся к больничным экovarам, они устойчивы к факторам неспецифической защиты организма хозяина и антимикробным препаратам. В результате происходит вытеснение внебольничных вариантов из раны.

Возбудителями гнойно-воспалительных процессов при ранениях кожи и мягких тканей на первом этапе являются золотистый и эпидермальный стафилококки, реже — пиогенный стрептококк, протей, синегнойные бактерии, энтеробактерии, бактероиды. В этих случаях в ране нередко обнаруживаются монопопуляции. На последующих этапах возрастает процент смешанных инфекций, причем частыми компонентами микробных ассоциаций становятся кишечная палочка, клебсиеллы, энтеробактер, протей, синегнойные бактерии, аспорогенные анаэробы. При ранениях промежности, малого таза и брюшной полости с повреждением внутренних органов больший удельный вес имеют бактероиды, энтеробактерии, псевдомонады и их ассоциации.

Операционные раневые инфекции делятся на эндогенные и экзогенные, первичные и вторичные. При эндогенном инфицировании возбудители попадают в рану с кожи в

области операционного поля, вскрытых инфекционных очагов и полых органов, содержащих собственную микрофлору. Видовой состав возбудителей в этом случае соответствует таковому оперированных тканей и органов.

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

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

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

Согласно рекомендациям ВОЗ все наиболее часто встречающиеся бактериальные патогены разделены по уровням приоритетности: 1) патогены высокого уровня приоритетности (пиогенный стрептококк, золотистый стафилококк); 2) патогены среднего уровня приоритетности (энтеробактерии, псевдомонады и другие неферментирующие грамотрицательные бактерии, клостридии, бактероиды и другие анаэробы, стрептококки); 3) патогены низкого уровня приоритетности (*Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Pasteurella multocida* и др.).

Возбудители вирусных инфекций в отличие от грибов и бактерий очень редко являются продуцентами гнойного экссудата. Взаимосвязь лечащего врача и врача-бактериолога особенно важна при постановке диагноза и выборе тактики лечения больного при наличии заболевания, сопровождающегося гнойной инфекцией. Бактериолог должен сотрудничать с клиницистом, чтобы обеспечить взятие материала по всем правилам и его незамедлительную доставку в лабораторию для безотлагательного проведения необходимых исследований.

Даже приводится современный протокол микробиологического исследования клинического материала, полученного от пациентов с раневой инфекцией.

Хирургический материал может быть получен при пункции местных абсцессов или во время других хирургических процедур. Хирургу следует посоветовать отбирать несколько маленьких кусочков различных тканей и имеющиеся образцы гнойного экссудата. Если возможно, то не следует пользоваться ватным тампоном. Экссудат необходимо отбирать стерильным шприцем с иглой. Если использован ватный тампон, следует отбирать как можно больше экссудата и поместить тампон в соответствующую емкость для отправки в лабораторию.

2. Наименование вопроса №2.

Некоторые примеры клинических состояний и обнаруживаемые при этом микроорганизмы в различных образцах хирургического материала:

- перитонеальная полость наиболее часто содержит грамотрицательные кишечные бактерии, грамотрицательные анаэробные палочки (*Bacteroides fragilis*) и клостридии;
- межклеточный абсцесс может содержать любые микроорганизмы, как одного вида, так и смешанные: наиболее часто выделяются грамположительные кокки и грамотрицательные бактерии. Необходимо учитывать возможность присутствия анаэробных бактерий и амёб в зависимости от места расположения абсцессов;

- лимфатические узлы наиболее часто вовлекаются при системных инфекциях. Они увеличиваются в размерах и часто имеют тенденцию к аккумулярованию гнойного экссудата. Если лимфатический узел флюктуирует, содержащаяся в нем жидкость может быть пунктирована лечащим врачом. Биоптат или пунктат лимфатического узла ребенка следует исследовать на наличие *Mycobacterium tuberculosis* или других микобактерий. Дополнительно материал исследуют на наличие стафилококков, стрептококков и грамотрицательных кишечных бактерий;

- кожные покровы и подкожная клетчатка являются локусами как для абсцессов, так и для раневых инфекций. Подкожные абсцессы, как правило, вызываются стафилококками. Открытые, поврежденные, мокнущие кожные покровы часто поражены бета-гемолитическим стрептококком и/или стафилококком, как при импетиго. Другие разновидности кожных поражений, требующие хирургического вмешательства, часто рассматриваемые как результат внутрибольничных инфекций, – это пролежни. Бактерии, являющиеся комменсалами кожи или представителями нормальной микрофлоры кишечника, обладают способностью к пролиферации на поверхности язвы, что вызывает ее неприятный запах и вид;

- ожоги склонны к инфицированию различными видами бактерий. Наиболее часто обнаруживаемыми бактериальными агентами являются стафилококки и синегнойная палочка;

- выпоты. Иногда серозная или гнойная жидкость собирается в полостях, в которых в норме содержится очень маленький объем стерильной жидкости, например в перикардиальной сумке, плевральной полости, суставах или синовиальных сочленениях. Пунктирование полости иглой в асептических условиях позволяет взять для исследования материал, из которого может быть выделен и идентифицирован возбудитель. Обычно причиной появления выпотов являются бактерии, однако грибы и вирусы также могут быть ответственными за этот процесс. Такие инфекции, как правило, моноспецифичны, но могут встречаться и смешанные (аэробы и анаэробы) случаи. Пункция плевральной полости, например, может выявить пневмококки, зеленающие стрептококки, гемофильные палочки, анаэробные стрептококки и бактероиды.

3. Наименование вопроса № 3.

1.11 Лекция № 11 (2 часов)

Тема: «Особенности взятия клинического материала для исследования. Особенности выделения и идентификации возбудителей раневой инфекции. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения раневой инфекции»

1.11 Вопросы лекции:

1. Отбор клинического материала, выделение и идентификация возбудителей.
4. Лечение раневых инфекций.

1.11 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Взятие и транспортировка материала. Не представляется возможным описать все методики взятия материала из каждого типа раны, абсцесса и т.д. Эта задача требует тесного сотрудничества лаборатории и клинического отделения. Во множестве случаев это единственная возможность получить материал для исследования, поскольку во многих ситуациях “повторного” материала для исследования просто не будет. В связи с этим выполненное по всем правилам взятие материала, его транспортировка и хранение чрезвычайно важны и каких-либо отступлений от принятой процедуры следует избегать.

Абсцессы. В случае обнаружения абсцесса хирургу или лечащему врачу следует проконсультироваться с бактериологом, чтобы определить дальнейшие действия. Техника забора гноя и кусочков ткани из абсцесса аналогична той, что применяется при хирургической операции. Максимально возможное количество гнойного материала

следует забирать шприцем, взятый материал переносят в стерильную емкость в асептических условиях. В том случае, если стерильной емкости не оказалось, взятый материал может быть оставлен в шприце с закрытой иглой. В этом случае сам шприц доставляют в лабораторию. Следует принять меры к недопущению забора малого количества материала с помощью тампона, когда в действительности имеется большой объем экссудата. Тампон в виде исключения может быть использован только для сбора гноя, когда имеется скудное его количество или когда гной отбирают из анатомической области, требующей обращения с особой осторожностью, например из глаза. Когда кусочки ткани из области абсцесса получены, их необходимо измельчить в маленьком объеме стерильного бульона, используя для этого стерильные ножницы.

Инфицированные рваные, проникающие ранения, послеоперационные раны, ожоги, пролежни. После тщательной обработки операционного поля хирург определяет места, где скапливается гной, расположены некротические ткани, выделяется газ (крепитация) или наблюдаются другие признаки инфекции. Частицы пораженных тканей, предназначенные для лабораторного исследования, помещают в стерильную марлю и затем в стерильную емкость. Гной или другой экссудат должен быть аккуратно собран и помещен в стерильную пробирку. При необходимости могут быть использованы тампоны.

Свищи или отделяемое лимфатических узлов. В тех случаях, когда свищи или воспаленные лимфатические узлы самопроизвольно дренируются, этот материал должен быть тщательно собран с помощью стерильной пастеровской пипетки с резиновой грушей и помещен в стерильную пробирку. Если самопроизвольного дренирования не произошло, хирургу следует получить материал, используя стерильный шприц с иглой или зонд. Использование тампона по возможности следует избегать.

Выпоты. Ненормально большой объем скопившейся жидкости в полостях тела, таких как плевральная полость, брюшная полость, коленный сустав, требует вмешательства хирурга, который в асептических условиях производит прокол, собирает жидкость в стерильную емкость и организует ее быструю доставку в лабораторию для микробиологического и цитологического исследования. В тех случаях, когда продукция экссудата постоянно продолжается и поставлен открытый дренаж, необходимо собрать дренажную жидкость в асептических условиях в стерильную пробирку и отправить ее в лабораторию.

Макроскопическое исследование. Провести оценку образцов гноя или отделяемого ран, отобранных с помощью тампона, очень трудно, особенно когда тампоны были помещены в транспортную среду. Если же образцы гноя получены в стерильной емкости или шприце, бактериологу следует внимательно исследовать их для выявления особенностей цвета, консистенции и запаха.

Цвет. Цветовая гамма гноя может варьировать от желто-зеленого до красно-коричневого. Красный цвет обычно является следствием наличия в нем крови или гемоглобина. Пунктат из первичного амебиазного печеночного абсцесса имеет светло-коричневый или темно-коричневый цвет и желатинообразную консистенцию. Гной из послеоперационных или травматических ран (ожогов) может быть окрашен в зелено-голубой цвет за счет пигмента пирроцианина, вырабатываемого синегнойной палочкой.

Консистенция. Консистенция гноя может варьировать от очень жидкой до очень густой и клейкой. Экссудаты, полученные из суставов, плевральной полости, перикардального мешка или брюшины, обычно жидкие с возможной градацией от серозных до гнойных.

Гной, полученный из дренажа свищей шейной области, необходимо исследовать на наличие маленьких желтых гранул “серы”, которые являются колониями *Actinomyces israelii*. Наличие серых гранул позволяет поставить предположительный диагноз шейно-лицевого актиномикоза. Мелкие гранулы различного цвета (белого, черного, красного или коричневого) типичны для мицетомы – гранулематозной опухоли, которая обычно поражает нижние конечности (так называемая мадурская стопа) и характеризуется множественными абсцессами и самодренирующимися свищами. Цвет гранул

определяется наличием в них “волокнистых” бактерий или мицелиальных грибов. Гной из туберкулезного “холодного абсцесса” (с наличием нескольких характерных признаков воспаления) иногда сравнивают с мягким сыром и называют “казеиновым гноем”.

Запах. Отвратительный фекальный запах – один из главных характерных признаков анаэробной или смешанной инфекции. О характерном запахе вместе с результатами микроскопии мазка, окрашенного по Граму, бактериолог должен сразу же сообщить лечащему врачу, поскольку это может повлиять на выбор схемы эмпирической антибактериальной терапии.

Микроскопическое исследование. Каждый образец следует окрашивать по Граму и подвергать микроскопии. Приготовленный мазок микроскопируют в иммерсионном масле, используя объектив x100. Внимательно просматривают мазок, отмечая наличие и количество (+) следующих клеток: полиморфно-ядерные гранулоциты (клетки гноя); грамположительные кокки, расположенные в виде виноградной грозди (предположительно стафилококки); грамположительные кокки, расположенные в виде цепочек (предположительно стрептококки); грамотрицательные палочки, сходные с колиформами или облигатными анаэробами (бактероиды); крупные прямые грамположительные палочки с “обрубленными” концами – предположительно клостридии или бациллы; разнообразные бактериальные клетки, включая веретенообразные формы палочек. Такая картина свидетельствует о “смешанной анаэробной флоре”; *Candida* или другие дрожжевые клетки, которые выглядят как овальные грамположительные почкующиеся сферы, часто формируя дочерний псевдомицелий. Серые гранулы актиномицетов или гранулы мицетомы должны быть раздавлены на стекле, окрашены по Граму и исследованы на наличие тонких фрагментарных грамположительных волокон.

Культивирование. В том случае, когда при микроскопическом исследовании обнаружены бактерии или грибы, материал следует засеять на соответствующие питательные среды. Независимо от результатов микроскопического исследования все пробы гноя или экссудата следует посеять как минимум на три питательных среды: кровяной агар для выделения стрептококков и стафилококков; агар Мак-Конки для выделения грамотрицательных палочек; бульон, который может служить средой обогащения как для аэробов, так и для анаэробов, например тиогликолевый бульон. Другие питательные среды следует использовать исходя из результатов микроскопического исследования и нозологической формы инфекции, например в случаях перечисленных ниже. При подозрении на наличие стафилококков целесообразно использовать желточно-солевой агар для получения роста чистой культуры и для предварительной дифференциации между золотистым и другими стафилококками. При подозрении на наличие стрептококков их идентификацию можно ускорить, положив дифференцирующий диск с бацитрацином на чашку с первичным посевом (кровяная среда). При подозрении на грибы материал следует засеять в две пробирки с агаром Сабуро. Одну из них инкубируют при +35–37° С, другую – при комнатной температуре. Гной у больных с артритом, плевритом, остеомиелитом, воспалением подкожной клетчатки, особенно полученный от детей в возрасте до 5 лет, следует высевать на шоколадный агар для выявления гемофильной палочки. Культивирование в строго анаэробных условиях необходимо осуществлять, если в окрашенном по Граму материале обнаружена “смешанная анаэробная флора”, а также когда этот материал имеет типичный неприятный запах. Анаэробный кровяной агар также необходим для роста *Actinomyces* spp. Анаэробное культивирование потребуется, если лечащий врач подозревает газовую гангрену (клостридии).

Оценка результатов. Выделенные микроорганизмы являются этиологическим агентом воспалительного процесса. При выделении ассоциации микроорганизмов из раневого отделяемого и выпотной жидкости ведущее значение в течение гнойно-воспалительного процесса следует отдавать видам, количественно преобладающим в данной ассоциации. В лаборатории должен быть произведен подсчет степени обсемененности исследуемого

материала. Имеются следующие критерии количественной оценки микробного роста при прямом штриховом посеве раневого отделяемого на 1/2 чашки Петри с плотной питательной средой:

степень 1 – очень скудный рост (на плотных питательных средах роста нет, рост только в бульоне);

степень 2 – небольшое количество – ≤ 10 колоний;

степень 3 – умеренное количество – от 11 до 100 колоний;

степень 4 – большое количество – более 100 колоний.

Показано, что уровень обсемененности тканей в ране, равный 105 и выше колониеобразующих единиц (КОЕ)/ г содержимого, является критическим. Превышение этого уровня указывает на возможность генерализации инфекционного процесса. Аналогичного критерия для выпотов пока не найдено.

Определение чувствительности к антибиотикам. Колонии, выросшие на плотной питательной среде, идентифицируют и определяют чувствительность чистой культуры микроорганизма к антибиотикам. Используют или стандартный диско-диффузионный метод, предложенный Керби и Бауэром (метод Керби – Бауэра), или метод серийных разведений – коммерческие тест-системы (“стрипы”), представляющие из себя набор тех или иных антибиотиков, представленных в двух концентрациях. Это метод (breakpoint) позволяет избежать трудоемкости стандартного метода серийных разведений, но не теряет при этом его главного достоинства – количественного определения минимальной подавляющей концентрации препарата, соответствующей терапевтической концентрации антибиотика в организме

2. Наименование вопроса №2.

Лечение таких патологий состоит в хирургическом вмешательстве и в назначении эффективных противомикробных препаратов. Возможно также назначение обезболивающих лекарственных средств. Хирургическое вмешательство - это: широкое вскрытие инфицированной раны; тщательное промывание и санация раневой полости; иссечение мертвых тканей; дренаж гнойных участков. Далее требуется регулярная обработка раны антисептиками. Антибиотики назначает врач с учетом специфики заболеваний, чувствительности к установленным бактериям, взаимодействия их с другими препаратами, а также влияния лекарства на организм пациента. Применять антисептики для промывания ран также необходимо с особой осторожностью, так как раствор всасывается и при непереносимости может вызвать осложнения. Они не должны вызывать болевых ощущений. Необходимо следить за реакцией организма на длительное использование антисептиков. В некоторых случаях замедляется процесс заживления. Для лучшего заживания раны рекомендуется укреплять и стимулировать иммунитет и защищать пораженный участок от случайных повреждений.

1.12-13 Лекция № 12-13 (4 часа)

Тема: «Основные представители аутохтонной и аллохтонной микрофлоры дыхательных путей. Основные возбудители ГВЗ дыхательных путей (ангина, ОРЗ, бронхиты, пневмонии, плевриты, абсцессы легких). Их таксономия, морфофизиологические особенности, патогенность»

1.12-13 Вопросы лекции:

1. Основные представители аутохтонной и аллохтонной микрофлоры дыхательных путей

2. Основные возбудители ГВЗ дыхательных путей, морфофизиологические особенности, патогенность

1.12-13 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Заражение возбудителями оппортунистических инфекций происходит главным образом воздушно-капельным путем из внешней среды или верхних дыхательных путей самого больного. Но возбудители нередко проникают также из крови (при сепсисе), при оперативных вмешательствах, эндоскопических процедурах, во время интратрахеального введения контаминированных микробами аэрозолей и растворов. Но верхние дыхательные пути и полость рта имеют собственную микрофлору. В преддверии носа широко представлена микрофлора воздуха. В полости носа здоровых людей постоянно обитают дифтероиды, псевдодифтерийные бактерии, микрококки, нейссерии, эпидермальный стафилококк, негемолитические и бета-гемолитические стрептококки. К факультативным обитателям носа относят золотистый стафилококк, пневмококк, клебсиеллу пневмонии, бранхамеллу, вейлонеллы, бактероиды, анаэробные кокки, актиномицеты, трепонемы, микоплазмы. При заболеваниях носа, особенно хронических, а также развитии дисмикробиоценоза в полостях носа и околоносовых пазух в больших количествах появляются кишечная палочка, протей, псевдомонады, что увеличивает риск развития бронхолегочных заболеваний. Микрофлора носоглотки в качественном отношении близка к микрофлоре носа, а ротоглотки – к микрофлоре полости рта. Некоторые из представителей микрофлоры носа и носоглотки обнаруживаются в гортани, трахее и крупных бронхах, но в относительно небольшом количестве. Из внешней среды в бронхи заносятся эпидермальный и золотистый стафилококки, пиогенный и пневмонийный стрептококки, клебсиелла пневмонии и реже другие грамотрицательные бактерии.

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

2. Наименование вопроса №2.

Этиологическая структура бронхолегочных заболеваний в значительной мере зависит от нозологической формы заболевания. Острые бронхиты в основном первоначально возникают как вирусные инфекции, вызванные обычно вирусами гриппа, парагриппа, пневмонии, адено- и риновирусами и др. Но в ряде случаев первичными этиологическими агентами могут быть стрептококк пневмонии, палочка инфлюэнцы и возможно другие бактерии. К вирусной инфекции в большинстве случаев вскоре присоединяются вторичная бактериальная, микоплазменная или реже грибковая инфекции и процесс приобретает гнойно-воспалительный характер. В качестве вторичных инфекционных агентов чаще выступают стрептококк пневмонии, инфлюэнца-бактерия, золотистый и эпидермальный стафилококки, клебсиелла пневмонии, кишечная палочка.

Хронический бронхит, согласно современным данным, в начальной стадии в основном протекает как неинфекционное заболевание, которое в последующем по мере снижения самоочищающей функции бронхов и нарушения проходимости бронхов переходит в инфекционный процесс, вызванный разнообразными микробными ассоциациями. Ведущими членами ассоциаций являются стрептококк пневмонии, инфлюэнца-бактерия, золотистый и эпидермальный стафилококки. С большей или меньшей частотой в зависимости от целого ряда факторов совозбудителями хронического

бронхита могут быть: кишечная палочка, клебсиелла пневмонии, протей, синегнойная бактерия, пиогенный стрептококк, нейссерии, акинетобактерии, энтеробактер, бактероиды, фузобактерии, пептострептококки, кандиды и др. Количественный и качественный состав ассоциаций постоянно меняется. Если больной находится в больничном стационаре, то ведущее место в этиологии приобретает больничные штаммы условно-патогенных бактерий.

Абсцесс и гангрена легкого обычно являются осложнением острой и деструктивной пневмонии, острого и хронического, особенно гнояного, обструктивного бронхита. В этиологии абсцесса ведущее место занимают гноеродные кокки (стафилококки, стрептококки) в ассоциации с грамотрицательными бактериями (протей, кишечная палочка, инфлюэнца-бактерии, синегнойные бактерии), гангрены - анаэробные бактерии (бактероиды, пептострептококки, фузобактерии в ассоциации с гноеродными кокками и грамотрицательными бактериями).

Эмпиема плевральной полости также чаще вызывается ассоциацией бактерий, среди которых ведущее место принадлежит анаэробным бактериям, гноеродным коккам, протей, синегнойным бактериям.

Острая пневмония чаще вызывается стрептококком пневмонии в монопопуляции или в ассоциации с золотистым и эпидермальным стафилококками и грамотрицательными бактериями. Острые пневмонии у детей вызываются в 10-30% случаев респираторными вирусами и микоплазмами. Часто возбудителем тяжело протекающей пневмонии у детей в ряде вспышек является представитель подцарства простейших - *Pneumocysta carinii*, у взрослых - *Legionella pneumophila* (болезнь легионеров).

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

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

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

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

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

Основная масса (92-94%) острых заболеваний верхних дыхательных путей у детей обуславливается респираторными вирусами (ОРВИ) и в антибактериальном лечении не нуждается. К сожалению, частота назначения противомикробных препаратов у детей с ОРВИ достигает в поликлиниках 65-85%, а в некоторых стационарах 98%. Конечно, в некоторых случаях антибиотики назначать приходится и при неуверенности в

бактериальном происхождении болезни из-за сложности диагностики, но лечить ими всех подряд - тактика негодная.

Такую частоту иногда пытаются объяснить попыткой предотвратить бактериальные осложнения вирусной инфекции; эта тактика, как правило, не дает результатов по двум причинам. Во-первых, бактериальные осложнения развиваются обычно быстро, уже в первый день заболевания, на фоне вызываемых вирусами нарушений мукоцилиарного клиренса (система очищения дыхательных путей) и кратковременной иммуносупрессии, так что их отсутствие в начале болезни позволяет прогнозировать гладкое дальнейшее ее течение. Во-вторых, подавляемые антибиотиком чувствительные к нему представители обычной флоры дыхательных путей (пневмококки, стрептококки, гемофильная палочка - *Haemophilus influenzae*) быстро замещаются устойчивой флорой (стафилококки, *Moraxella catarrhalis*), на которую в случае развития осложнения он действовать не будет.

Ангина, острый тонзиллит, тонзил-лофарингит проявляются покраснением зева и миндалин, гнойными пробками или налетами, болью в горле при глотании. Чаще всего, особенно у детей раннего возраста, их вызывают адено- или энтеровирусы; но в возрасте старше 4-5 лет повышается доля ангин, вызванных гемолитическим стрептококком группы А, что может привести к развитию ревматизма. Для выявления стрептококка, а также для исключения дифтерии делают посевы из зева, без посева диагноз можно поставить лишь предположительно, впрочем этого достаточно для назначения антибиотика с целью профилактики ревматизма.

Ангина может сопровождаться нагноением тканей глотки (глоточный абсцесс) или вовлечением в процесс лимфатического узла, обычно у угла нижней челюсти или на шее. Увеличение узлов часто сопутствует ангине, о лимфадените говорят при его нагноении. Эти осложнения проявляются болезненностью, высокой температурой, интоксикацией.

Средний отит - самое частое заболевание маленьких детей - проявляется болями в ухе, высокой температурой, симптомами интоксикации; при перфорации барабанной перепонки видны выделения из уха. Отит вызывают пневмококки, реже стрептококки и гемофильная палочка, а у детей, получавших недавно антибиотики, - стафилококки, *Moraxella catharalis*.

Во многих странах мира в последнее десятилетие наблюдается рост устойчивости флоры дыхательных путей, в значительной степени в связи с неоправданно широким применением антибиотиков.

Синусит. Изменения в придаточных пазухах носа сопровождают большинство ОРВИ и не нуждаются в антибактериальном лечении. При присоединении бактериальной инфекции (гемофильная палочка, пневмококк) эти изменения сохраняются более 3 недель и обуславливают упорный насморк, заложенность носа, боли в области пазух. Стафилококковый синусит протекает остро, с покраснением и отеком мягких тканей лица и глазницы.

Острый бронхит - заболевание в основном вирусное, оно проявляется кашлем, сухими и разнокалиберными влажными хрипами, обычно невысокой температурой. Лишь в 5-15% случаев у детей дошкольного и школьного возраста, особенно в осенний период, лечение бронхита антибиотиками оправдано - это бронхиты, вызванные микоплазмой (*Mycoplasma pneumoniae*). Для них характерны обилие мелкопузырчатых хрипов и их асимметрия, а также наличие конъюнктивита. При сочетании бронхита с ангиной (что наблюдается нечасто) можно думать о хламидийной его этиологии (*Chlamidia pneumoniae*). Остальные бронхиты в применении антибактериальных средств не нуждаются, в том числе и в поздние сроки, при усилении отхождения мокроты (нередко зеленоватой).

У части больных при отсутствии указанных выше достаточно легко выявляемых бактериальных заболеваний все-таки нельзя снять подозрение на наличие бактериального осложнения, прежде всего пневмонии.

2. Наименование вопроса №2.

Гнойно-воспалительные заболевания (ГВЗ) дыхательных путей продолжают оставаться одной из актуальных проблем современной медицины. Этиологическими агентами ГВЗ являются условно-патогенные микроорганизмы, многие из которых принадлежат к транзиторной флоре организма человека.

Верхние дыхательные пути являются важнейшими входными воротами для патогенных микроорганизмов, вызывающих инфекции верхних дыхательных путей (риниты, фарингиты, синуситы, ларингиты, трахеиты) и нижних отделов дыхательного тракта (бронхиты, пневмонии). В последние годы к числу наиболее распространенных заболеваний человека относятся хронические обструктивные болезни легких (ХОБЛ). В структуре заболеваемости они входят в число лидирующих по числу дней нетрудоспособности, причинам инвалидности и занимают четвертое место среди причин смерти. ХОБЛ — собирательное понятие, которое объединяет группу хронических болезней дыхательной системы: хронический обструктивный бронхит и эмфизему легких.

Этиологически значимыми микроорганизмами при ГВЗ нижних дыхательных путей являются: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Branhamella catarrhalis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

В настоящее время в развитии воспаления дыхательных путей в 8—39% случаев участвуют атипичные микроорганизмы, такие как *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*. Эти микроорганизмы имеют большое значение в возникновении трахеобронхитов и пневмоний у детей раннего возраста. Клиническая картина хламидийной и микоплазменной инфекции нижних дыхательных путей характеризуется отсутствием выраженной лихорадки, скудностью физикальных данных, частым сочетанием бронхита и пневмонии с воспалением верхних дыхательных путей — фарингитом, синуситом, отитом.

Основными возбудителями при нетяжелой пневмонии оказываются пневмококк, гемофильная палочка, микоплазма и хламидия. В случае тяжелой, тем более жизнеугрожающей, пневмонии пневмококк остается лидирующим возбудителем, роль гемофильной палочки возрастает, но так и остается вторичной, а вот микоплазма и хламидия по мере утяжеления болезни как бы отступают назад, предоставляя место основным возбудителям — легионелле (при тяжелой пневмонии) и представителям семейства *Enterobacteriaceae* — *Escherichia coli* и *Klebsiella pneumoniae*.

В большинстве исследований отмечено, что при бактериальных инфекциях нижних дыхательных путей основным возбудителем (в более половины случаев) является гемофильная палочка. Большое значение имеют также *S. pneumoniae* и *Moraxella catarrhalis*. Причиной обострения могут являться грамотрицательные бактерии, *S. aureus*, а также внутриклеточные возбудители, такие как *C. pneumoniae*, *M. pneumoniae*.

Основными бактериальными возбудителями острых инфекций верхних дыхательных путей являются *S. pneumoniae* и *H. influenzae*. Гораздо реже выделяются *M. catarrhalis*, б-гемолитический стрептококк группы А. Неясно значение вирусов, которые при специальных исследованиях в 6% случаев выделяются как единственный возбудитель.

При микробиологических исследованиях дистальных отделов дыхательных путей с использованием специальной бронхологической техники, защищающей пробы от загрязнения, у больных ХОБЛ в 20—30% случаев выявляются пневмотропные вирусы (респираторно-синцитиальный вирус, аденовирусы, вирусы гриппа), у 50% — бактерии, причем наиболее часто *S. pneumoniae*, *H. influenzae* и *M. catarrhalis*. В обсемененности слизистой оболочки передних отделов полости носа ведущая роль принадлежит грамположительным коккам — *S. epidermidis* и *S. aureus*, *Streptococcus* группы *viridans*, *S. pyogenes*, *C. albicans*, *E. coli*, *Neisseria sicca*, *Neisseria mucosa*, *S. pneumoniae*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *S. saprophyticus*. Всего на долю грамположительных кокков приходилось 67% от общего количества выделенных культур, из них на стафилококки — 30%, стрептококки — 29,4%. Таким образом, в обсемененности слизистой оболочки зева ведущая роль принадлежала грамположительным коккам, в основном эпидермальному и золотистому

стафилококкам и стрептококкам группы *viridans*. Следует также отметить роль грамотрицательных кокков — бактерий рода *Neisseria*, на долю которых приходилось 11% , и грибов рода *Candida*, составляющих 12% от общего количества культур. При дисбиозах слизистой оболочки носа преобладали коагулазоотрицательные стафилококки (КОС) — *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. xylosus* (49,4%), доля *S. aureus* составляла 28,5%, в меньших количествах выделялись дифтероиды (9,5%), моракселлы (4,2%), гемофильные палочки (2,4%), β -гемолитические стрептококки (1,2%), энтеробактерии (0,6%) и грибы рода *Candida* (0,6%). При дисбиозах слизистой оболочки зева преобладали *S. aureus* (34,3%) при значительном сокращении доли КОС — *S. epidermidis* (4,6%), *S. Haemolyticus* (1,8%), возрастала роль β -гемолитических стрептококков (16,2%), энтеробактерий — *E. coli* (2,8%), *Klebsiella* spp. (3,7%), *E. aerogenes* (1,4%), грибов рода *Candida* (25,5%). Значительно реже встречались дифтероиды (0,9%), моракселлы (0,9%), гемофильные палочки (0,5%), но выделялись неферментирующие глюкозу грамотрицательные бактерии — *P. aeruginosa* (2,3%), *Acinetobacter* spp. и *Alcaligenes* spp. (по 0,5%).

При бронхоскопическом обследовании больных с хроническими бронхитами, пневмонией, бронхиальной астмой и раком легких были выделены альфа-гемолитические стрептококки (29,4%), нейссерии (13,7%), стоматококки (9,5%), флавобактерии (7,4%), β -гемолитические стрептококки (4,2%), гемофильные палочки (2,1%), *S. aureus* (8,4%), *P. aeruginosa* (3,2%), *Klebsiella* sp. (5,3%), грибы рода *Candida* (8,4%) и единичные изоляты *E. aerogenes*, *Citrobacter koseri*, *Serratia marcescens*, *S. xylosus*, *Acinetobacter lwoffii*, дифтероидов и плесневых грибов.

Особенности выделения микроорганизмов при ГВЗ дыхательных путей

1. Наиболее часто при ГВЗ респираторного тракта выделяются грамположительные кокки. Однако их этиологическая значимость в развитии воспаления по мере продвижения от верхних к нижним дыхательным путям уменьшается. Так, доля грамположительных кокков на слизистой оболочке носа составляет 80% всей выделенной микрофлоры, зева — 60%, в мокроте — 50%. Отмечаются изменения видового и родового состава кокковой микрофлоры при ГВЗ респираторного тракта. Так, на слизистой оболочке носа среди грамположительных кокков преобладают стафилококки (70—80%), со слизистой оболочки зева они выделяются в меньших количествах (30—40%), а в пробах мокроты они составляют всего лишь 8—16%. Среди стафилококков, как возбудителей ГВЗ респираторного тракта, большую роль играют КОС, частота выделения которых уменьшается от верхних к нижним дыхательным путям. Так, при ГВЗ носа КОС выделяются в 47—49%, в зеве — 7—18%, в легких и бронхах — до 11%. Наиболее часто идентифицированным видом при ГВЗ респираторного тракта является *S. epidermidis*.

2. В развитии ГВЗ нижних дыхательных путей на долю кокковой грамотрицательной микрофлоры (нейссерий и бранхамелл) приходится 11—13,7%.

3. В этиологической структуре ГВЗ зева большой удельный вес принадлежит грибковой флоре (до 25%), тогда как при ГВЗ носа грибы выделяются лишь в 0,5—4,5% случаев, а при заболеваниях нижних дыхательных путей — в 8—11,5%.

4. Этиологическая роль неферментирующих глюкозу грамотрицательных бактерий в развитии ГВЗ респираторного тракта увеличивается по мере продвижения от верхних к нижним дыхательным путям, составляя 1,3% при ГВЗ носа, 1,6—3,3% — при ГВЗ зева, 2,7—3,3% — при ГВЗ легких и бронхов.

5. Гемофильная палочка не является этиологически значимой при ГВЗ респираторного тракта как в Московской области, так и в Нижнем Новгороде.

6. Среди изолятов стрептококков, выделенных от больных с ГВЗ как верхних, так и нижних отделов респираторного тракта, преобладают штаммы *Streptococcus* группы *viridans*, затем *S. pyogenes* и лишь затем *S. pneumoniae*. Казанные особенности микрофлоры, выявленные у больных с различными заболеваниями дыхательных путей, необходимо учитывать при назначении соответствующих антибактериальных препаратов.

1.14-15 Лекция № 14-15 (4 часа)

Тема: «Особенности взятия клинического материала для исследования (соскоб, мокрота, бронхиальный смыв, плевральный выпот, биоптат). Особенности выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ дыхательных путей»

1.14-15 Вопросы лекции:

1. Особенности взятия клинического материала при ГВЗ дыхательных путей
2. Основные противомикробные препараты для лечения.

1.14-15 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Основная проблема этиологической диагностики пневмоний заключается в том, что патологический материал, получаемый с помощью большинства вышеизложенных методов, с высокой степенью вероятности может быть контаминирован микрофлорой полости рта. Многими исследователями высказывается мнение, что использование защищенных щеток или телескопических катетеров обеспечивает получение наиболее значимых результатов (поскольку позволяет минимизировать вероятность контаминации образца микрофлорой полости рта). Исследование мокроты, получаемой при откашливании, относится к наименее чувствительным методам диагностики. Однако, поскольку в ряде случаев мокрота служит единственным материалом, доступным для исследования, необходимо соблюдать особую тщательность при ее сборе. Правила сбора мокроты: мокроту необходимо собирать утром, до приема пищи; перед сбором мокроты надлежит осуществить туалет полости рта (тщательное полоскание кипяченой водой); пациенты должны быть проинструктированы о необходимости получить содержимое нижних отделов дыхательных путей, а не полости рта или носоглотки; сбор мокроты необходимо производить в стерильные (желательно одноразовые) контейнеры. Продолжительность хранения проб собранной мокроты при комнатной температуре не должна превышать 2 ч. У больных, находящихся на ИВЛ, показано использование инвазивных методов забора материала. Необходимо помнить, что материал, получаемый через трахеостому, отличается низкой диагностической ценностью. Чаще всего получают биоматериал при бронхоскопии. Для получения смыва из области пораженного участка легкого бронхоскоп продвигают до «заклинивания» в соответствующий сегментарный бронх (для получения бронхиальных промывных вод) или субсегментарный бронх (для получения бронхоальвеолярного лаважа). Бронхиальные смывы и бронхоальвеолярный лаваж получают перед процедурой взятия образца с помощью цитологической щетки или перед биопсией для избежания попадания крови в трахеобронхиальный секрет (кровь может изменить концентрацию как клеточных, так и неклеточных компонентов секрета). Через канал бронхоскопа для биопсии вводят катетер, через который подают в бронх 5-15 мл стерильного 0,85% раствора хлорида натрия. Через несколько минут введенный раствор осторожно аспирируют в стерильный контейнер или в стерильную пробирку. Полученные смывы быстро (в течение 15-20 мин) доставляют в бактериологическую лабораторию, избегая охлаждения проб! Для получения смыва из области пораженного участка легкого также предложен так называемый «слепой» метод бронхоальвеолярного минилаважа с использованием телескопического двойного катетера с этиленгликолевой пробкой на его дистальном конце (для предотвращения контаминирования внутреннего при введении через интубационную трубку). Этот метод позволяет брать смывы у больных, находящихся на ИВЛ, без бронхоскопии. Перед введением катетера интубационную трубку обрабатывают антисептиком. После этого телескопический катетер проводят через интубационную трубку в дистальные отделы бронхов вслепую, до «заклинивания» катетера. После этого катетер продувают 10 мл воздуха для удаления этиленгликолевой пробки, которая в бронхах растворяется очень быстро. Внутренний, более тонкий катетер вводят через наружный катетер приблизительно на 3-3,5 см

дистальнее. Через внутренний — стерильный! катетер вводят шприцем 10-20 мл стерильного 0,85 % раствора хлорида натрия. Через несколько минут осторожно аспирируют в шприц несколько миллилитров полученного смыва. Этот смыв в стерильном контейнере (пробирке) быстро (в течение 15-20 мин) отправляют в бактериологическую лабораторию, избегая при транспортировке охлаждения образцов. При организации диагностики пневмоний необходимо получать биоматериал для исследования до начала антибиотикотерапии

Образцы из зева исследуют прежде всего для выявления α -гемолитических стрептококков группы А, *H.influenzae*(при эпиглотитах). При наличии специфического анамнеза проводят исследование для исключения гонококковой этиологии фарингита.

Не следует брать материал при воспалённом надгортаннике, так как может возникнуть обструкция дыхательных путей! Мазок из зева следует брать до еды или через 2 - 3 часа после приёма пищи. Перед взятием пробы больному необходимо прополоскать рот тёплой кипячёной водой. Аккуратно прижимая язык шпателем, вводят стерильный тампон между дужками миндалин и язычком. Движением тампона вперёд и назад собирают материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления слизистой. Тампон помещают в стерильную пробирку, при необходимости используя транспортную среду.

Бактериологическое исследование носоглоточной слизи на менингококки. Исследуемый материал берут из задней стенки носоглотки натошак или через 3 - 4 часа после еды стерильным ватным тампоном, укрепленным на изогнутой проволоке. Материал берут с обязательным надавливанием шпателем на корень языка. Тампон вводят концом кверху за мягкое небо в носоглотку и проводят 2 -3 раза по задней стенке. При извлечении тампон не должен касаться зубов, слизистой щек, языка и язычка. Материал может быть взят смоченным тампоном, который затем доставляют в лабораторию. Питательную среду для смачивания тампонов получают в бактериологической лаборатории. Можно использовать специальные транспортные среды. Полученную пробу доставить в лабораторию, избегая охлаждения

Мазок со слизистой передних отделов полости носа. Исследование обычно проводится для выявления носительства метициллинрезистентных штаммов *S.aureus*.

Мазок со слизистой носа берут одним стерильным тампоном. Тампон вводится сначала в здоровую ноздрю до упора на уровне носовой раковины и вращательными движениями собирают материал со слизистой. Повторяют процедуру в другом носовом ходе. Тампон помещают в стерильную пробирку.

Аспират из придаточных пазух. Исследуют при бактериальных синуситах помимо исследования микрофлоры носовой полости. Материал отсылают в лабораторию в анаэробной транспортной среде или непосредственно в шприце.

Не рекомендуется исследовать промывную жидкость из носоглотки, так как образцы контаминированы нормальной микрофлорой верх-них дыхательных путей, что не позволяет правильно трактовать результаты анализа. При хронических синуситах возможен прицельный забор материала для микробиологического исследования с использованием эндоскопов.

2. Наименование вопроса №2.

Особенности пациентов и патологии	Основные возбудители	Терапия выбора	Альтернативная терапия	Примечания
Дифтерия				
	<i>C. diphtheriae</i>	Бензилпенициллин прокин в/м 600 тыс. Ед 2 р/сут, затем Феноксиметилпенициллин в/н 0,25 г 4 р/сут	Эритромицин в/в 0,25-0,5 г 4 р/сут затем Эритромицин в/н 0,25 г 4 р/сут	Госпитализация. Основное значение имеет обязательное введение противодифтерийной сыворотки! Длительность АБТ – 14 дн.
Мастондиз				
Острый Амбулаторно В стационаре	<i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i>	Амоксициллин/клавулат в/н 0,625 г 3 р/сут или 1,0 г 2 р/сут, или 2,125* г 2 р/сут Амоксициллин/клавулат в/в 1,2 г 3 р/сут, Цефтриаксон в/м, в/в 2 г 1 р/сут, Цефотаксим в/м, в/в 2 г 3 р/сут	Левифлоксацин в/н 0,5 г 1 р/сут, Моксифлоксацин в/н 0,4 г 1 р/сут, Гемифлоксацин в/н 0,32 г 1 р/сут, Левифлоксацин в/в 0,5 г 1 р/сут, Моксифлоксацин в/н 0,4 г 1 р/сут, Клиндамицин в/м 0,3-0,9 г 3-4 р/сут	
Хронический	Полимикробная: <i>S. aureus</i> , <i>Pseudomonas spp.</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> + Анаэробы	Основу составляет хирургическое лечение. Перед операцией и после нее, в зависимости от возбудителя ЦС III-IV, ФХ в течение 3 дн.		Необходимо бактериологическое исследование
Отит наружный				
Острый диффузный гнойный отит («уху пловца»)	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>	Ушные капли: Дексаметазон + неомицин + полимиксин В по 2 кап. 2 р/сут, Гентамицин + фузидовая к-та по 2 кап. 2 р/сут, Гентамицин + бетаметазон по 3-4 кап. в каждое ухо 2-4 р/сут, Ципрофлоксацин по 2 кап. 2-3 р/сут. При тяжелом течении: Левифлоксацин в/н, в/в 0,5 г 1-2 р/сут, Цефепим в/в 2 г 2 р/сут, Меропенем в/в 1 г 3 р/сут		Промывание гипертоническим р-ром NaCl. Капли с 2% уксусной к-той. При перфорированной барабанной перепонке не применять капли, содержащие неомицин. При остром течении (обычно <i>S. aureus</i>) рекомендовано системное применение антистафилококковых β-лактамов
Фурункул наружного слухового прохода	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus spp.</i>	Амоксициллин/клавулат в/н 0,625 г, в/в 1,2 г 3 р/сут, Амоксициллин/сульбактам в/н 1 г (по амоксициллину) 3 р/сут. Местно – мупироцин, фузидовая к-та	Цефазолин в/м, в/в 1 г 3 р/сут, Оксациллин в/в 1 г 4 р/сут, Ю-тримюксавол в/н 960 мг 2 р/сут, Линезолид в/н, в/в 0,6 г 2 р/сут	
Хронический наружный отит	Обычно при сборе, смешанная микробная этиология и гиперчувствительность	Ушные капли: Дексаметазон + неомицин + полимиксин В по 2 кап. 2 р/сут, Гентамицин + бетаметазон по 3-4 кап. в каждое ухо 2-4 р/сут		При перфорированной барабанной перепонке не применять капли, содержащие неомицин
Злокачественный отит (при сахарном диабете или иммуносупрессии)	<i>Pseudomonas spp.</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus spp.</i>	Цефепим в/в 2 г 2 р/сут ± амикацин 15-20 мг/кг 1 р/сут	Левифлоксацин в/н, в/в 0,5 г 1 р/сут или ципрофлоксацин в/н, в/в 0,5 г 2 р/сут, или имипенем в/в 0,5 г 4 р/сут, или меропенем в/в 1 г 3 р/сут ± амикацин 15-20 мг/кг 1 р/сут	Госпитализация. Опасность развития остеомиелита

1.16-17 Лекция № 16-17 (4 часа)

Тема: «Основные представители аутохтонной и аллохтонной ки-шечной микрофлоры и их количественное содержание. Их таксономия, морфо-физиологические особенности, патогенность»

1.16-17 Вопросы лекции:

- Оппортунистические инфекции желудочно-кишечного тракта.
- Основные противомикробные препараты для лечения.

1.16-17 Краткое содержание вопросов

- Наименование вопроса №1.

В ЖКТ человека обитают микроорганизмы более 400 видов. Содержание колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл внутрипросветного содержимого по мере продвижения от желудка к толстой кишке увеличивается с 10²–3 до 10¹¹–12. Одновременно возрастает доля анаэробных микроорганизмов и снижается их окислительный потенциал. Кишечные бактерии представлены основной (доминирующей, или резидентной), сопутствующей и остаточной популяциями. Доминирующая популяция состоит главным образом из бактерий семейств *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* и бактериоидов. Сопутствующая популяция представлена кишечной палочкой, эубактериями, фузобактериями, энтерококками и пептококками. В остаточную популяцию входят дрожжеподобные грибы, бациллы, клостридии, протей и др. Часть указанных микроорганизмов обладает более или менее выраженными патогенными свойствами. Принято считать, что у здорового человека характеристики патогенных или условнопатогенных имеют не более 15% кишечных микробов. В верхних отделах ЖКТ состав микрофлоры сходен с таковым ротоглотки; заметная доля ее представлена стрептококками. В дистальном направлении постепенно возрастает содержание лактобацилл, а в толстой кишке преобладают бифидобактерии.

По современным представлениям, основную роль в поддержании нормального физиологического состояния микрофлоры ЖКТ играют бактерии семейств *Lactobacillus* и *Bifidobacteria*, которые представляют собой грамположительные неспорообразующие анаэробы, не обладающие патогенными свойствами. Важной характеристикой этих микроорганизмов служит сахаролитический тип метаболизма. В процессе сбраживания углеводов под действием ферментов лактобацилл и бифидобактерий образуются короткоцепочечные жирные кислоты – молочная, уксусная, масляная, пропионовая. В присутствии этих кислот тормозится развитие условно-патогенных штаммов, которые в

большинстве своем обладают протеолитическим типом метаболизма. Подавление протеолитических штаммов сопровождается угнетением гнилостных процессов и подавлением образования аммиака, ароматических аминов, сульфидов, эндогенных канцерогенов. Благодаря выработке жирных кислот происходит регуляция pH внутрикишечного содержимого. Короткоцепочечные жирные кислоты играют важную роль в регуляции метаболизма. Поступая в системный кровоток, они обеспечивают до 20% ежедневной энергетической потребности организма, а также служат главным поставщиком энергии для эпителия кишечной стенки. Масляная и пропионовая кислоты повышают митотическую активность и регулируют дифференцировку эпителия. Молочная и пропионовая кислоты регулируют всасывание кальция. Большой интерес вызывает их роль в регуляции обмена холестерина и метаболизма глюкозы в печени.

Лактобациллы и бифидобактерии синтезируют аминокислоты, белки, витамины B1, B2, B6, B12, K, никотиновую и фолиевую кислоты, вещества с антиоксидантной активностью. Бактерии основной популяции играют важную роль в переваривании компонентов молока. Лактобациллы и энтерококки способны расщеплять лактозу и молочные белки. Выделяемая бифидобактериями фосфопроteinфосфатаза участвует в метаболизме казеина. Все эти процессы протекают в тонкой кишке. Виды лактобацилл, населяющих кишечник, включают: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. salivarius*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*. Среди бифидобактерий выделяют *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis*.

Из аэробных микроорганизмов, относящихся к сопутствующей популяции, серьезная роль в микробном биоценозе кишечника принадлежит негемолитической кишечной палочке – *Escherichia coli*, которая вырабатывает витамины (B1, B2, B6, B12, K, никотиновую, фолиевую, пантотеновую кислоты), участвует в обмене холестерина, билирубина, холина, желчных и жирных кислот, опосредованно влияет на всасывание железа и кальция.

По мере расширения знаний об особенностях жизнедеятельности кишечной микрофлоры становится все более отчетливым представление о ее важной роли в поддержании напряженности местного и системного иммунитета. В кишечнике существуют защитные механизмы, препятствующие избыточному размножению и внедрению микрофлоры. К их числу относят целостность эпителия и щеточную каемку (расстояние между микроворсинками которой меньше размеров бактерии), продукцию иммуноглобулина А, присутствие желчи, наличие пейеровых бляшек и пр. Благодаря выработке веществ с антибактериальной активностью (бактериоцинов, короткоцепочечных жирных кислот, лактоферрина, лизоцима) нормальная микрофлора обеспечивает местную защиту от избыточного размножения условно-патогенных и внедрения патогенных микроорганизмов. Присутствие постоянного микробного раздражителя и контакт с макрофагами и лимфоцитами в области пейеровых бляшек обеспечивают достаточную напряженность местного иммунитета, выработку иммуноглобулина А и высокую фагоцитарную активность. В то же время постоянный контакт с иммунными клетками лежит в основе иммунологической толерантности. Компоненты кишечных бактерий проникают в системный кровоток, поддерживая таким образом необходимую степень напряженности системного иммунитета и обеспечивая его “знакомство” с микрофлорой окружающей среды.

Состав микробной популяции кишечника даже у здорового человека подвержен изменчивости и, по-видимому, отражает способность приспособления организма к особенностям питания и образа жизни, климатическим факторам. Следует признать, что общее понятие “дисбактериоз”, до недавнего времени широко применявшееся для обозначения нарушений состава кишечной микрофлоры, не отражает в полной мере сути подобных изменений, не позволяет отчетливо сформулировать диагноз и определить тактику лечения.

Причины нарушений состава кишечной микрофлоры. Можно выделить отдельные заболевания и синдромы, которые нередко ошибочно трактуются как дисбактериоз: синдром избыточного бактериального роста; антибиотико-ассоциированная диарея;

инфекция *Clostridium difficile* (псевдомембранозный колит); синдром раздраженного кишечника; “диарея путешественников”; дисахаридазная недостаточность; кандидоз кишечника на фоне иммунодефицитных состояний; стафилококковый энтерит и пр. Каждое из этих заболеваний имеет свою причину, определенные факторы риска, клиническую картину, диагностические критерии и тактику лечения. Безусловно на фоне этих заболеваний могут развиваться вторичные нарушения микробного состава кишечника. Наиболее часто в клинической практике встречается синдром избыточного бактериального роста, характеризующийся уменьшением количества анаэробов (особенно бифидобактерий), увеличением общего числа функционально неполноценных форм *E. coli* (“лактозо-”, “маннит-”, “индолоотрицательных”), содержания гемолитических форм *E. coli* и созданием условий для размножения *Candida spp.* Синдром избыточного бактериального роста развивается на фоне нарушений просветного или пристеночного пищеварения (врожденный дефицит ферментов, панкреатит, глютенная энтеропатия, энтериты), пассажа кишечного содержимого (межкишечные свищи, “слепые петли” кишечника, дивертикулы, нарушения перистальтики, кишечная непроходимость); снижения защитных свойств слизистой оболочки (анацидные состояния, иммунодефициты); ятрогенных воздействий на микрофлору кишечника (применение кортикостероидов, цитостатиков, особенно у ослабленных и пожилых пациентов). Избыточное размножение бактерий наблюдается главным образом в тонкой кишке, поскольку здесь создается наиболее благоприятная питательная среда. Проявления синдрома избыточного бактериального роста, такие как метеоризм, урчание, переливание в животе, жидкий стул, гиповитаминоз, похудание, нередко выходят на первый план в клинической картине основных заболеваний, перечисленных выше. Однако даже те кишечные бактерии, которые рассматриваются как непатогенные, не обладающие отчетливой способностью к адгезии, инвазии и продукции токсинов, при несостоятельности местных механизмов защиты теоретически способны вызывать повреждение стенки кишечника, а, возможно, также системную инфекцию. Поэтому назначение лекарственных препаратов на основе кишечных бактерий (пробиотиков) всегда должно быть обоснованным.

Тесты, подтверждающие наличие патологических нарушений состава микрофлоры. Как и в диагностике других заболеваний, для оценки изменений кишечной микрофлоры необходимо применять адекватные методы.

Критерии дисбактериоза кишечника: снижение содержания бифидобактерий менее 10^8 КОЕ/г фекалий; снижение содержания лактобацилл менее 10^8 КОЕ/г; увеличение содержания эшерихий менее $3,5 \times 10^8$ КОЕ/г; снижение содержания эшерихий менее $2,5 \times 10^8$ КОЕ/г; появление эшерихий с измененными свойствами (лактозоотрицательных, слабо ферментирующих лактозу или гемолитических) в количестве более 10% общего числа; обнаружение энтерококков в количестве 10^6 КОЕ/г; обнаружение условно-патогенных грамотрицательных палочек (представителей рода *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*) в количестве более 10^3 КОЕ/г; обнаружение грибов рода *Candida* более чем в 10^4 КОЕ/г; обнаружение золотистого стафилококка более чем 10^4 КОЕ/г; обнаружение клостридий более 10^3 КОЕ/г. Посев кала на дисбактериоз, распространенный в России, нельзя признать информативным тестом, тем более что патологические изменения микрофлоры в основном затрагивают тонкую кишку. Этот метод представляет ценность с точки зрения исключения кишечных инфекций, а также инфекции *C. difficile*.

Исследование содержимого желудочно-кишечного тракта. Возбудители, которые выделяются при воспалительных процессах разнообразной локализации, в основном, являются представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Для оценки этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов при разнообразных желудочно-кишечных расстройствах, в том числе при диагностике

кишечного дисбактериоза, важно знать критерии качественного и количественного соотношения микробных видов в разных отделах желудочно-кишечного тракта.

Забор материала для исследования.

Пищевод и желудок. Материал для посева получают при эзофагоскопии и гастроскопии. На бактериологическое исследование направляются также рвотные массы и промывные воды желудка.

Тонкий кишечник. Материал берут с помощью специального зонда, который открывают в определенном участке, а после забора содержимого опять закрывают.

Толстый кишечник. Исследованию подлежат опорожнения. При необходимости изучения микрофлоры запальчиво измененных участков слизистой оболочки забор материала проводят при ректороманоскопии из пораженных участков.

Желчь получают при зондировании двенадцатиперстной кишки (исследуют все три порции желчи).

Проведение исследования. Для посева патологического материала из разных отделов желудочно-кишечного тракта используют такие питательные среды: среда Эндо, кровяной агар, молочно-солевой агар, агар Сабуро. Заняв на среды проводят шпателем, используя определенную дозу патологического материала (или его разведение), чтобы определить КУО бактерий разных видов. При появлении роста подсчитывают количество разных видов и отсеивают по 2-3 колонии для идентификации. При диагностике кишечного дисбактериоза необходим количественный учет как аэробной, так и анаэробной микрофлоры кишечника. Оценка результатов. В связи с тем, что исследованию подлежат пробы, которые в норме содержат разнообразную микрофлору, ведущее значение принадлежит количественной оценке разных видов в ассоциациях, которые выделяются из патологического материала, и сравнению полученных данных с нормальным составом биоценоза данной области.

2. Наименование вопроса №2. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. В связи с тем, что условно-патогенные микроорганизмы, как правило, имеют множественную лекарственную стойкость, определение антибиотикограмм выделенного возбудителя является необходимым условием успешной антибиотикотерапии. За степенью чувствительности к антибиотикам микроорганизмы разделяются на три группы: чувствительные, умеренно стойкие и стойкие. К чувствительным принадлежат штаммы, рост которых подавляется концентрациями препарата, которые создаются в сыворотке крови больного при введении среднетерапевтических доз антибиотиков. К умеренно стойким принадлежат штаммы, для притеснения роста которых нужны концентрации, которые создаются в сыворотке при введении большого максимальных терапевтических доз антибиотиков. Стойкими считаются те микроорганизмы, рост которых не подавляется максимально допустимыми дозами лекарственных веществ. Степень чувствительности микроорганизмов к химиотерапевтическим препаратам в лабораторных условиях определяется минимальной концентрацией препарата, которая подавляет рост исследуемого штамма *in vitro* (МПК). Сопоставление минимальной подавляющей концентрации, определенной *in vitro*, и концентрации. Какая достигается в организме при введении терапевтических доз этого препарата больному, позволяет установить степень чувствительности возбудителя к данному препарату. Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам применяют метод диффузии в агар с использованием бумажных дисков с антибиотиками и метод серийных разведений в жидких и плотных питательных средах. Метод определения чувствительности с помощью дисков является качественным. Вместе с тем установленная корреляция между размерами зон задержки роста микробов и значениями МПК антибиотика, что позволяет определить количественно степень чувствительности исследуемого штамма. Количественный метод (метод серийных разведений) позволяет установить МПК препаратов.

В начале XX столетия великий русский ученый Мечников И.И. выдвинул гипотезу о том, что высокое содержание лактобацилл в кишечном биоценозе является необходимым условием здоровья и долголетия человека. Мечников И.И. проводил опыты по использованию в лечебных целях живой культуры бифидобактерий. В последующие годы продолжались разработки лекарственных препаратов на основе микроорганизмов, обладающих полезными свойствами, – так называемых пробиотиков. В качестве потенциального лечебного средства лактобациллы первоначально привлекали к себе наибольшее внимание как бактерии с наиболее хорошо изученными полезными свойствами. С 1920-х гг. культура *L. acidophilus* стала использоваться в форме ацидофильного молока для лечения заболеваний ЖКТ, сопровождающихся запорами. С 1950-х гг. накапливается опыт использования *L. acidophilus* и других культур для предупреждения антибиотико-ассоциированной диареи. По мере развития микробиологии были получены новые сведения о позитивных свойствах бифидобактерий, кишечной палочки, нетоксигенного молочнокислого стрептококка – *Streptococcus* (или *Enterococcus*) *faecium*. Определенные штаммы этих микроорганизмов и их комбинации стали включать в состав препаратов пробиотиков. При изучении способности микробов к адгезии к эпителиоцитам тонкой кишки показано, что применение микроорганизмов в сочетании повышает их способность фиксироваться в зоне щеточной каемки. Механизмы лечебного действия пробиотиков включают: подавление роста патогенных микроорганизмов, восстановление целостности эпителия, стимуляцию секреции иммуноглобулина А, подавление выработки провоспалительных цитокинов, нормализацию метаболических процессов.

Современный подход к разработке подобных препаратов подразумевает, во-первых, применение микроорганизмов в сочетаниях и, во-вторых, выпуск их в капсулированной форме, допускающей длительное хранение при обычной температуре. Клиникоэкспериментальные исследования показали, что под действием желудочного сока и желчи пробиотики теряют до 90% своей активности до момента попадания в кишечник. Разрабатываются способы повышения выживаемости бактерий – за счет их иммобилизации на пористых микроносителях, включения в состав препарата компонентов питательной среды. Несмотря на “теоретически” грамотную разработку пробиотических препаратов, далеко не все из них оказываются эффективными на практике. К настоящему времени накоплены данные множества открытых и слепых контролируемых исследований, по результатам которых сделаны некоторые выводы о перспективах применения тех или иных видов микроорганизмов при различных заболеваниях кишечника.

Показано, что наибольшим эффектом в лечении инфекционного гастроэнтерита у детей обладают *L. rhamnosus* штамма GG, у взрослых – *E. faecium* SF68. По некоторым данным, в период восстановления после вирусного гастроэнтерита целесообразно назначение препаратов, содержащих лактобактерии или их комбинации с бифидобактериями и энтерококком; скорейшему разрешению после бактериальных кишечных инфекций способствуют подвиды бифидобактерий. Способность к снижению частоты развития антибиотико-ассоциированной диареи установлена для следующих бактерий в составе пробиотиков: *L. rhamnosus* штамма GG; комбинация *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*; *E. faecium* SF68; *B. longum*; комбинация *Lactobacillus* и *B. longum*; лечебные дрожжи *Saccharomyces boulardii*.

Для снижения частоты побочных эффектов антихеликобактерной терапии рекомендуется одновременный прием пробиотиков, содержащих *L. rhamnosus* и *S. boulardii*, или комбинацию *L. acidophilus* с *Bifidobacterium lactis*.

В профилактике развития диареи путешественников эффективной оказалась комбинация *L. acidophilus*, *L. Bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*. В лечении рецидивирующей инфекции *C. difficile* (псевдомембранозного колита) наиболее эффективным является пробиотик, содержащий *S. boulardii*. При синдроме раздраженного

кишечника исследовалось влияние пробиотиков на выраженность таких симптомов, как вздутие живота, боль, а также общей суммы проявлений. Продemonстрирована эффективность микроорганизмов *E. faecium*, *L. plantarum*, а также смеси VSL#3 (комбинация *Bifidobacterium breve*, *B. longum*, *B. infantis*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*), смеси *L. acidophilus*, *L. plantarum* и *B. breve* и смеси *L. Salivarius* и *B. infantis*. Однако эти данные получены на относительно небольших группах пациентов, поэтому пока не нашли отражения в международных рекомендациях по лечению больных синдромом раздраженного кишечника. Остро стоит вопрос о возможности применения пробиотиков для лечения и профилактики обострений при хронических воспалительных заболеваниях кишечника – язвенном колите и болезни Крона. С учетом несомненной роли эндогенной микрофлоры в поддержании целостности эпителия и контроле воспаления, а также потенциальной токсичности применяющихся сегодня иммуносупрессоров на пробиотики возлагаются большие надежды как на “препараты будущего” в лечении воспалительных заболеваний кишечника. В силу недостаточно большого статистического материала результаты проведенных исследований пока не позволяют выработать общепризнанные рекомендации по включению пробиотиков в стандартные схемы лечения. Однако весьма обнадеживающие данные получены в отношении способности сложного пробиотика VSL#3 снижать частоту рецидивов болезни Крона. При язвенном колите эффект в плане поддержания ремиссии продемонстрировали *E. coli* Nissle 1917 и *Lactobacillus* GG; с точки зрения индукции ремиссии – очень высокие дозы пробиотика VSL#3. Следует понимать, что назначение пробиотиков редко бывает эффективным в отсутствие этиотропного и патогенетического лечения основного заболевания. В зависимости от конкретной ситуации может потребоваться хирургическое лечение (например, при синдроме приводящей петли, межкишечных свищах), назначение противовоспалительных и антибактериальных препаратов, регуляторов моторики ЖКТ (например, при синдроме раздраженного кишечника). В России зарегистрировано множество препаратов пробиотиков. Однако подавляющее большинство из них не является достаточно современным и не содержит видов и штаммов микроорганизмов, в отношении которых получены доказательные данные сравнительных исследований. По мере накопления опыта наметилась тенденция к применению комбинированных пробиотиков. В последние годы в практике российских гастроэнтерологов заслуженным признанием пользуется Линекс, комбинированный препарат, содержащий бактерии – представители естественной микрофлоры кишечника: *Bifidobacterium infantis* v. *liberorum*, *Lactobacillus acidophilus* и нетоксигенный молочнокислый стрептококк группы D – *Streptococcus* (*Enterococcus*) *faecium*. Как было отмечено выше, эти виды бактерий продемонстрировали клиническую эффективность в лечении ряда заболеваний кишечника и входят в число микроорганизмов, с которыми связываются особые “надежды” на включение в будущем в схемы терапии хронических воспалительных заболеваний кишечника. Культуры микроорганизмов, входящие в состав Линекса, получены выращиванием на средах с добавлением антибиотиков, поэтому обладают устойчивостью к большинству антибактериальных средств и способны размножаться даже в условиях антибактериальной терапии. Устойчивость полученных штаммов к антибиотикам настолько высока, что сохраняется при повторных инокуляциях 30 поколений, а также *in vivo*. При этом не отмечено переноса генов антибактериальной резистентности к другим видам микроорганизмов. Это очень важно с точки зрения последствий применения Линекса: как на фоне приема, так и после отмены препарата нет опасности выработки резистентности к антибиотикам со стороны патогенных бактерий и собственной микрофлоры.

1.18-19 Лекция № 18-19 (4 часов)

Тема: «Основные представители аутохтонной и аллохтонной микрофлоры мочевыводящих и половых путей. Основные возбудители ГВЗ мочевыводящих и половых путей, их таксономия, морфофизиологические особенности, патогенность»

1.18-19 Вопросы лекции:

1. Оппортунистические инфекции в урологии, диагностика и лечение.
2. Заболевания половых путей женщин, этиология, диагностика, лечение.

1.18-19 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

"Инфекции мочевых путей" (ИМП) - термин, охватывающий широкий круг заболеваний, при которых имеется микробная колонизация в моче свыше 10^4 КОЕ/мл и микробная инвазия с развитием инфекционного процесса в какой-либо части мочеполового тракта от наружного отверстия уретры до коркового вещества почек. В зависимости от преимущественного инфекционного поражения какого-либо органа выделяют пиелонефрит, цистит, простатит, уретрит и т.д.

Большая часть инфекций мочевого тракта (ИМТ) локализована в мочевом пузыре и уретре. Из этих органов инфекция может подниматься по уретре (уретрит) и впоследствии поражать почки (пиелонефрит). Женщины более склонны к инфицированию мочевого тракта, взятие проб мочи для исследования у них также представляет большие сложности.

Как у мужчин, так и у женщин ИМТ могут протекать бессимптомно, остро или принимать хронический характер. Бессимптомное течение может быть диагностировано при выделении культур микроорганизмов. Острое течение инфекционных процессов наиболее часто наблюдается у женщин всех возрастов; такие пациенты, как правило, лечатся в условиях поликлиники и редко попадают в стационар. Хронические инфекционные процессы как у женщин, так и у мужчин всех возрастов ассоциируются обычно с вызывающими их заболеваниями (например, пиелонефриты, простатиты, врожденные аномалии мочеполового тракта, онкология и др.); такие пациенты, как правило, лечатся в условиях стационара.

Бессимптомные, острые и хронические заболевания мочевого тракта являются совершенно различными состояниями, в связи с чем результаты лабораторных исследований мочи часто требуют различной интерпретации.

Приблизительно у 10% пациентов, страдающих ИМТ, в моче могут присутствовать два микроорганизма, оба из которых могут рассматриваться как возбудители заболевания. Наличие в образце мочи трех различных микроорганизмов и более является серьезным основанием для предположения об ошибках при взятии проб мочи или последующих манипуляциях. Вместе с тем в моче пациентов с ИМТ, которым установлен постоянный катетер мочевого пузыря, часто наблюдается множество различных микроорганизмов.

Исследуемым материалом является:

- моча, полученная неинвазивным путем;
- моча, полученная инвазивным путем: надлобковая пункция мочевого пузыря, цистоскопия, катетеризация.

Моча, полученная и первым, и вторым способами, обязательно должна собираться в специальную лабораторную посуду, которую берут в лаборатории.

В норме моча человека, полученная неинвазивным путем, как правило, может быть контаминирована представителями нормальной микрофлоры мочевыводящих путей.

Время проведения исследования до получения отрицательного результата 24–72 ч [2].

Наиболее частыми возбудителями гнойно-воспалительных процессов мочевого тракта являются грамотрицательные бактерии: *E. coli*, *Proteus spp.*, *Providencia spp.*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratia spp.*; грамположительные бактерии – *Enterococcus spp.*

Возбудителями могут быть также *Staphylococcus spp.*, *Mycoplasma hominis*, *Candida albicans* и др.

Различают неосложненные и осложненные инфекции мочевых путей. Под неосложненной ИМП подразумевают инфекцию, развившуюся у больных без каких-либо анатомических, структурных или функциональных, неврологических повреждений

(обычный острый цистит, острый необструктивный пиелонефрит). Этот вид инфекции хорошо поддается химиотерапии. Осложненная ИМП возникает у больных на фоне различных обструктивных уropатий, аномалий развития мочеполовой системы, мочекаменной болезни, после оперативных или инструментальных вмешательств, на фоне постоянных уретральных катетеров, при наличии инородных тел в мочевых путях (камни, стенты, дренажи), а также у больных с сопутствующими тяжелыми заболеваниями (сахарный диабет, нейтропения, иммунодефицитные состояния). Значимость разделения инфекции мочевых путей на неосложненные и осложненные определяется не только их различными этиологическими агентами, что, соответственно, определяет различный спектр антибактериальных препаратов, но и различной тактикой ведения таких пациентов. Если при неосложненной ИМП, назначая антибиотики, мы стремимся к уменьшению или ликвидации инфекционного заболевания и предотвращению возврата инфекции, то при осложненной инфекции мочевых путей необходимо предотвратить не только возврат инфекции, но и повреждение почек. Важным моментом для успешного лечения именно инфекции мочевых путей является возможность коррекции анатомических аномалий или функциональных нарушений, удаление скрытых источников инфицирования (уретральные катетеры, дренажи, стенты, камни), на которых адгезируются микроорганизмы. ИМП подразделяют так же на "госпитальную" и "внегоспитальную" или "уличную".

Внегоспитальная инфекция характеризуется предсказуемым и ограниченным спектром этиологических агентов, предсказуемым уровнем их антибиотикорезистентности, возникающая у пациентов с иммунокомпетентным организмом.

Госпитальная инфекция характеризуется широким спектром этиологических агентов, высоким риском разнообразных механизмов антибиотикорезистентности у них и развивается она на фоне иммунодефицитного организма.

Острый неосложненный бактериальный цистит в 80% случаев вызывается кишечной палочкой, в 15% - сапрофитным стафилококком и 5% - другими возбудителями. Возбудителями уретрита, клиническая симптоматика которых схожа с острым циститом, в настоящее время в большинстве случаев являются хламидии, гонококковая инфекция и вирус простого генитального герпеса - т.е. заболевания, передающиеся половым путем. Причиной острой дизурии у женщин также может быть вагинит, чаще грибковой, либо трихомонадной этиологии.

Гарднереллез мочевых путей женщин. БВ практически всегда сопровождается инфекцией/колонизацией мочевых путей. Опубликованы данные о высокой частоте выделения ГВ из мочи практически здоровых женщин, особенно беременных. Интерпретация этих находок затруднена. Безусловно, анатомическая близость уретры и влагалища облегчает перенос гард-нерелл из генитального тракта в мочевые пути, что подтверждается одновременным выделением микроорганизмов из двух очагов. Значительное преобладание гарднерелл во влагалище позволяет предполагать, что перенос происходит из половых путей, а не наоборот. Очевидно, что критерием диагностики бактериурии должно быть количественное определение микроорганизмов. В настоящее время принято считать верхней границей нормы 1000 КОЕ в 1 мл мочи, взятой катетером; кроме того, разработана рациональная техника взятия проб мочи, позволяющая установить локализацию патологического процесса на разных уровнях мочевой системы.

Гарднереллез мочеполовых органов мужчин. У мужчин заболевание встречается значительно реже, чем у женщин. Отмечено, что ГВ у мужчин выделяются чаще в ассоциации с различными видами бактериоидов. Обычно в воспалительный процесс вовлекается передняя уретра, течение уретрита вялое, без выраженной клинической симптоматики, иногда пациенты отмечают скудное серозно-слизистое отделяемое; при микроскопическом исследовании мазков, окрашенных по Граму, обнаруживают преобладание эпителиальных клеток, "ключевые" клетки. Развитие осложнений

теоретически возможно, но практически имеет место крайне редко. Опубликованы единичные сообщения о гарднереллезном простатите, цистите, эпидидимите и пиелонефрите. Общей характерной чертой гарднереллеза мужчин является скудость клинической симптоматики. Следует отметить, что мужчины, страдающие малосимптомными или бессимптомными формами заболевания, могут служить источником заражения женщин.

В ситуациях частой возвратной инфекции нижних мочевых путей, когда вновь выделяется первоначальный патогенный возбудитель необходимо урологическое обследование на предмет выявления аномалий развития или выявления сопутствующих заболеваний, соответствующая их коррекция и подбор адекватного антибиотика.

При выборе антибиотика 1-й линии для лечения ИМП отдают предпочтение антибиотикам, достигающим высокой бактерицидной концентрации в моче, с минимальными побочными действиями на микрофлору кишечника и влагалища, т.к. фекальная флора является в большинстве случаев основным источником кишечной палочки, как возбудителя инфекции нижних мочевых путей. Разрушение нормальной микрофлоры влагалища (в основном лактобактерии) также способствует колонизации влагалища колиформными бактериями, которые могут в дальнейшем колонизировать уретру и мочевой пузырь или привести к развитию кандидозного вагинита.

При выборе антибиотиков и режимов лечения осложненной госпитальной инфекции нижних мочевых путей необходимо строгое соблюдение этиотропности, т.е. в зависимости от результатов бактериологических исследований мочи. Рекомендуют ступенчатую терапию: лечение начинают с парентеральных антибиотиков, при достижении клинического эффекта через 7-10 дней (предлагают даже через 3-5 дней) - замена на парентеральный прием препаратов. Многообразие этиологических агентов (кишечная и синегнойная палочка, протей, клебсиелла, серрация, энтеробактер, стафилококки и энтерококки) обуславливает многообразие предлагаемых антибактериальных препаратов (аминогликозиды, фторхинолоны, "защищенные бета-лактамы", цефалоспорины 3-4-го поколения, карбапенемы и др.).

Выбор конкретного антибиотика для лечения осложненной инфекции основывается на многих факторах: серьезность и острота заболевания, спектр антимикробной активности и чувствительность микроорганизма, фармакокинетика антибиотика, способность его проникать в ткани, в очаги инфекции, клиническая эффективность антибиотика, его переносимость, неблагоприятные побочные действия, удобство дозирования и стоимость лечения. Целью антимикробной химиотерапии при лечении осложненных госпитальных инфекций мочевых путей является элиминация инфицирующих микроорганизмов за счет достижения оптимального количества активного препарата в очаге инфекции. Концентрация антибиотика в очаге должна быть достаточно высокой, выше, чем в крови, а экспозиция длительной.

В урологической практике к процедурам с высоким риском инфицирования, требующим антибактериальной профилактики относятся трансуретральные эндоскопические операции, требующие установки постоянного уретрального катетера, представляющего наиболее важный фактор риска инфицирования для больных. На катетерах и дренажах формируются "биофильмы", т.е. скопления адгезированных микроорганизмов различных родов и семейств, покрытых полисахаридной пленкой, которая защищает их от действия антибиотиков и антисептиков. Любая обтурация дренажей, промывание их стерильными растворами или рентгеноконтрастным веществом чревато вымыванием адгезированных колоний микроорганизмов, инфицированием мочевых путей и бактериемией. Персистенция микроорганизмов на дренажах и инородных телах может быть ликвидирована только после их удаления. При персистирующей ИМП основная цель - уменьшить частоту септических эпизодов.

Проблема антибиотикорезистентности микроорганизмов является одной из важнейших в борьбе с инфекцией. Для борьбы с антибиотикорезистентностью,

обусловленной выработкой бета-лактамаз создаются комбинированные препараты, содержащие комбинацию антибиотика широкого спектра действия и ингибитора бета-лактамаз - амоксициллин + клавулановая кислота; ампициллин + сульбактам; цефоперазон + сульбактам; ампициллин + тазобактам. Проведенными в НИИ урологии МЗ РФ исследованиями выявлена большая распространенность ферментов бета-лактамаз среди микроорганизмов, выделенных от больных в урологическом стационаре: процент микроорганизмов, обладающих бета-лактамазной активностью, варьировал от 36 до 75 в зависимости от видовой принадлежности возбудителя. Хорошая чувствительность к уназину (ампициллин + сульбактам) обнаружена у *Staph.epidermidis* - 84%, *Staph.aureus* - 68%, *Streptococcus spp.* - 83%, *E.coli* - 53%, *Proteus mirabilis* - 43%. В результате проведенного лечения уназином достигнут высокий клинико-бактериологический эффект - в 92,3% случаев, причем полной ликвидации патогена удалось добиться в 57,7% случаев.

Для проблемных микроорганизмов *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter agglomerans*, *Proteus mirabilis* сохраняется хорошая чувствительность к аминогликозидам, фторхинолонам, карбапенемам и цефалоспорином. Цефалоспорины являются наиболее широко применяемыми антибиотиками при химиотерапии ГИМП. Высокая активность *in vitro* против микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*, удобная фармакокинетика, хорошее проникновение в ткани, низкая токсичность и хорошая толерантность дают им преимущество при выборе антибиотика. Цефалоспориновый антибиотик цефоперазон является одним из активных бета-лактамов в отношении синегнойной палочки. Проведенными в НИИ урологии МЗ РФ исследованиями выявлена хорошая активность цефоперазона также и в отношении кишечной палочки, стафилококков, стрептококков, протеев, серраций. Обладая бактерицидным действием цефоперазон хорошо проникает в мочеполовые органы. Несмотря на преимущественное выведение его с желчью, концентрация в моче в первые 8 часов после введения в десятки раз превышает минимально подавляющие концентрации для большинства возбудителей ГИМП. При лечении осложненной инфекции мочевых путей на фоне мочекаменной болезни, дренажей хороший клинический эффект лечения получен у 86% больных, бактериологическая эффективность - в 73%. Необходимо отметить, что цефоперазон применялся у больных с ГИМП, вызванной полирезистентными возбудителями: синегнойной палочкой, серрацией, энтеробактер и др. В качестве антибактериальной профилактики однократное внутривенное введение 1 г цефоперазона на вводимом наркозе у больных перед операциями (трансуретральные резекции простаты, мочевого пузыря, реваскуляризация полового члена, операции по поводу варикоцеле, кист почек лапароскопическим доступом) в 90% случаев обеспечивало хороший клинико-бактериологический результат.

Согласно рекомендациям ВОЗ все наиболее часто встречающиеся патогены разделены по уровням приоритетности. Патогены высокого уровня приоритетности: кишечная палочка; другие энтеробактерии; энтерококки; сапрофитный стафилококк.

Патогены среднего уровня приоритетности: псевдомонады и другие неферментирующие бактерии; другие стафилококки. Патогены низкого уровня приоритетности: *Candida albicans*; *Mycobacterium tuberculosis*

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. Степень бактериурии позволяет дифференцировать инфекционный процесс в мочевых путях или почках от контаминации мочи представителями нормальной микрофлоры человека:

- степень 1 – 10³ КОЕ/мл мочи: отсутствие воспалительного процесса;
- степень 2 – 10⁴ КОЕ/мл мочи: сомнительный результат, исследование рекомендуется повторить;
- степень 3 – 10⁵ КОЕ/мл мочи: наличие явного воспалительного процесса.

В последнее время данная трактовка степени бактериурии была поставлена под сомнение: некоторые эксперты полагают, что выявление 10^4 или даже менее микроорганизмов в 1 мл мочи является адекватным индикатором инфекции. Другие считают, что невозможно с высокой степенью вероятности установить минимальное число бактерий в 1 мл мочи, которое является неоспоримым признаком инфекции мочевого тракта, так же как нельзя считать неоспоримым признаком инфекции присутствие в моче лейкоцитов. Наличие такого количества бактерий в моче является серьезным основанием для предположения о наличии инфекции мочевого тракта у пациентов с симптомами болезни или лейкоцитурией. Когда количество микробов, качество пробы мочи или особенности течения заболевания вызывают сомнения, следует получить другую пробу мочи для повторного исследования. Предпочтительно отбирать утренние порции мочи. Целесообразно попросить пациента накануне вечером воздержаться от мочеиспускания до взятия анализа.

Моча (определение степени бактериурии). Собирают после тщательного туалета наружных половых органов 0,5% раствором марганцовокислого калия или кипяченой водой с мылом в середине мочеиспускания (средняя порция мочи) в стерильный контейнер с крышкой (взять в лаборатории) в количестве 10–15 мл.

Сбор чистой порции мочи у этой категории пациентов – достаточно сложная процедура. Следует дать ребенку попить воды или другой жидкости, пригодной для питья. Чисто вымыть наружные половые органы ребенка. Можно усадить ребенка на колени матери, медицинской сестры или дежурного по палате, который затем отберет мочу ребенка в стерильную емкость в требуемом количестве. Контейнер следует закрыть крышкой и быстро доставить в лабораторию для безотлагательного исследования мочи.

В связи с тем, что моча сама по себе является хорошей питательной средой, все пробы следует доставлять в лабораторию в течение 2 ч после отбора или хранить в холодильнике при $+4^{\circ}\text{C}$ до момента доставки в лабораторию и начала исследования, однако срок не должен превышать 18 ч.

Методика бактериологического исследования мочи включает следующие этапы:

- приготовление мазков и окраска их по Граму.
- микроскопия мазка (скрининг).
- 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.

Одна или более бактериальных клеток в одном поле зрения микроскопа всегда свидетельствует о наличии 10^5 или более микроорганизмов в 1 мл мочи. Наличие одного или более лейкоцитов в одном поле зрения микроскопа является характерным индикатором инфекции мочевого тракта. В моче здорового человека во всем мазке обнаруживается лишь несколько бактериальных клеток или лейкоцитов либо не обнаруживается их совсем.

В мазках из мочи, взятой у женщин, наличие большого числа слущенного эпителия независимо от того, обнаружены или не обнаружены любые бактериальные клетки, является очень серьезным предположением о бактериальной контаминации мочи влажной флорой, в связи с чем необходимо взять на исследование повторную пробу мочи независимо от числа бактерий в одном поле зрения микроскопа.

Определение степени бактериурии

Степень бактериурии – количество КОЕ в 1 мл мочи. Определяют степень методом секторных посевов мочи [2, 3] на чашку Петри с питательным агаром (Эндо или Мак-Конки). Чашки инкубируют при $+37^{\circ}\text{C}$ 18–24 ч, после чего подсчитывают число колоний, выросших в разных секторах. Определение степени бактериурии по количеству выделенных колоний производят согласно прилагаемым таблицам перерасчета.

Добавление кровяного агара в число сред, на которые засевают мочу, способствует быстрой идентификации грамположительных кокков.

В настоящее время ведущие фирмы-изготовители микробиологической продукции («bioMerieux», «BIO-RAD», «BD» и др.) освоили выпуск готовых коммерческих наборов – «Дип-слайдов» – для подсчета и предварительной идентификации бактерий в моче (например, линия UriLine – bioMerieux или линия DGU – BIO-RAD).

Они состоят из пластмассового основания, покрытого с каждой стороны питательной средой, и предохраняющего пластмассового контейнера:

- сторона 1 основания: содержит селективную среду, предназначенную для подсчета бактерий. Низкая концентрация электролитов в среде подавляет свойство протеев к «роению». Схема, указывающая на соответствие плотностей количеству бактерий в 1 мл мочи, прилагается фирмой-изготовителем.

- сторона 2 содержит одну (селективная) или две (дифференциально-диагностическая/селективная) среды, предназначенных для предварительной идентификации бактерий. Ее нельзя использовать для подсчета степени бактериурии. Кроме того, вместе с «Дип-слайдами» предлагается использовать готовые хромогенные среды, позволяющие проводить окончательную идентификацию патогенов высокого уровня приоритетности: кишечной палочки, протеев и энтерококков (CPS ID 2–bioMerieux, или UriSelect 3– BIO – RAD). Все это существенно облегчает и ускоряет процедуру проведения бактериологического исследования мочи.

Определение чувствительности к антибиотикам.

Колонии, выросшие на плотной питательной среде, идентифицируют и определяют чувствительность чистой культуры микроорганизма к антибиотикам. Используют или стандартный диско-диффузионный метод, предложенный Керби и Бауэром (метод Керби–Бауэра), или метод серийных разведений – коммерческие тест-системы («стрипы»), представляющие из себя набор тех или иных антибиотиков, представленных в двух концентрациях. Это метод (breakpoint) позволяет избежать трудоемкости стандартного метода серийных разведений, но не теряет при этом его главного достоинства – количественного определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) препарата, соответствующей терапевтической концентрации антибиотика в организме.

2. Наименование вопроса №2. Бактериальный вагиноз - понимается комплекс патологических изменений влагалищной среды, обусловленный активным ростом анаэробных неспороженных микроорганизмов, возможно, полимикробной этиологии. Происходит резкое снижение количества лактобацилл, в норме обеспечивающих подавление роста многих болезнетворных микроорганизмов. Данный синдром характеризуется появлением выделений с неприятным запахом при минимальной воспалительной реакции слизистых оболочек. Отсутствие выраженной воспалительной реакции предполагает использование термина "дисбактериоз влагалища" или "вагиноз".

Этиология бактериального вагиноза. Наиболее существенным этиопатологическим компонентом данного синдрома являются гарднереллы вагиналис (ГВ), бактероиды, пептококки и другие микробы. Поэтому бактериальный вагиноз иногда называют гарднереллезом, хотя это не совсем правильно: гарднереллы встречаются и у здоровых женщин. Микроэкология влагалища здоровой женщины определяется уровнем гликогена в эпителиальных клетках, который зависит от функции яичников, т.е. от эстрогенной насыщенности. Это определяет рН содержимого и концентрацию лактобацилл. Состояние местного иммунитета определяет абсолютное доминирование лактофлоры и низкое значение рН (< 4,5) в микроэкологии влагалища. При оценке влагалищного микроценоза в первую очередь обращается внимание на общее количество бактерий. В норме оно составляет 10⁶ в 7-10 в 8 колонийобразующих бактерий на 1 г влагалищного содержимого (КОЕ/мл). При этом 95-98% от этого числа составляют разнообразные лактобактерии. Главная их черта - это высокая продукция перекиси водорода.

Вторая отличительная черта нормального микроценоза состоит в низкой концентрации всех остальных бактерий, которых может быть до 30-50 видов. Это все те условно патогенные микроорганизмы, которые вызывают гнойно-воспалительные заболевания в акушерстве и гинекологии. Но их очень мало. При бактериальном вагинозе общее количество бактерий возрастает до астрономических цифр (до 10 в 10-10 в 12). При этом исчезает лактофлора, а преобладает симбиоз гарднерелл и облигатных анаэробов. О причинах этих изменений мы знаем очень мало. Механизмы изменения VAG-экосистемы можно представить в виде следующей схемы: - гормональные факторы; - микробный антагонизм, - лечение антибиотиками; - нарушение иммунокомпетентности; - сексуальное поведение. Возникновению бактериального вагиноза может способствовать длительный прием антибиотиков, гормональные нарушения, снижение иммунитета организма и др. факторы. Характерно, что многие женщины, страдающие этим заболеванием, ранее длительно лечились по поводу кольпита. Применяемые при этом различные препараты, в том числе антибиотики, еще больше усугубляют течение бактериального вагиноза.

Клиника бактериального вагиноза (гарднереллеза). Заболевание проявляется обильными, часто пенящимися, неприятно пахнущими выделениями из влагалища. Часто наблюдается зуд, жжение в области наружных половых органов, неприятные ощущения при половом акте, боли в области влагалища и промежности.

снижением кислотности влагалищной среды и изменением специальных лабораторных тестов. Помимо дискомфорта, заболевание может приводить к различным воспалительным осложнениям, особенно опасным во время беременности. По поводу пути передачи заболевания пока нет единого мнения. Некоторые исследователи считают, что бактериальный вагиноз может передаваться половым путем, другие это отрицают.

Диагностика бактериального вагиноза.

Диагностика заболевания основывается на жалобах, данных осмотра женщины и результатах лабораторных методов исследования. У большинства больных в мазках обнаруживаются так называемые ключевые клетки и отсутствие лейкоцитов. Кислотность влагалищной среды уменьшается ($\text{pH} > 4,5$), одним из признаков заболевания является положительный аминный тест. При бактериологическом исследовании выделений определяется значительное превышение числа анаэробов над аэробами.

Микробиология. Гарднерелла вагиналис (ГВ) - участник биоценоза половых путей. Многочисленные данные исследований свидетельствуют, что наличие ГВ в составе влагалищной микрофлоры не всегда сопровождается развитием заболевания. ГВ, как и кандиды, нередко обнаруживаются у практически здоровых людей. Частота обнаружения ГВ у женщин при отсутствии клинических симптомов, по данным разных авторов, составляет от 12 до 47% (по некоторым данным, 68%). ГВ выявляются у 32% здоровых девочек школьного возраста, а также у 29% взрослых девиц. Более того, эти микроорганизмы обнаруживаются у детей в возрасте от 2 мес. до 15 лет, не имеющих каких-либо клинических проявлений заболевания. ГВ колонизируют мочевые пути женщин, причем более высокий уровень колонизации отмечен у здоровых беременных. Носительство ГВ у здоровых мужчин наблюдается редко. При наличии этих микроорганизмов в уретре их не удавалось выделить из препуциального мешка или аноректальной области. Считается, что простатическая жидкость здоровых мужчин является неблагоприятной средой для ГВ, так как содержит соли цинка, в высоких концентрациях обладающие антибактериальной активностью.

Изучение проб, взятых из других участков тела здоровых людей, на наличие ГВ дало отрицательные результаты. Так, ГВ не были обнаружены при исследовании содержимого ротовой полости и прямой кишки.

Механизм формирования бактериального вагиноза. Механизм развития заболеваний урогенительного тракта, вызываемых анаэробными микроорганизмами, заключается в нарушении баланса организм-микроб, которое приводит к подавлению лактобацилл, а в ряде случаев к их полному исчезновению и соответственно к активной пролиферации

условно-патогенных микроорганизмов. Определенные виды анаэробных неспорогенных бактерий могут усиливать патогенность ГВ, вмешиваясь в фагоцитоз. Активно пролиферируя, условно-патогенная микрофлора может достичь достаточно высокой концентрации и вызвать заболевание. Ряд работ подтверждает мнение о том, что патогенность ГВ и других анаэробных неспорогенных бактерий связана именно с их количеством. Таким образом, широкое распространение ГВ в половых путях здоровых женщин разного возраста позволяет рассматривать эти микроорганизмы как комменсалы, которые только при определенных условиях способны приобретать и проявлять патогенные свойства.

Эпидемиология бактериального вагиноза. БВ относится к заболеваниям, передаваемым половым путем, тем не менее, эпидемиология во многом остается неясной. С одной стороны, высокая частота обнаружения ГВ у здоровых женщин и детей позволяет рассматривать данные бактерии как компонент нормальной микрофлоры влагалища. В пользу эндогенного происхождения БВ свидетельствуют следующие факты:

- высокая частота обнаружения ГВ у женщин, использующих ВМС или пероральные гормональные контрацептивы;
- высокая частота обнаружения ГВ и развития клинических симптомов заболевания у беременных женщин, в послеродовом, послеабортном и менопаузальном периодах, что, вероятно, связано с напряжением адаптационных возможностей макроорганизма;
- высокая частота обнаружения ГВ при наличии заболеваний, передаваемых половым путем.

С другой стороны, в пользу полового пути передачи заболевания свидетельствуют следующие факты:

- одновременное выделение ГВ из половых путей женщин, страдающих БВ, и от их сексуальных партнеров;
- высокая частота реинфекций у излеченных женщин, половые партнеры которых не лечились одновременно;
- достоверные случаи заболевания вагинозом здоровых женщин после половых контактов с мужчинами, у которых обнаружены ГВ.

Клинические формы гарднереллеза

Для описания клинических проявлений заболевания воспользуемся во многом несовершенной классификацией заболеваний урогенитального тракта, вызываемых анаэробными неспорогенными бактериями, разработанной сотрудниками Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера и включающей следующие формы:

- бактериальный вагиноз;
- гарднереллез верхних половых путей;
- гарднереллез беременных;
- гарднереллез мочевых путей женщин;
- гарднереллез мочевых путей мужчин.

Бактериальный вагиноз.

Это наиболее распространенная клиническая форма БВ. Как правило, одновременно с ГВ выделяют разнообразные анаэробы (мобилункус, бактероиды, пептострептококки и др.), но при этом отсутствуют возбудители, передаваемые половым путем. Инкубационный период составляет в среднем 10 дней. Основным симптом - жалобы на выделения с неприятным запахом, которые отмечают лишь 50% больных. Выделения при БВ серовато-белого цвета, однородные, без комков, обычно пенистые и густые, имеют специфический "рыбный" запах, который может быть постоянным, отсутствовать, появляться во время менструации и полового контакта. Принято считать, что возникновение неприятного запаха связано с образованием патологических аминов - путресцина и кадаверина, появляющихся в результате метаболизма ГВ и других анаэробных неспорогенных бактерий. Патологические амины находятся в виде нелетучих солей, при подщелачива-

нии переходят в летучие соединения, имеющие "рыбный" запах. На данном явлении основан тест с 10% КОН и физиологический тест-появление запаха во время менструации и полового контакта, т.е. когда среда имеет щелочную реакцию.

Гарднереллез верхних половых путей. Имеющаяся в настоящее время информация недостаточна. Инфицирование верхних отделов половой системы женщины может происходить гематогенно, лимфогенно, по протяжению (*per continuitatem*) и непосредственно через параметрий. Теоретически возможно развитие эндометритов, эндомиометритов, сальпингоофоритов. Описаны случаи гарднереллезной септицемии с тяжелым эндотоксическим шоком, причем доказательством ведущей роли ГВ является выделение чистой культуры из крови больных. В литературе имеются сведения о послеоперационных осложнениях у гинекологических больных, в связи с чем рекомендуется всех женщин, у которых планируется операция, обследовать на БВ.

Гарднереллез беременных. Заболевание встречается у 15 - 20% беременных. Развитие внутриматочной инфекции в период беременности нехарактерно: активность материнских защитных механизмов возрастает, однако имеются сведения об умеренном подавлении клеточного иммунитета. БВ может быть причиной различных нарушений течения беременности, послеродовых осложнений. Частота преждевременных родов у женщин с БВ в 2 раза выше, чем у здоровых беременных. Приблизительно у 10% преждевременно родивших женщин из амниотической жидкости выделяются ГВ и другие микроорганизмы, тогда как в норме амниотическая жидкость стерильна. Доказано, что БВ связан с гистологически подтвержденным хориоамнионитом, который также может быть причиной преждевременных родов, причем в подобных случаях выделяют разнообразные бактерии, среди которых постоянно присутствуют ГВ. Существует мнение, что ГВ часто бывают причиной послеродового и послеабортного сепсиса.

Баланопоститом называется сочетание воспаления головки полового члена (баланит) и крайней плоти (постит). Это наиболее распространенное воспалительное заболевания половых органов у необрезанных мужчин. Обычно в качестве инфекционного фактора выступают грибы рода *Candida*, но заболевание могут также спровоцировать и бактерии — стафилококки, кишечная палочка, стрептококки, энтерококки и другие.

Наиболее распространены следующие пути заражения: половой акт без презерватива с партнершей у которой имеется дисбактериоз влагалища: болезнетворные бактерии женщины вызывают у мужчин воспаление головки полового члена; оральные секс с партнершей, страдающей воспалительными заболеваниями ротовой полости; анальный половой акт без презерватива. Факторы риска: отсутствие должной гигиены половых органов; снижение иммунитета.

Симптомы. Заболевание начинается с дискомфорта в области головки полового члена, который в дальнейшем усиливается: появляется зуд, жжение и боль. Резко возрастает чувствительность головки, что неизбежно сказывается на ощущениях во время полового акта. Поскольку усиление чувствительности головки влечет за собой ускорение эякуляции, продолжительность его неизбежно снижается. Затем появляются покраснение головки и крайней плоти, сухость, ярко-красные точки, трещины и даже маленькие язвочки на поверхности кожи головки, причем кожа становится высохшей и похожей на пергамент. Все это сопровождается неприятным запахом. Сам половой член выглядит припухшим за счет отека крайней плоти. Осложнения. Грозным осложнением баланопостита является фимоз — патологическое состояние, при котором головка полового члена открывается с трудом или не открывается вообще. При хроническом баланопостите, сопровождающемся фимозом, возможно развитие рака полового члена.

Лечение и профилактика. Поскольку чаще всего это воспалительное заболевание связано с нарушением микрофлоры влагалища у женщин ей необходимо обязательно обследоваться у гинеколога: сделать анализ, который называется «исследование микробиоценоза влагалища». В остальном же регулярные профилактические осмотры у уролога и соблюдение гигиенических норм избавят мужчину от проблем с воспалением

крайней плоти и головки полового члена. Необходимо хотя бы 1 раз в день, сдвигая крайнюю плоть, тщательно мыть головку полового члена теплой водой, желательно с мылом. При появлении признаков воспаления следует использовать растворы антисептиков (мирамистин или хлоргексидин). Обрабатывать половой член надо несколько раз в день, после гигиенических процедур, в течение 1 недели. Ни в коем случае не используйте марганцовку, йод и спирт, так как эти вещества лишь усиливают раздражение. Если продолжительное использование антисептиков не оказывает нужного эффекта, это означает, что иммунитет кожи и слизистой полового члена резко снижен. В данном случае просто необходимо обратиться за помощью к специалисту.

Эпидидимит. Эпидидимитом называется воспаление придатка яичка. Чаще всего эпидидимит является не самостоятельным недугом, но осложнением различных инфекционных заболеваний. Иногда он бывает осложнением общего инфекционного заболевания (грипп, пневмония, ангина), но чаще всего возникает при хронических воспалительных заболеваниях мочеполовых органов, которые вызываются ИППП: уретрите, простатите или везикулите — воспалении семенных пузырьков. Кроме того, появлению эпидидимита способствуют травмы органов мошонки, промежности, малого таза, а также застойные явления в области малого таза. Особый случай — возникновение эпидидимита вследствие проведения стерилизации — хирургической операции по перевязке или удалению семявыносящих протоков. При этом образующиеся в яичках сперматозоиды не успевают рассасываться, накапливаются в придатках и вызывают воспаление. Данное заболевание может быть как острым, так и хроническим, хотя хроническая форма эпидидимита встречается сравнительно редко.

Симптомы. Начало заболевания острое: мошонка увеличивается в размере, в одной из ее половин появляется резкая боль, усиливающаяся при ходьбе. Постепенно боль распространяется в пах, промежность, а иногда — даже в крестцовый и поясничный отделы позвоночника. Пораженная сторона мошонки увеличивается, кожа ее краснеет, теряет свою складчатость из-за отека. Одновременно температура тела больного повышается до 38-39 °C, появляются общие симптомы воспалительного заболевания: слабость, головная боль, потеря аппетита. Придаток яичка увеличивается, становится плотным, резко болезненным при прикосновении. Осложнения: при отсутствии лечения через несколько дней воспалительный процесс в придатке яичка может привести к нагноению самого яичка. При этом состояние больного резко ухудшается: его лихорадит, кожа мошонки становится глянцевой, появляются отечность и резкая болезненность при прикосновении; другое осложнение эпидидимита — переход воспаления на яичко и развитие острого орхита. При длительном течении такой воспалительный процесс приводит к появлению соединительной ткани и, как следствие, к возникновению непроходимости придатка яичка для сперматозоидов.

Лечение. Лечение легких форм эпидидимита возможно на дому. Госпитализация проводится только при угрозе развития осложнений.

Орхитом называется воспаление яичка. Как правило, орхит является не самостоятельным недугом, но осложнением различных инфекционных заболеваний: свинки, гриппа, скарлатины, ветряной оспы, пневмонии. Но чаще всего орхит развивается на фоне воспалительных заболеваний вызванных скрытыми инфекциями (уретрит, простатит, везикулит или эпидидимит). Серьезным провоцирующим фактором могут послужить в данном случае также травмы яичка. Заболевание по своему течению может быть острым и хроническим. Острый орхит начинается с появления в яичке боли, которая отдает в пах, промежность или крестец. Мошонка с пораженной стороны увеличивается в 2 раза и более. Кожа ее становится гладкой, горячей на ощупь и краснеет. Воспаленное яичко также увеличивается в размерах, а прикосновение к нему становится очень болезненным. Основное осложнение острого орхита — возможное нагноение яичка и как следствие развитие бесплодия. Поэтому, если существует хоть малейшая вероятность развития нагноения, больного обязательно госпитализируют. Острый орхит часто проходит

самостоятельно на фоне лечения основного заболевания. Однако при этом необходимо ношение суспензория или трусов-плавков для придания мошонке фиксированного положения, а также местное применение холода. После ликвидации острого воспалительного процесса проводится физиотерапевтическое лечение. Возможно и более серьезное осложнение острого орхита — развитие абсцесса (гнойного воспаления). При этом необходима госпитализация: в стационаре яичко вскрывают и дренируют. Очень редко в наиболее тяжелых случаях при полном расплавлении ткани яичка гноем производят одностороннюю орхиэктомию — удаление яичка. При любой травме мошонки обязательно обратитесь к урологу.

Хронический орхит может развиваться в качестве осложнения хронических воспалительных заболеваний мочеполовой системы (простатит, уретрит, везикулит) либо возникнуть при неправильном или недостаточном лечении острого орхита. Единственным симптомом в данном случае является некоторая болезненность яичка при прикосновении к нему. Во время обострения заболевания появляются боли в яичке при ходьбе. Хронический орхит приводит к снижению секреторной функции яичка и значительно чаще, чем острый, может вызвать бесплодие. Лечение его довольно длительное и трудоемкое, оно осуществляется только под контролем специалиста. При этом обязательной составляющей терапии должно стать лечение основного заболевания. Прием курса антибактериальных препаратов активно сочетается с физиотерапевтическими процедурами. Если на протяжении длительного времени не удастся достигнуть ощутимого эффекта, выполняется односторонняя орхиэктомия. Профилактика орхита заключается в своевременном лечении острых и хронических воспалительных заболеваний мочеполовой системы.

Простатитом называется заболевание, характеризующееся наличием определенных жалоб и признаков воспаления в лабораторных анализах секрета предстательной железы. Хронический простатит выявляется более чем у 30 % мужчин старше 30 лет. Среди возбудителей простатита лидируют бактерии рода кишечной палочки. Они вызывают эту болезнь значительно чаще, чем возбудители ИППП. Факторы риска: хроническое переохлаждение организма; несвоевременное опорожнение мочевого пузыря; дизритмия (нерегулярность) половой жизни; гиподинамия (малоподвижный образ жизни); сопутствующие заболевания мочеполовой системы; вредные привычки (курение, алкоголизм). Среди множества различных симптомов выделяются прежде всего симптомы общего характера: повышенная раздражительность, вялость, быстрая утомляемость, потеря аппетита, тревожность, значительное снижение работоспособности. Также обязательно присутствуют и специфические симптомы: расстройство мочеиспускания, учащенное мочеиспускание, боли при мочеиспускании и постоянные ноющие боли в промежности, паховой области, мошонке, головке полового члена.

Различают острый и хронический бактериальный простатит. При остром простатите, как правило, в дополнение к перечисленным выше симптомам повышается температура тела, а при дефекации возникает боль в прямой кишке. В стадии гнояного воспаления возможны самопроизвольное вскрытие абсцесса и истечение гноя из мочеиспускательного канала или прямой кишки. Острый простатит обычно не требует госпитализации и успешно излечивается антибиотиками, однако в отдельных случаях необходима операция. Несвоевременное обращение к врачу способно привести к тяжелым последствиям: распространению инфекции на окружающие органы и ткани, возникновению сепсиса (заражения крови), переходу заболевания в хроническую форму, что может вызвать значительные нарушения функции половых органов — импотенцию и бесплодие. Хронический простатит — заболевание, характеризующееся длительным течением и постоянными рецидивами. Тяжелым исходом его является образование рубцовой и соединительной ткани в предстательной железе, что приводит к сморщиванию органа и, как следствие, нарушению мочеиспускания, ухудшению состояния мочевого пузыря, почек и мочеточников. А в пожилом возрасте к этому, как правило, добавляется

еще и гиперплазия предстательной железы. Добиться полного выздоровления при хроническом простатите чрезвычайно сложно. Прогноз зависит от таких факторов, как давность болезни и степень анатомических и функциональных изменений в предстательной железе. Поэтому крайне важно своевременно обратиться к врачу и тщательно выполнять все его рекомендации.

Лечение хронического простатита должно быть комплексным и назначаться индивидуально, в зависимости от особенностей симптоматики у каждого конкретного пациента. При этом используются антибактериальные препараты, витамины, физиотерапевтические процедуры и физические упражнения.

Особенности взятия клинического материала для исследования выделения и идентификации возбудителей ГВЗ мочевыводящих и половых путей. Основные противомикробные лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ мочевыводящих и половых путей

1.20-21 Лекция № 20-21 (4 часов)

Тема: «Особенности взятия клинического материала для исследования выделения и идентификации возбудителей ГВЗ мочевыводящих и половых путей. Основные противомикробные лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ мочевыводящих и половых путей»

1.18-19 Вопросы лекции:

1. Особенности взятия клинического материала при ГВЗ мочеполовых путей.
2. Основные противомикробные и лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ мочевыводящих и половых путей

1.18-19 Краткое содержание вопросов

1. Наименование вопроса №1.

Забор мочи при инфекциях мочевыводящих путей. Исследуют утреннюю среднюю порцию (10-20мл) свободно выпущенной мочи (за ночь концентрация бактерий в мочевом пузыре возрастает).

- Не следует принуждать пациента к приему жидкости для форсирования диуреза, так как происходит разбавление мочи и снижение числа бактерий.
- Для сбора мочи используют стерильные ёмкости которые закрываются резиновой стерильной пробкой. Нельзя собирать мочу из мочеприемника или судна.
- Перед взятием мочи проводят тщательный туалет наружных половых органов с мылом и кипяченой водой во избежание излишней ее контаминации при мочеиспускании нормальной микрофлорой промежности.
- Доставка мочи в лабораторию должна осуществляться в максимально короткие сроки. Посев следует проводить не позднее 2 ч после взятия материала либо в течение 8 ч при условии ее хранения в холодильнике. (При 4°C число бактерий в моче обычно остается стабильным в пределах 24 ч).
- Взятие мочи следует повторить, если нет условий для ее хранения в холодильнике, и с момента взятия образца прошло более 2 часов, в противном случае результаты анализа могут быть недостоверными.
- Недопустимо бактериологическое исследование мочи, собранной в течение суток.
- Не рекомендуется исследовать мочу, полученную при наличии постоянного катетера

Материал при инфекциях уrogenитального тракта
Исследование отделяемого женских половых органов
Амниотическая жидкость. Собирают через катетер, либо аспирируют при кесаревом сечении, либо пунктируют плодный пузырь.

Материал из уретры. Собирают не ранее, чем через 1 ч после мочеиспускания. Отделяемое из уретры собирают стерильным ватным тампоном.

Если отделяемое получить не удастся, наружное отверстие уретры обмывают мылом и ополаскивают кипяченой водой, вводят в уретру тонкий стерильный «уретральный» тампон на глубину 2-4 см, аккуратно вращают его в течение 2 сек., вынимают, помещают в соответствующую транспортную среду и доставляют в лабораторию.

Материал из вульвы, преддверия влагалища берут стерильным ватным тампоном, при воспалении бартолиновых желез производят их пункцию.

Материал из влагалища. После введения зеркала и подъемника во влагалище материал собирают стерильным ватным тампоном с заднего свода или с патологически измененных участков.

Цервикальный канал. Обнажают шейку матки с помощью зеркал и влагалищную ее часть тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным физраствором или стерильной водой. Тонкий стерильный ватный тампон осторожно вводят в цервикальный канал, не касаясь стенок влагалища, и берут материал. Для бактериологического исследования можно использовать соскоб слизистой, полученный при диагностическом выскабливании стенок цервикального канала.

Матка. Правильное взятие материала из матки может быть выполнено только при использовании специальных инструментов типа шприца-аспиратора, имеющего на зонде покрытие. После прохождения зондом цервикального канала в полость матки раскрывают наружную оболочку зонда и набирают в шприц содержимое матки. Материал из шприца помещают в стерильную пробирку.

Придатки матки. Материал из очага инфекции (гной, экссудат, кусочки ткани) получают при оперативном вмешательстве или при диагностической пункции опухолевидных образований, проводимой через влагалищные своды. Приготовление мазков для микроскопии. Помимо взятия материала на посев врач-гинеколог готовит мазки для микроскопии (не менее двух - для окраски по Граму и специальными методами), используя отдельные стерильные тампоны или стерильные гинекологические инструменты. Предметные стекла, предназначенные для приготовления мазков, маркируют. Материал равномерно распределяют на предметном стекле осторожными движениями, избегая грубого втирания и резких штриховых движений инструментом. Мазок высушивают при комнатной температуре, покрывают чистым предметным стеклом или помещают его в чашку Петри и отправляют в лабораторию. Не допускается хранение влажного мазка между двумя стеклами.

Исследование отделяемого мужских половых органов
Уретра. Материал собирают не ранее 2 часов после мочеиспускания. Вводят в уретру тонкий стерильный ватный тампон на глубину 2-4 см, аккуратно вращают его в течение 1-2 сек., вынимают, помещают в транспортную среду и доставляют в лабораторию.

Исследование секрета простаты. Перед отбором проб необходимо тщательно вымыть наружные половые органы и область заднего прохода теплой водой с мылом, затем сполоснуть теплой водой. Проводят массаж простаты через прямую кишку. Материал собирают в стерильную пробирку или стерильным ватным тампоном. При наличии симптомов острого простатита массаж простаты не проводят.

Для получения более достоверных результатов можно дополнить это исследование бактериологическим исследованием мочи, полученной перед и сразу после массажа простаты, что позволит выявить источник инфекции. Основным методом лабораторной диагностики простатита, позволяющим определить локализацию очага инфекции, является метод Meares и Stamey: исследованию подвергают первую порцию мочи, среднюю

порцию мочи, секрет простаты и порцию мочи, полученные после массажа предстательной железы (так называемая 4-стаканная проба).

Пробы клинического материала доставить в лабораторию не замочив пробки, чтобы не исказить результат исследования.

Придатки яичек. Материал собирают путем аспирации с помощью шприца и иглы.

Язва полового члена. Очищают поверхность язвы тампоном, смоченным физ.раствором. Производят соскоб язвы до появления серозной жидкости. Стерильной салфеткой удаляют жидкость и органические наслоения (следует избегать кровоточивости). Надавливают у основания язвы до появления прозрачной жидкости, аспирируют ее шприцем с тонкой иглой, закрывают иглу защитным колпачком и транспортируют в лабораторию.

Соскобы мочеиспускательного канала, шейки матки для исследования на уrogenитальный хламидиоз. Соскобы слизистых оболочек мочеиспускательного канала и шейки матки берут одноразовыми стерильными зондами, «щёточками», ложкой Фолькмана или аналогичными инструментами со слегка затуплёнными краями, соблюдая правила асептики и антисептики. Наружные половые органы дезинфицируют, выделения удаляют тампонами или с помощью аспираторов. При повышенной чувствительности слизистую оболочку предварительно анестезируют инстилляцией в мочеиспускательный канал 1-2 мл 0.5% раствора дикаина. Соскобы делают из глубины канала (до 6 см), со всех четырёх квадрантов. Соскобы шейки матки берут после удаления слизистой пробки из глубины её канала, а также из влагалищной части шейки матки. Соскобы берут осторожно, при лёгком надавливании. В материале должно быть возможно большее количество эпителиальных клеток и минимальное количество слизи, экссудата и примесей крови. Соскобный материал распределяют тонким слоем на поверхность 8-миллиметровой лунки чистого обезжиренного предметного стекла так, чтобы все стороны тампона соприкасались с поверхностью стекла. Мазок высушивают на воздухе 20-30 минут. Допускается хранение мазка на стекле до фиксации 2-3 часа при комнатной температуре. Мазки фиксируют соответственно методу окраски.

2. Наименование вопроса №2.

Лечение определяется после сделанного анализа, когда уже известна инфекция, назначается антимикробный препарат. Возможно определение нескольких инфекций вместе, так называемые микс-инфекции, тогда назначаются этиотропная терапия (антибиотики, противовирусные, антимикотики). Симптоматические средства – спазмолитики, сосудистые, обезболивающие лекарства назначаются по состоянию здоровья пациента. Иммунная терапия является наиболее важным фактором для борьбы организма с инфекциями. Поднятие иммунитета, предотвращение появления хронических заболеваний является основной задачей иммунной терапии.

Поскольку заболевания мочеполовой системы носят бактериальную природу происхождения, необходимо разобраться, какие же возбудители провоцируют их появление. Зачастую патологии развиваются при проникновении в организм кишечной палочки. Реже специалисты выявляют стрептококки, протеи, клебсиеллы энтерококки. Именно поэтому, еще до получения результатов лабораторного исследования, пациентам назначают прием антибиотиков широкого спектра действия. В современной фармакологии эта группа медикаментов разделена на несколько разновидностей. Они отличаются механизмом действия, направлены на уничтожение одного или нескольких видов инфекционных агентов. Лечение мочеполовой системы должно быть комплексным, и только врач может определить, какие лекарства стоит принимать. Сегодня уrogenитальные заболевания подлежат лечению такими медикаментами:

- Ампициллин. Лекарственное средство полусинтетического состава. Выпускается в двух формах (пероральная и парентеральная). Принцип действия основан на блокировке биосинтеза стенок патогенных клеток. У медикамента высокий уровень биодоступности,

наравне с низким токсическим влиянием. Прекрасно подавляет жизнедеятельность протей, клебсиелл и кишечной палочки.

- Амоксициллин. Уровень эффективности и антимикробное действие практически полностью идентично вышеописанному лекарственному препарату. Основным отличием является высокий уровень устойчивости к кислой среде, то есть, активные компоненты в ней не разрушаются. Среди аналогов представлены лекарства: Флемоксин Салютаб, Хиконцил, Аугментин, Амоксиклав, Флемоклав Салютаб.

Исследования, которые были проведены в недавнем времени медицинскими учеными, показали, что урогенитальные инфекции имеют высокий уровень резистентности к медикаментам ампициллину и его заменителям. У кишечной палочки уровень чувствительности немного более 60%, поэтому проведенная антибиотикотерапия будет иметь низкий показатель эффективности.

Цефалоспорины. Поскольку болезни мочевыделительной системы провоцируются разнообразными инфекционными агентами, в фармакологии предлагают и другие группы антибиотиков, например, бета-лактамы. Их отличительной особенностью является то, что они более устойчивы к ферментам, которые вырабатывают бактерии.

Чаще всего врачи назначают следующие медикаменты:

Цефалексин – характеризуется высокой эффективностью в отношении купирования различных воспалительных процессов во всех органах мочевыводящей системы. Препарат необходимо принимать перорально, при этом он имеет минимальный список ограничений.

Цефаклор – его аналогами выступает Цеклор, Альфацет и Тарацеф. Так же, как и предыдущий медикамент, предназначен для приема внутрь, а сам он является представителем второго поколения препаратов.

Цефуроксим – среди заменителей также известен Зинацеф и Зиннат. На фармакологический рынок средство поступает в нескольких формах. Особенность заключается в возможности его применения детям с первых месяцев жизни, поскольку он обладает низким уровнем токсического воздействия.

Цефтриаксон – медикамент выпускается в виде белого порошка, который предназначен для приготовления раствора парентерального введения. Лечение мочеполовой системы производится путем внутривенных или внутримышечных инъекций.

Цефоперазон – средство также имеет аналог Цефобид. Медикамент относится к третьему поколению препаратов цефалоспоринового ряда, и при его назначении вводится внутривенно или внутримышечно.

В последнее время урологи предпочитают использовать фторхинолы:

Ципрофлоксацин. Можно принимать перорально, либо использовать для парентерального введения. Обладает хорошей степенью усваиваемости организмом, быстрым снятием неприятной симптоматики. Среди аналогов отмечен Ципробай и Ципринол.

Офлоксацин. Синтетический антибиотик фторхиноловой группы широкого спектра действия, благодаря чему используется не только в урологии. Но и в иных областях медицины. Заменителем считается Офлоксин и Таривид.

Норфлоксацин. Медикамент предназначен для перорального приема, но его также можно вводить внутривенно или внутримышечно. В качестве аналога используется Нолицин.

Пефлоксацин. Характеризуется высокой степенью эффективности против большого количества анаэробных возбудителей. Производится в пероральной и парентеральной форме, а аналогом выступает Абактал.

Специалисты также отмечают, что фторхинолы хорошо подавляют жизнедеятельность микоплазм. Особенностью медикаментов также является то, что они оказывают непосредственное воздействие на соединительную ткань клеток организма,

именно за счет этого запрещается их использовать в терапии несовершеннолетних пациентов.

Аминогликозиды. Антибиотики этой подгруппы предназначены исключительно для проведения противобактериальной терапии путем парентерального введения. Принцип действия основан на ингибировании синтеза протеинов, по большому счету грамотрицательных анаэробных бактерий. Также средства характеризуются высоким уровнем нефро- и ототоксичности, поэтому назначаются они не всем пациентам.

Гентамициновые средства предназначены для внутривенного или внутримышечного введения. Лечение мочевыводящих путей проводится такими медикаментами:

Гентамицин – препарат второго поколения, имеет низкий уровень адсорбции в органах ЖКТ, почему и вводится внутривенно или внутримышечно;

Нетилмецин – еще одно средство второго поколения, мало чем отличается от предыдущего, поскольку имеет идентичный принцип действия и список противопоказаний;

Амикацин – довольно эффективное средство, в короткие сроки подавляющее инфекционные процессы в мочевыводящих путях, в том числе и осложненные.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНЫХ РАБОТ

2.1 Лабораторная работа №1 (2 часа).

Тема: «Методы клинической микробиологической диагностики»

2.1.1 Цель работы: ознакомить студентов с основными методами клинической лабораторной диагностики бактериальных инфекций.

2.1.2 Задачи работы:

1. Ознакомить студентов с учебной литературой по клинической микробиологии.
2. Ознакомить студентов с устройством бактериологической лаборатории и техникой безопасности при работе в ней.
3. Ознакомить студентов с методами лабораторной диагностики бактериальных инфекций.

2.1.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

- 1 Литература учебная;
2. Устройство и оборудование кафедры микробиологии и заразных болезней.
3. Световые микроскопы: микроскоп бинкулярный XSP-103P;
4. Табличный материал.

2.1.4 Описание (ход) работы:

Клиническая микробиология - это раздел медицинской микробиологии, изучающий основы этиологии, патогенеза, иммунитета, лабораторную диагностику микробных заболеваний, возникающих у неинфекционных (соматических) больных терапевтических, онкологических, хирургических, гинекологических, урологических и пр. отделениях. Эти заболевания называют: условно-патогенными инфекциями (УПИ), или неэпидемическими микробными заболеваниями (НМЗ), оппортунистическими инфекциями (ОИ), гнойно-воспалительными заболеваниями.

Задачи клинической микробиологии:

- изучение исследуемого материала для выявления возбудителя и этиологическое роли возбудителя;
- выделение, идентификация и характеристика биологических особенностей возбудителей неинфекционных микробных заболеваний;
- разработка критериев этиологической значимости выделенных микроорганизмов, в том числе учет количественных изменений обсемененности материала при динамических

обследованиях больных;

- изучение степени антибиотикочувствительности, устойчивости возбудителей УПИ;
- отбор и совершенствование наиболее информативных методов лабораторных исследований; унификация их проведения и разработка эффективной оценки результатов исследования;
- изучение микробиологических и медицинских аспектов дисбактериозов;
- микробиологическая диагностика внутрибольничных инфекций в соматических стационарах;
- разработка и использование методов микробиологического мониторинга за больничными учреждениями для профилактики внутрибольничных инфекций.

Кафедра микробиологии и заразных болезней приравнивается к микробиологической лаборатории и имеет весь необходимый для работы набор помещений и оборудования, поэтому при работе в ней необходимо соблюдать следующие требования:

- необходима рабочая форма одежды - халат, колпак;
- не принимать пищу, не курить, не жевать резинку, не пользоваться косметикой;
- все манипуляции с материалом по теме занятия производить над рабочим столом;
- не класть на рабочий стол и пол личные вещи;
- содержать рабочий стол в идеальном порядке, после работы обработать 1% хлорамином;
- четко делать надписи на посуде с питательной средой, засеянной микробной культурой;
- в термостат пробирки ставить в штативе, пробкой вверх. После каждого использования бактериологическую петлю поставить в штатив;
- после окончания работы обработать инструменты, пипетки загрузить в банку с 1% раствором хлорамина;
- при загрязнении рабочего стола, других предметов, халата трупным материалом, обработать 1% хлорамином, сообщить преподавателю;
- не оставлять на столе инфицированные мазки, чашки, пробирки загрузить в 1% хлорамин;
- разбитую чашку, пробирку с засеянным материалом, закрыть и, обильно смочить 1% хлорамином;
- окраску мазков производить на мостике в специальной кювете;
- проявлять осторожность при работе со спиртовкой;
- после окончания работы помыть руки, используя хозяйственное мыло, колпак и халат снять, повесить на вешалку.

Методы лабораторной диагностики. Для выявления возбудителя инфекционного заболевания и его идентификации (определения вида возбудителя) используются следующие методы: микроскопический, микробиологический (бактериологический), серологический, генетический и биологический.

Микроскопический метод позволяет обнаружить возбудителя непосредственно в материале, взятом у больного. Этот метод имеет решающее значение при диагностике, например, туберкулеза. Особенности морфологии возбудителей играют основную роль в постановке диагноза. Однако микроскопический метод не позволяет поставить диагноз при таких инфекциях, как, например, колибактериоз, сальмонеллез, потому что различить их возбудителей по морфологическим признакам невозможно (все они грамотрицательные палочки). Для того чтобы различить сходные между собой по морфологии микроорганизмы, их надо получить в чистой культуре и идентифицировать, что можно сделать с помощью микробиологического (бактериологического) метода исследования.

Микробиологический метод заключается в посеве исследуемого материала на питательные среды, выделении чистой культуры возбудителя и его идентификации. Определение вида и типа возбудителя производят по ряду признаков: морфологии,

способности окрашиваться различными красителями (тинкториальные свойства), характеру роста на искусственных питательных средах (культуральные свойства), ферментации углеводов и белков (биохимические свойства), генетический метод (ПЦР). Окончательную принадлежность выделенной культуры к определенному виду (типу) микроорганизмов устанавливают после изучения антигенной структуры, используя различные иммунологические реакции (агглютинации, преципитации, нейтрализации и др.).

Если возбудители инфекционных заболеваний (риккетсии, вирусы, некоторые простейшие) не растут на искусственных питательных средах или необходимо выделить возбудителя из микробных ассоциаций, или выявить его патогенность и вирулентность, то используют метод заражения восприимчивых животных - биологический.

Биологический метод осуществляют путем выделения возбудителя заболевания или его токсина при заражении лабораторных животных, восприимчивых к данному заболеванию. Диагноз устанавливают по воспроизведению у животного типичной картины заболевания и по выделению чистой культуры возбудителя из различных органов путем посева на питательные среды в случае заражения животного микробными ассоциациями. Идентификацию выделенного возбудителя проводят до вида (типа), используя бактериологический метод

Серологические методы диагностики инфекционных заболеваний основаны на выявлении специфических иммунных антител в сыворотке крови больного. Для этого используют различные серологические реакции: РА, РП, РСК, РИФ, ИФА, РН.

Генетический метод позволяет выявлять специфические для каждого патогенного участки ДНК. Самым востребованным методом является ПЦР.

Для того чтобы правильно поставить диагноз инфекционного заболевания, чаще всего используют комплекс всех лабораторных методов: выделение возбудителя, определение антител в крови больного и выявление повышенной чувствительности замедленного типа.

2.2 Лабораторная работа № 2 (2 часа)

Тема: «Отбор патологического материала (отбор исследуемого материала из носа, из зева, с кожи). Заполнение направления на бактериологическое исследование клинического материала»

2.2 Цель работы: познакомить студентов с правилами отбора клинического материала для бактериологического исследования и заполнения направлений на проведение исследований.

2.2.2 Задачи работы:

1. Изучить правила отбора клинического материала для бактериологического исследования, его упаковку и транспортировку.
2. Овладеть методами заполнения направления на проведение бактериологического исследования.
3. Отобрать патологический материал из носа, из зева, с кожи.

2.2.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Стерильные пробирки.
2. Стерильные квачи.
3. Транспортные среды с квачами.

2.2.4 Описание работы

Правила забора материала для микробиологического исследования (биологический материал целесообразно получать до начала антимикробной терапии).

Материал для бактериологического исследования берут непосредственно из очага инфекции или исследуют клинически значимый биологический материал.

Необходимо соблюдать асептику, избегая контаминации биологического материала посторонней микрофлорой.

Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.

Собирают материал в стерильную посуду с пробками, полученную в микробиологической лаборатории: для взятия отделяемого из раны, мазков со слизистых оболочек, из глаза, уха, носа, зева, цервикального канала, влагалища, анального отверстия следует использовать стерильные ватные тампоны, для крови, гноя, спинномозговой жидкости и экссудатов используют стерильные шприцы и специализированные транспортные среды, для мокроты, мочи и кала - стерильные плотно закрывающиеся небьющиеся контейнеры (необходимо следить за сроками годности посуды, полученной в лаборатории, если посуда, стерилизуемая в лаборатории, не использована в срок, указанный на этикетках её необходимо вернуть в лабораторию для повторной стерилизации).

Нативный материал доставляют в лабораторию в максимально короткие сроки (для большинства образцов не позднее 1,5-2 ч после их получения). Допускается хранение материала в холодильнике при 4° С (это не относится к биологическому материалу, полученному из стерильных в норме локусов: ликвору, крови, внутрисуставной и плевральной жидкости!).

При использовании транспортных сред биологический материал можно хранить в течение 24 ч.

Жидкий биологический материал можно транспортировать непосредственно в шприце, на кончик которого надет стерильный колпачок или загнутая под углом игла.

Отделяемое носа берут стерильным ватным тампоном из глубины полости носа. Материал из носоглотки берут стерильным заднеглоточным тампоном, из зева (с миндалин) - увлажненным ватным тампоном, не касаясь корня языка.

Для взятия крови используют стерильные шприцы или системы для одноразового пользования.

Кровь берут во время подъёма температуры из периферической вены с соблюдением правил асептики и мер индивидуальной защиты, предусмотренных при работе с кровью (использовать резиновые перчатки).

Кровь засевают в питательные среды сразу после взятия у постели больного или процедурной.

Перед использованием флаконов визуально определяют прозрачность среды, любое помутнение свидетельствует об их непригодности.

При подозрении на анаэробную инфекцию необходимо одномоментно собирать кровь в два флакона – с питательными средами для аэробного и анаэробного культивирования.

Не следует брать кровь из сосудистых катетеров, кроме случаев, когда предполагается инфекция катетерного происхождения.

Для исследования на анаэробы биологический материал необходимо помещать в анаэробные условия. Для жидких образцов (кровь, гной, экссудат, жидкости из стерильных полостей) используют специальные флаконы с жидкой питательной средой, заполненные газовой смесью определенного состава, куда из шприца уколом иглы через резиновую плотно завальцованную крышку вносят материал. Можно использовать анаэробные коммерческие тампоны с транспортной средой.

Взятие клинического материала при заболеваниях мочевыводящих путей. После тщательного туалета наружных половых органов собирают среднюю порцию свободно выпущенной мочи в количестве 3-5 мл. Взятие мочи с помощью катетера проводят только, если больной не способен мочиться или для дифференциации локализации воспалительного процесса в почках и мочевом пузыре. Посев мочи делают по Голду (метод секторных посевов) для определения степени бактериурии.

Транспортировка осуществляется в металлических биксах (пеналах), термоконтейнерах, которые должны легко подвергаться обработке.

К материалу прилагают сопроводительный документ, где указывают наименование, источник и метод получения биологического материала, дату и время его взятия; ФИО, пол и возраст больного; название учреждения, отделения, № палаты; предполагаемый

диагноз инфекционной патологии и предшествующую антибактериальную терапию; фамилию и подпись врача, направившего материал для проведения бактериологического исследования.

2.3 Лабораторная работа № 3 (2 часа)

Тема: «Микроскопическое исследование клинического материала на примере соскоба зубного налета, мокроты, крови, мочи и др. с окраской по Граму и по Цилю-Нильсену.

2.3.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторного исследования клинического материала.

2.3.2 Задачи работы:

1. Отобрать клинический материал.
2. Приготовить из него микроскопические препараты и окрасить их по Граму и Цилю-Нильсену).

2.25.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Стерильные: пробирки с ватными тампонами сухой (1) и влажный (1), тампоны вмонтированы в пробирки, шпатель, лоток, чашка Петри с питательной средой
2. Штатив для пробирок, лоток для сброса.
2. Стерильный физиологический раствор.
3. Спиртовки, предметные стекла, бактериологические петли, наборы для окраски по Граму и Цилю-Нильсену.
3. Световые микроскопы бинкулярные XSP-103P.

2.25.4 Описание работы

Выполнение процедуры:

- вымыть руки, одеть маску и перчатки;
- взять сухой тампон в правую руку, изогнуть его под тупым углом о край пробирки;
- взять шпатель в левую руку;
- предложить пациенту широко раскрыть рот, фиксировать корень языка шпателем;
- ввести тампон в полость рта, продвигая его за корень языка, не касаясь слизистых щек, языка, миндалин, зубов;
- провести кончиком тампона и выпуклой его стороной по задней стенке глотки 2-3 раза справа-налево;
- извлечь тампон над шпателем из полости рта, извлечь шпатель;
- поместить шпатель в лоток для сброса;
- провести посев слизи на чашку Петри с питательной средой и по поверхности предметного стекла;
- оформить направление, доставить пробы в баклабораторию;
- провести дезинфекцию лотка, шпателя;
- снять перчатки, маску;
- вымыть и осушить руки.

При заборе материала из зева (ротоглотки) нужно сесть напротив пациента, взять закрытую пробирку в левую руку, правой рукой извлечь тампон из пробирки (пальцы должны касаться только пробки, в которую вмонтирован тампон). Пробирку поставить в штатив, левой рукой взять шпатель и попросить пациента открыть рот, ввести шпатель в рот и фиксировать им язык. Осторожно, не касаясь тампоном слизистой оболочки полости рта и языка, провести тампоном по небным дужкам и миндалинам. Рекомендуются сначала обработать правую миндалину, затем перейти к небной дужке, язычку, левой небной дужке, левой миндалине и в конце – к задней стенке глотки. Используют только один тампон. При ясно локализованных изменениях материал берется двумя тампонами: из очага и из всех других секторов. Извлечь тампон из полости рта и ввести его в пробирку, не касаясь ее наружной поверхности, потом сделать микропрепарат.

При взятии мокроты поступают следующим образом: чашку Петри поместить напротив пациента и при появлении кашля открыть ее, держа на расстоянии 5-10 см от рта больного в течение 10-20 секунд, улавливая 5-6 кашлевых толчков.

Примечание: при отсутствии кашля вызвать кашлевую реакцию, надавив шпателем на корень языка.

Приготовленные микропрепараты окрасить по Граму и Цилю-Нильсену. Приготовление препаратов бактерий, окрашенных по Граму, включает следующие этапы:

1. Приготовление мазка.
2. Фиксация препарата.
3. Окрашивание препарата генциановым фиолетовым (1-2 мин.).
4. Обработка раствором Люголя до почернения.
5. Обработка 96° этиловым спиртом (20-30 сек).
6. Промывание препарата водой.
7. Окрашивание фуксином (1-2 мин.).
8. Промывание препарата водой.
9. Высушивание препарата.
10. Микроскопирование препарата с иммерсионной системой.

При правильном окрашивании грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый цвет, грамотрицательные — красный цвет фуксина.

Окраска по Цилю-Нильсену. Применяется для дифференциации кислотоустойчивых и некислотоустойчивых микроорганизмов. Устойчивость бактерий к кислоте обусловлена повышенным содержанием в клеточной стенке и цитоплазме липидов, воска и оксикислот. Принцип основан на том, что кислотоустойчивые бактерии за счёт содержания указанных веществ прочно связывают карболовый фуксин при нагревании (т.е. окрашиваются в красный цвет) и не обесцвечиваются кислотой. Некислотоустойчивые бактерии обесцвечиваются серной кислотой и при использовании дополнительного красителя-метиленового синего окрашиваются в синий цвет. Споры кислотоустойчивы, поэтому красятся в красный цвет.

Окраска по Цилю-Нильсену:

1. На фиксированный мазок наносят карболовый раствор фуксина через полоску фильтровальной бумаги и подогревают до появления паров в течение 3-5 мин.
2. Снимают бумагу, промывают мазок водой.
3. На мазок наносят 5% раствор серной кислоты или 3% раствор солянокислого спирта на 1-2 мин для обесцвечивания.
4. Промывают водой.
5. Докрашивают мазок водным раствором метиленового синего в течение 3-5 мин.
6. Промывают водой, высушивают и микроскопируют.

2.4 Лабораторная работа № 4 (2 часа)

Тема: «Экспериментальное заражение лабораторных животных»

2.4.1 Цель работы: познакомить студентов со способами заражения лабораторных животных

2.4.2 Задачи работы:

1. Дать представления о значении биопробы в лабораторной диагностике.
2. Познакомить студентов с видами лабораторных животных.
3. Познакомить студентов с различными способами заражения лабораторных животных

2.4.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Культура *E.coli*, выращенная на МПБ.
2. Стерильные шприцы, ножницы, скальпели, дезраствор, спиртовые тампоны.
3. Белые мыши.

2.4.4 Описание работы

Способы заражения лабораторных животных. В зависимости от цели исследования и предполагаемого возбудителя выбирают восприимчивое лабораторное животное и подбирают способ его заражения. Взвесь микробной культуры или суспензию из зараженных органов осторожно набирают в шприц, после чего конец иглы осторожно закрывают комочком ваты, смоченным 5% раствором хлорамина или спиртом. Повернув шприц иглой вверх, осторожно выпускают из него пузырьки воздуха. Загрязненную вату бросают в банку с дезраствором.

Внутрикожный способ применяется редко. Материал вводят тонкой иглой непосредственно в кожу области спины или живота в дозе 0,1-0,2 мл. чаще всего используют для обнаружения некротоксина (у стафилококков, у листерий и др.).

Подкожный способ заражения применяется при многих заболеваниях. Кожу животного захватывают пальцами и образовавшуюся складку прокалывают иглой шприца, материал вводят медленно. Затем опускают складку, на иглу накладывают вату, смоченную дезраствором и быстро извлекают иглу. Наиболее часто подкожно заражают область спины, крестца и живота. Доза в зависимости от вида микроба.

Внутримышечный способ – материал вводят в толщу мускулатуры обычно в области бедра, а птицам в грудную мышцу.

Внутрибрюшинный способ применяется часто. Животное фиксируют головой вниз, чтобы внутренние органы опустились к диафрагме. Материал вводят в задней части живота и прокалывают ее под острым углом, затем, повернув шприц под прямым углом, толчком прокалывают брюшную стенку при этом ощущается как бы провал иглы в полость живота.

Внутривенное заражение чаще всего проводят для выявления токсинов у микробов (при ботулизме, при энтеротоксемии). Кроликам материал вводят в краевую вену уха. Рукой сдавливают вену ближе у основания уха, вследствие чего вена лучше наполняется. Тонкой иглой прокалывают кожу и вену, иглу вводят по направлению к корню уха. Затем отнимают пальцы, сдавливающие вену, и медленно инъецируют материал. По окончании иглу прижимают ватой, пропитанной дезраствором, и вынимают. Мышам и крысам материал вводят в боковую вену хвоста, курам и голубям в подкрыльцовую вену.

Очень редко используют заражение через дыхательные пути, в пищеварительный тракт и в переднюю камеру глаза. Место введения в организм материала во всех случаях необходимо обработать, чтобы не внести в организм микробы, имеющиеся на коже животного. Для этого выстригают шерсть на месте введения, кожу протирают дезраствором. После введения материала кожу вновь протирают дезраствором.

Всех зараженных животных отмечают краской, сведения о заражении записывают в журнал. Кроликов помещают в клетки, морских свинок и мышей – в металлические биксы, наклеивают этикетки, на которых указывают сведения о заражении.

2.5 Лабораторная работа № 5 (2 часа)

Тема: «Способы посева патологического материала и методы культивирования аэробов и анаэробов»

2.5.1 Цель работы: освоение студентами техники посева микроорганизмов на питательные среды и их культивирования.

2.5.2 Задачи работы:

1. Дать представления о способах посева и методах культивирования аэробов и анаэробов

2. Осуществить посев патологического материала на различные среды.

3. Культивировать микроорганизмы в аэробных и анаэробных условиях.

2.5.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Бульонные и агаровые культуры E.coli, S.aureus, B. Subtilis

2. Стерильные МПА и МПБ в пробирках и чашках.

3. Стеклянные шпатели, пастеровские пипетки, бактериологические петли, спиртовые горелки.
4. Термостат суховоздушный, анаэроустат, эксикатор, газпак.

2.5.4 Описание работы

Материалом для бактериологического исследования служат: кровь, моча, отделяемое раны, мокрота, фекалии, рвотные массы, смывы с кожи и слизистых оболочек и др. Поступивший в лабораторию материал подвергают бактериологическому исследованию в тот же день. На первом этапе исследуемый материал высевает в жидкую питательную среду (для накопления возбудителя и определения характера его роста) и на плотную питательную среду (для выделения чистой культуры возбудителя). Техника посева зависит от характера исследуемого материала и консистенции питательной среды. Жидкий материал для посева берут бактериологической петлей или стерильной пипеткой. Все манипуляции проводят вблизи пламени горелки. Бактериологическую петлю перед взятием материала и по окончании посева стерилизуют прокаливанием в пламени горелки. Пипетки после посева погружают в дезраствор. При посеве в жидкую питательную среду петлю с материалом погружают в среду и легким покачиванием смывают материал. Пипетку погружают в среду и материал сливают. При посеве на скошенный питательный агар в пробирке петлю с материалом вносят вблизи пламени горелки в пробирку и материал штрихом распределяют по поверхности агара. Посев материала на агар в чашке Петри проводят с помощью бактериологической петли, шпателя или тампона. Посев бактериологической петлей проводят штрихом по поверхности агара. С помощью шпателя или тампона исследуемый материал распределяется по поверхности среды круговыми движениями. Для посева в толщу питательной среды материал вносят в стерильную чашку Петри или в пробирку, добавляют остуженный (40-45°C) расплавленный агар и перемешивают. Посев уколом в столбик питательной среды проводят с помощью бактериологической иглы или петли путем прокалывания столбика среды.

Поскольку микроорганизмы по-разному относятся к молекулярному кислороду, это определяет и различия в способах их культивирования.

Культивирование аэробных микроорганизмов проводят следующим образом:

- на поверхности плотных сред или в тонком слое жидких сред, когда микроорганизмы получают кислород непосредственно из воздуха;
- в жидких средах (глубинное культивирование). В этом случае микроорганизмы используют растворенный в среде кислород. В связи с низкой растворимостью кислорода, для обеспечения роста аэробных бактерий в толще среды, требуется постоянное аэрирование.

Культивирование анаэробных микроорганизмов более сложно, чем выращивание аэробов, так как здесь должен быть сведен до минимума контакт микроорганизмов с молекулярным кислородом. Для создания анаэробных условий используют различные приемы. Их подразделяют на физические, химические и биологические. Все они основаны на том, что микроорганизмы культивируют в каком-то замкнутом пространстве.

К физическим методам создания анаэробных условий относится: 1) посев уколом в столбик сахарного агара; 2) метод Виньял-Вейона: в расплавленный и остуженный до 50°C агар вносят исследуемую анаэробную культуру, перемешивают и засасывают в пастеровскую пипетку, конец которой запаивают, через 24 — 48 часов столбике агара вырастают ясно видимые колонии микробов — анаэробов; 3) метод Перетца. (исследуемый материал вносят в 3 пробирки с физиологическим раствором, а затем в 3 пробирки с остуженным до 50°C МПА, содержимое пробирок перемешивают и выливают в 3 стерильные чашки Петри, на дно которых предварительно кладут стерильное предметное стекло, через 18-20 часов инкубации в термостате под пластинками стекла вырастают анаэробы.

К химическим методам относится: 1) использование химических веществ, поглощающих молекулярный кислород. В качестве поглотителей молекулярного кислорода в лабораторной практике используют щелочной раствор пирогаллола, дитионит натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$), металлическое железо, хлорид одновалентной меди и некоторые другие реактивы; 2) использование восстанавливающих агентов, которые добавляют в большинство сред для снижения окислительно-восстановительного потенциала среды: тиогликолат натрия, цистеин, аскорбиновая кислота; 3) использование среды Вильсон — Блера, которая содержит глюкозу, сернисто-кислый натрий, хлорид железа. Анаэробы образуют черные колонии за счет восстановления сернисто-кислого натрия в сернистый натрий, который, соединяясь с хлоридом железа, образует осадок черного цвета — сернистое железо.

Биологический — метод Фортнера. Чашку Петри с толстым слоем агары делят на 2 половины: на одну половину засевают облигатный аэроб — «чудесную» палочку, на другую половину чашки засевают исследуемую анаэробную культуру. Чашку заливают растопленным парафином. Через 24 — 48 часов в чашке вырастают аэробы, затем, когда запас кислорода исчерпывается, начинают размножаться анаэробы..

Для культивирования анаэробных бактерий используют и другие методы, ограничивающие доступ воздуха к растущей культуре: выращивание в высоком слое среды; выращивание в толще плотной среды; культивирование в вязких средах, в которых диффузия молекулярного кислорода в жидкость уменьшается с увеличением ее плотности; заливка среды с посевом высоким слоем стерильного вазелинового масла или парафина.

2.6-7 Лабораторная работа № 6-7 (4 часа)

Тема: «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»

2.6-7.1 Цель работы: Освоить методы оценки антибиотикочувствительности выделенных микроорганизмов. Диско-диффузионный метод оценки антибиотикочувствительности

2.6-7.2 Задачи работы:

1. Ознакомиться с методами определения антибиотикочувствительности.
2. Освоить диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности.

2.6-7.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Стерильные чашки Петри с МПА, пробирки с чистой культурой стафилококка и кишечной палочки.
2. Стерильные градуированные «концевые» пипетки на 1 мл, резиновые груши, набор стандартных дисков с разными антибиотиками, стерильные пинцеты, линейки, термостат, спиртовые горелки.
3. Табличный материал.

2.6-7.4 Описание работы

Некоторые возбудители инфекционных заболеваний со временем открытия антибиотиков мало изменили характер первоначальной чувствительности к этим препаратам (стрептококки группы А, пневмококки, менингококки, бруцеллы, некоторые сальмонеллы). Вместе с тем, большинство патогенных микробов со временем приобрело устойчивость к широко, подчас неконтролируемо и необоснованно применяемым противомикробным средствам. Наибольшее значение проблема устойчивости микроорганизмов имеет в отношении стафилококков, шигелл, эшерихий, протей, среди которых антибиотикостойчивые штаммы выделяются с наибольшей частотой. По степени чувствительности к основным антибиотикам микробы подразделяются на чувствительные, умеренно чувствительные и устойчивые. В группу чувствительных входит большинство штаммов микроорганизмов, рост которых на питательных средах прекращается при использовании концентраций, соответствующих средним

терапевтическим дозам антибиотиков. Если он угнетается при применении только максимальных доз препаратов, то такие микроорганизмы умеренно чувствительны к антибиотику. Если подавление роста достигается в опыте в лаборатории лишь при очень высоких концентрациях препарата, которые нельзя создать в организме, то такие возбудители инфекции относятся к устойчивым к антибиотику.

Для определения чувствительности микробов к антибиотикам существует ряд методов: метод последовательных разведений в жидкой питательной среде или питательном агаре, метод диффузии в агар (метод дисков, насыщенных антибиотиками) и ускоренные методы. Метод дисков прост, широко используется, но дает лишь качественный ответ. Более надежным и точным количественным методом является метод последовательных разведений антибиотиков в питательной среде в стандартных условиях опыта. В большинстве случаев корреляция данных лабораторных исследований с клиническими бывает достаточно полной, а терапия - эффективной при изучении в динамике не только клинического течения процесса, но и возможной смены возбудителя или его чувствительности к антибиотикам.

Для определения чувствительности бактерий к антибиотикам (антибиотикограммы) обычно применяют:

- Метод диффузии в агар. На агаризованную питательную среду засевают исследуемый микроб, а затем вносят антибиотики. Обычно препараты вносят или в специальные лунки в агаре, или на поверхности посева раскладывают диски с антибиотиками («метод дисков»). Учет результатов проводят через сутки по наличию или отсутствию роста микробов вокруг лунок (дисков).

- Метод дисков — качественный и позволяет оценить, чувствителен или устойчив микроб к препарату.

- Методы определения минимальных ингибирующих и бактерицидных концентраций, т. е. минимального уровня антибиотика, который позволяет *in vitro* предотвратить видимый рост микробов в питательной среде или полностью ее стерилизует. Это количественные методы, которые позволяют рассчитать дозу препарата, так как концентрация антибиотика в крови должна быть значительно выше минимальной ингибирующей концентрации для возбудителя инфекции. Введение адекватных доз препарата необходимо для эффективного лечения и профилактики формирования устойчивых микробов.

Есть ускоренные способы, с применением автоматических анализаторов.

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам методом дисков. Исследуемую бактериальную культуру засевают газоном на питательный агар или среду АГВ в чашке Петри. Среда АГВ: сухой питательный рыбный бульон, агар-агар, натрий фосфат двузамещенный. Среду готовят из сухого порошка в соответствии с инструкцией.

На засеянную поверхность пинцетом помещают на одинаковом расстоянии друг от друга бумажные диски, содержащие определенные дозы разных антибиотиков. Посевы инкубируют при 37 °С до следующего дня. По диаметру зон задержки роста исследуемой культуры бактерий судят о ее чувствительности к антибиотикам.

Для получения достоверных результатов необходимо применять стандартные диски и питательные среды, для контроля которых используются эталонные штаммы соответствующих микроорганизмов. Метод дисков не дает надежных данных при определении чувствительности микроорганизмов к плохо диффундирующим в агар полипептидным антибиотикам (например, полимиксин, ристомицин). Если эти антибиотики предполагается использовать для лечения, рекомендуется определять чувствительность микроорганизмов методом серийных разведений.

2.8 Лабораторная работа № 8 (2 часа)

Тема: «Особенности госпитальных штаммов»

2.8.1 Цель работы: познакомить студентов с биологическими особенностями госпитальных штаммов.

2.8.2 Задачи работы:

1. Дать представления о госпитальных штаммах и их главных свойствах.
2. Изучить культуральные и морфологические свойства наиболее часто выделяемых микроорганизмов – возбудителей госпитальных инфекций.

2.8.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Культуры стафилококков, протей, синегнойной палочки, выращенные на МПА.
2. Спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла.

2.8.4 Описание работы

Циркулирующие в стационарах возбудители внутрибольничных инфекций постепенно формируют так называемые госпитальные штаммы, т. е. штаммы наиболее эффективно адаптированные к местным особенностям того или иного отделения. Главной особенностью госпитальных штаммов является повышенная вирулентность (во всех случаях это первая и главная особенность госпитального штамма), а также специфическая адаптация к используемым лечебным препаратам (антибиотики, антисептики, дезинфектанты и т. п.). В настоящее время сложилась система, по которой о госпитальном штамме судят по спектру устойчивости к антибиотикам. Это удобная и доступная в практических условиях система контроля формирования госпитального штамма-возбудителями внутрибольничных инфекций, поскольку имеются неопровержимые данные о связи между используемыми антибиотиками в стационаре и спектром резистентности возбудителей. Но при этом надо иметь в виду, что такие штаммы оказываются чрезвычайно опасными не только из-за устойчивости к лечебным препаратам, но и в связи с их повышенной (причем иногда значительно) вирулентностью (у них меньшая инфицирующая доза, приобретены дополнительные факторы патогенности и т. д.). Итак, госпитальный штамм - это штамм, который в процессе циркуляции адаптировался к условиям стационара, т. е. приобрел большие возможности к паразитированию, специфичному для больных данного стационара, а именно, вирулентность, устойчивость к неблагоприятным внешним факторам, также специфичным для данного стационара, и способность вызывать групповые внутрибольничные случаи заболеваний. Госпитальные штаммы в результате устойчивой циркуляции в лечебном учреждении приобретают дополнительные внутривидовые характеристики, позволяющие эпидемиологам устанавливать эпидемиологические связи между пациентами, определять пути и факторы передачи.

Условно-патогенные микроорганизмы вызывают основную часть внутрибольничных инфекций. В отечественной литературе для обозначения внутрибольничных инфекций, вызываемых УПМ, часто используется термин «гнойно-септические инфекции» (ГСИ), хотя этот термин иногда вызывает недоумение клиницистов (гнойное отделяемое не всегда сопровождает течение инфекции, вызванной УПМ). Причина доминирования условно-патогенных микроорганизмов в этиологической структуре ВБИ заключается в том, что именно в госпитальных условиях условно-патогенные микроорганизмы встречают те самые условия, которые обеспечивают их способность вызывать клинически выраженные заболевания.

Формирование внутригоспитальных штаммов большого числа микроорганизмов, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью, обладающих селективными преимуществами, высокой устойчивостью по отношению к неблагоприятным факторам окружающей среды (УФО, высушиванию, действию дезинфицирующих препаратов). Внутрибольничные штаммы сформировались у золотистого и эпидермального стафилококков, синегнойной палочки, протей, клебсиелл, энтеробактера, ряда сероваров сальмонелл и др. Особенностью механизма передачи

возбудителей ВБИ в госпитальных условиях: активизация естественных механизмов передачи возбудителей инфекционных болезней, особенно воздушно-капельного, воздушно-пылевого и контактно-бытового, в условиях тесного общения больных, медицинского персонала в ЛУ; формирование мощного искусственного (артифициального) механизма передачи возбудителей инфекций, связанного с инвазивными вмешательствами, лечебными и диагностическими медицинскими процедурами, использованием медицинской аппаратуры.

2.9-10 Лабораторная работа № 9-10 (4 часа)

Тема: «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях (ГВЗ) кожи»

2.9-10.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами бактериологического исследования при ГВЗ кожи.

2.9-10.2 Задачи работы:

1. Дать представления о заболеваниях.
2. Познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики ГВЗ кожи.
3. Провести исследования патологического материала, взятого при ГВЗ кожи.

2.9-10.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, шпатели.
2. МПА, МПБ, ЖСА.

2.9-10.4 Описание работы

Возбудителями гнойных инфекций в основном являются условно-патогенные бактерии, принадлежащие к *S. aureus et epidermidis*, *S. pyogenes et faecalis*, *E. coli*, *Proteus* sp, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* sp, *P. aeruginosa*, *Bacteroides* sp и другие аспорогенные анаэробы.

Популяции возбудителей гнойных инфекций, особенно открытых, выражено гетерогенны. Открытые процессы часто обусловлены ассоциацией микробов. Кроме возбудителей в гнойном очаге могут присутствовать микроорганизмы - контаминанты, не имеющие этиологического и патогенетического значения. В случаях больничного заражения гнойные инфекции часто вызываются госпитальными экovarями бактерий.

Развитию гнойных инфекций способствуют снижение естественного иммунитета и подавление способности к иммунному ответу, вызванные различными факторами, а также нарушения в санитарно-эпидемическом режиме в больничных учреждениях.

Микробиологическая диагностика.

Гнойные инфекции подлежат обязательному микробиологическому исследованию с целью установления этиологического диагноза, чувствительности возбудителя (возбудителей) к антибиотикам, а также источников и факторов передачи инфекций. Основное значение в диагностике имеет бактериологический метод. Для предварительного диагноза используется реакция иммунофлюоресценции. Вспомогательные данные могут быть получены при микроскопическом исследовании материала. В неясных случаях, особенно при хроническом течении болезни, определенную ценность представляет определение нарастания титра антител к аутокультуре.

Забор материала для исследования

Взятие материала производится во время операции или перевязки. При наличии абсцессов и ран (фистул, гангрены, некроза тканей) кожу вокруг раневой поверхности обрабатывают антисептиком, некротические массы, детрит, гной удаляют стерильной сухой салфеткой и отбирают отделяемое из основания очага поражения, используя стерильный контейнер или шприц объемом не менее 1 мл.

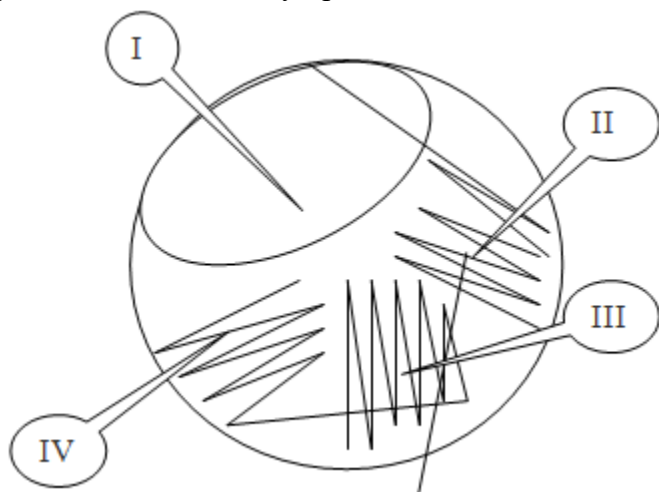
При отборе проб с помощью микробиологического тампона, используют два тампона (один используют для посева, второй – для бактериоскопии). Материал отбирают из глубины пораженного участка на границе со здоровыми тканями и помещают в стерильную пробирку или в транспортную среду. После обработки поверхности раны и высыхания антисептика с помощью шприца получают аспират из глубины раны; если имеется везикула- жидкость и клетки у основания дефекта.

Материал из закрытого абсцесса отбирают с помощью шприца с иглой. Микробиологическому исследованию при ожогах, язвах, эрозиях, целлюлитах подлежит биопсийный материал. Объем ткани диаметром 3-4 мм – минимальное количество для культурального исследования.

Гнойное содержимое из раны после укусов получают шприцем после надреза, дренирования или поверхностной обработки инфицированной раны. При свежих укусах бактериологическое исследование проводят не ранее чем через 12 часов, так как в этот период трудно выделить этиологически значимый микроорганизм. Материал, полученный при оперативном вмешательстве (кости, биоптаты мягких тканей) помещают в стерильный контейнер с физиологическим раствором. При наличии в ране дренажей для активной аспирации берут стерильным шприцем 1-2 мл отделяемого и помещают в стерильную пробирку. Материал, отобранный с помощью микробиологического тампона или собранный в стерильный контейнер, хранится при комнатной температуре не более 2-х часов. Возможно хранение и транспортировка материала в транспортной среде до 24 часов при комнатной температуре.

Микроскопическое исследование. Гной, отделяемое ран, глаз, ушей взятые с помощью одного из тампонов, используют для приготовления мазка по Граму. При микроскопии мазка оценивают количество микробных клеток и характеризуют их морфологические и тинкториальные свойства. Микроскопия мазков из ран, глаз, ушей позволяет быстро получить представление о наиболее вероятной этиологии процесса, а также осуществить выбор оптимальных питательных сред для дальнейшего бактериологического исследования. Результаты микроскопии имеют ориентировочное значение, так как чувствительность этого метода низка – около 100 тыс. бактерий/мл материала

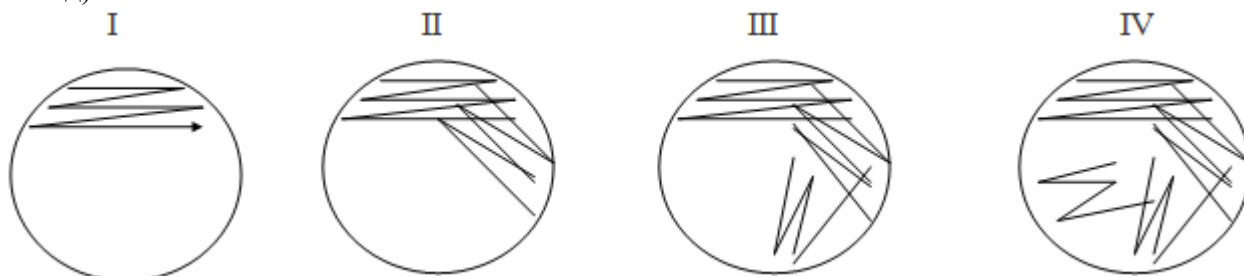
Бактериологическое исследование. Гной, отделяемое ран, глаз, ушей взятые другим ватным тампоном, используется для посева на кровяной агар, шоколадный агар, среда Эндо (среда Мак-Конки), ЖСА, 0,1% полужидкий сывороточный агар или ТСБ или тиогликолевую среду, при подозрении на анаэробную инфекцию - анаэробный агар. Отделяемое ушей и глаз дополнительно засевают еще на следу Сабуро, при подозрении на грибы. Посев на чашку проводится методом “тампон-петля”.



Культивирование: на кровяном агаре при 35-37°C, 5-10% CO₂, в течение 24-48 часов; на шоколадном агаре при 35-37°C, 5-10% CO₂, в течение 24-48 часов; среда Эндо агар (среда Мак-Конки) – при 35-37°C в аэробных условиях, в течение 24 часов; ЖСА - при 35-37°C в

аэробных условиях, в течение 24-48 часов; на 0,1% полужидком сывороточном агаре или ТСБ, тиогликолевом бульоне - при 35-37°C в аэробных условиях в течение 48 часов; на анаэробном агаре - при 35-37°C в анаэробных условиях в течение 7 дней, на среде Сабуро при температуре 25-30°C в аэробных условиях в течении 72 часов. Чашки с биологическим материалом просматривают ежедневно. При наличии роста в жидких средах, производят высеив на кровяной агар.

Схема посева материала из стерильного контейнера или шприца (полуколичественный метод).



Оценка полученных результатов. При появлении роста на плотных средах проводят учет колоний различной морфологии, учитывая их рост на секторах: рост колоний микроорганизмов на только I секторе - скудный рост; на I-II секторах - умеренный рост; на III- IV секторах – массивное количество.

Проводят видовую идентификацию микроорганизмов и определяют чувствительность к антибактериальным препаратам. Отрицательный результат исследования выдается при отсутствии роста на всех питательных средах в течение 3-5 суток (при исследовании на анаэробы на 8 сутки).

При обнаружении бактерий указывается характер роста на первичных питательных средах и средах обогащения и чувствительность к антибактериальным препаратам. При выделении ассоциации микроорганизмов, в ответе перечисляют все виды микроорганизмов и отмечают, имеется ли преимущественный рост какого - либо из них. Выделение бактерий только на средах обогащения свидетельствует о высокой вероятности контаминации материала на любом из диагностических этапов (отбор, хранение, транспортировка и посев биологического материала на питательные среды).

2.11-12 Лабораторная работа № 11-12 (4 часа)

Тема: «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях ногтей (паронихий и онихомикозов)»

2.9.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики паронихий и онихомикозов.

2.9.2 Задачи работы:

1. Дать представления о заболеваниях – паронихиях и онихомикозах.
2. Познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики бруцеллеза.
3. Освоить микроскопический, бактериологический методы исследования.

2.9.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Клинический материал.
2. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, раствор 20 - 30% раствора КОН, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, среда Сабуро.
3. Табличный материал

2.9.4 Описание работы

Известные возбудители онихомикозов принято делить на 3 группы: дерматофиты, дрожжеподобные грибы рода *Candida* и плесневые грибы-недерматофиты. Соответственно этиологии выделяют 3 разновидности онихомикоза: *Tinea unguium* (дерматофитный онихомикоз), кандидоз ногтей и недерматофитные плесневые инфекции ногтей. Как мы увидим дальше, этиологическому делению соответствуют особенности эпидемиологии, патогенеза, клинической картины и, следовательно, различия в терапии. Дерматофиты считаются основными возбудителями онихомикоза. На их долю приходится до 90% всех грибковых инфекций ногтей. Возбудителем онихомикоза может быть любой дерматофит, но чаще *tinea unguium* вызывают два вида - *Trichophyton rubrum* и *Trichophyton mentagrophytes* var. *interdigitale*. *T. rubrum* - главный возбудитель *tinea unguium* и онихомикозов вообще. В России, западноевропейских странах и в США около 80% (от 75 до 85%) всех случаев онихомикозов вызвано *T. rubrum*. *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* - второй наиболее распространенный возбудитель онихомикозов. В Европе от 10 до 20% случаев *tinea unguium* вызвано *T. mentagrophytes*. Соотношение *T. rubrum* и *T. mentagrophytes* в разных регионах мира может меняться. Эти возбудители могут встречаться одинаково часто, иногда преобладает *T. mentagrophytes*, например, в африканских странах. Остальные дерматофиты вызывают до 3% *tinea unguium*, из них чаще встречается *Epidermophyton floccosum* (1-2%). *Candida* spp. - вторые по частоте после дерматофитов возбудители онихомикоза. Доля *Candida* spp. в числе возбудителей онихомикозов стоп невелика, не более 5-10%. Однако онихомикоз на руках часто вызывают именно грибы рода *Candida* - До 40% и даже 50-60% всех случаев в европейских исследованиях. В некоторых странах мира кандидоз поражает чаще ногти стоп. Из представителей рода *Candida* *C. albicans* встречается чаще всего, вызывая более 90% случаев кандидоза ногтей. Реже из пораженных ногтей выделяют *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* и *C. guilliermondii*.

Плесневые грибы-недерматофиты представлены разными видами семейств МопШасеае и Dematiaceae. Большинство представителей этих видов считаются непатогенными и не способными самостоятельно вызывать онихомикозы. Несколько видов плесневых грибов признаны самостоятельными возбудителями. К таковым относят *Scytalidium dimidiatum* (*Nattrassia magniferae*) и *S. hyalinum*, по патогенности не уступающие дерматофитам. Инфекции, вызванные этими грибами, встречаются преимущественно в странах с субтропическим и тропическим климатом.

Онихомикозы может вызывать *Scopulariopsis brevicaulis*, встречающийся в любой стране мира. По данным европейских исследований, до 3% всех случаев онихомикоза может быть вызвано этим грибом.

Следующими по частоте плесневыми грибами при онихомикозе считают *Aspergillus* spp., а также *Fusarium* spp. и *Acremonium* spp.

Грибы из семейства Dematiaceae, способные вызывать темную пигментацию ногтей, представлены видами *Bipolaris*, *Alternaria*, а также *Cladosporium camonii*, *Curvularia lunata*, *Wangiella dermatitidis* и некоторыми другими. Онихомикозы, вызванные темноокрашенными грибами, встречаются редко и диагностируются еще реже.

Паронихия (воспаление околоногтевого валика) — довольно частая форма нагноительного процесса у детей. Вначале возникает гиперемия и отечность околоногтевого валика. Самостоятельная болезненность небольшая, но при дотрагивании — боль значительная. При образовании гноя отечность и гиперемия вокруг околоногтевого валика увеличивается. Часто гной просвечивается через истонченный эпидермальный слой кожи. Клиническая картина паронихии обычно характеризуется отсутствием симптомов интоксикации, слабой выраженностью болевого синдрома.

Лечение. В инфильтративной стадии паронихии лечат консервативно. Хороший эффект оказывает назначение УФО в сочетании с УВЧ. Между сеансами накладывают повязки с антисептическими средствами. Можно назначить различные тепловые ванночки (с калия перманганатом, содовым раствором и т.д.). Скопление гноя в околоногтевом валике

является показанием к вскрытию гноя. В первые сутки после вскрытия используют повязки с мазями на водорастворимой основе. Пока имеются инфильтрация и гиперемия, продолжают УВЧ и УФО.

Околоногтевой панариций (абсцесс) – локальное скопление гноя в этой области. Гной, как правило, скапливается под эпидермисом одной из боковых сторон ногтевого валика. Клиническая картина характеризуется появлением на боковой поверхности ногтевого валика или в дистальной его части участка припухлости, гиперемии и небольшой болезненности. Общее состояние ребенка и самочувствие не страдают. Температура тела может быть нормальной или слегка повышенной. В дальнейшем болезненность усиливается, и формируется различных размеров абсцесс, располагающийся поверхностно. Если помощь не оказана вовремя, то возможно распространение гноя под ноготь с образованием подногтевого панариция (абсцесса) – боли возникают не только при дотрагивании до пальца, но и самостоятельно. Дети плохо спят и становятся капризными. Температура тела может повышаться до высоких цифр. Ногтевая фаланга пальца отечна и гипермирована. Через ноготь просвечивается гной. В запущенных случаях гной выходит наружу и сочиться из-под ногтевой пластинки, которая бывает частично или полностью отторгнутой. Возможно образование патологических грануляций, которые обезображивают фалангу и кровоточат при травме.

Лечение в стадии инфильтрации – консервативное (см. «Паронихия»). При образовании абсцесса лечение хирургическое. Вид хирургического вмешательства зависит от локализации процесса и степени отторжения ногтя. Антибактериальную терапию при отсутствии повышенной температуры и признаков интоксикации не назначают. Хороший эффект оказывает операция в сочетании с физиотерапевтическими методами лечения (УФО, УВЧ) и другими противовоспалительными процедурами, применяемыми местно.

Сбор материала для исследования. Взятие ногтей на исследование:

- взять ножницы и предметные стекла;
- ножницами отрезать кусочек от свободного края ногтя;
- взятый материал покрыть другим предметным стеклом;
- ножницы и пинцет замочить в 3% растворе формалина

Правильный сбор материала из пораженных ногтей – залог успешного микробиологического исследования. Забирая материал, не всегда захватывают участки ногтя, содержащие жизнеспособные грибы. Нежизнеспособные грибы в культуре, естественно, не вырастут, и их вид установить не удастся. Участок ногтя, который надо взять, определяется формой онихомикоза. Так, при поверхностной форме онихомикоза следует делать соскобы с поверхности ногтевой пластинки. При самой распространенной дистальной подногтевой форме наиболее жизнеспособные грибы располагаются под ногтевой пластинкой. Материал, который направляют на исследование, должен включать не только обрезок ногтевой пластинки, но и соскоб с ногтевого ложа, из-под пластинки.

Кроме того, следует захватывать и области неизмененного ногтя, поскольку на границе между ними и пораженными участками ногтя располагаются самые активные грибы.

При проксимальной подногтевой форме брать материал трудно. В этих случаях иногда, особенно если собираются проводить гистологическое исследование или дифференциальную диагностику, предпринимают биопсию ногтя, изредка используют бормашину. При паронихиях делают соскобы с проксимального валика и из-под него.

Во всех случаях, чтобы избежать бактериальной контаминации, перед взятием образца следует обработать ноготь этиловым спиртом.

Микроскопическое исследование патологического материала на грибы производят в нативных и окрашенных препаратах. Для приготовления неокрашенных препаратов полученный материал размельчают при помощи скальпеля или препаровальной иглы и помещают на середину предметного стекла. Для более четкого выявления элементов гриба производят просветление (мацерацию) материала. С этой целью прибегают к помощи различных веществ, чаще всего едкой щелочи (KOH, NaOH), которые растворяют

эпидермальные чешуйки, слизь, гной, просветляют пигмент волоса и тем самым делают грибы доступными для исследования. На размягченные чешуйки кожи или ногтя, которые помещают на середину предметного стекла, наносят 1-3 капли 20 - 30% раствора КОН (NaOH). Исследуемый материал в каплях щелочи осторожно подогревают над пламенем спиртовки до появления нежного белого ободка из кристаллов щелочи по периферии капли. Подогревать до кипячения не следует. После подогревания каплю накрывают покровным стеклом, избегая попадания пузырьков воздуха. Р. А. Аравийский и Г. И. Горшкова (1995) рекомендуют просветленные и накрытые покровным стеклом препараты кожных чешуек и волос оставлять на 5 - 10 мин, а ногтевых пластинок – на 30 - 40 мин до микроскопирования. Просветление препаратов можно проводить без подогревания, для этого их оставляют в 20% растворе КОН на 30 - 60 мин или используют другие методы просветления патологического материала: хлораллактофенолом по Аману; лактофенолом; раствором, содержащим по 15% диметилсульфоксида и КОН в воде. Хорошие результаты получают после просветления ногтевых пластинок, помещенных в 5% раствор КОН на 24 ч, подогревания в этом случае не требуется. Микроскопическое исследование производят на обычном лабораторном микроскопе без иммерсии. Конденсор микроскопа должен быть опущен, диафрагма сужена. В начале препарат находят на стекле при малом увеличении (40х), последующее исследование производят при большем увеличении (100х); детально препарат изучают при увеличении 400 х. Необходимо исследовать несколько препаратов с тем, чтобы увеличить надежность анализа и избежать ложноположительных результатов. Ошибки в микроскопической диагностике грибов могут возникнуть как с дефектами приготовления препарата, так и с недостаточной опытностью.

Дефекты изготовления прежде всего бывают связаны: с перегреванием препарата, что может привести к выпадению кристаллов щелочи, разрушению волоса и появлению мелкозернистого распада в патологическом материале. Линейное расположение удлиненных ровных кристаллов щелочи весьма напоминает нити септированного мицелия даже на чистом стекле без патологического материала. Дифференциально-диагностическими признаками являются исключительное однообразие кристаллов, их стекловидная прозрачность, многогранность краев и отсутствие неразрывной связи одного элемента с другим. В сомнительных случаях рекомендуется добавить к препарату капельки слегка подогретой дистиллированной воды, которые быстро растворяют кристаллы щелочи. За элементы гриба ошибочно могут быть приняты: капельки жира, пузырьки воздуха, хлопчатобумажные нити одежды, так называемый «мозаичный грибок».

Бактериологический метод. Проводят посев материала на стандартную среду Сабуро, часто с добавками антибиотиков. В диагностике дерматофитных инфекций принято добавлять в среду Сабуро циклогексимид, подавляющий рост грибов-контаминантов, попадающих из воздуха. Существуют готовые коммерческие среды с добавками антибиотиков и циклогексимида. Следует помнить, что многие плесневые грибы-недерматофиты и некоторые виды *Candida* не растут на среде с циклогексимидом, поэтому рекомендуется делать посев на среду Сабуро с циклогексимидом и на среду без него. Идентификацию видов обычно проводят при микроскопическом исследовании выросшей культуры или путем пересева на селективные среды

2.13-14 Лабораторная работа № 13-14 (4 часа)

Тема: «Микроскопия, посев материала и его бактериологическое исследование при гнойно-воспалительных заболеваниях волос (себореи, перхоти)»

2.13-14.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики себореи, перхоти.

2.13-14.2 Задачи работы:

1. Дать представления о заболеваниях – себореи, перхоти.
2. Познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики себореи, перхоти .

3. Освоить микроскопический, бактериологический методы исследования.

2.13-14.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Клинический материал.
2. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, раствор 20 - 30% раствора КОН, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, среда Сабуро.
3. Табличный материал.

2.9.4 Описание работы

Себорей называют дерматологическое заболевание кожи, характеризующееся усиленным выделением кожного сала. Само по себе кожное сало образуется в сальных железах и состоит из триглицеридов, холестерина, воска и жирных кислот. Больше всего сальных желез располагается на лице (так называемая зона Т - лоб, нос, подбородок), груди, в межлопаточной области, за ушами и на коже волосистой части головы. Как известно, основная функция кожного жира - защитная и антибактериальная. Именно благодаря ему наша кожа в норме гладкая и эластичная. Кожное сало препятствует избыточной потере влаги, то есть высыханию, защищает от проникновения болезнетворных бактерий и воспаления. Под влиянием некоторых факторов происходит качественное и количественное изменение выработки кожного жира. В результате и возникает такое заболевание, как себорея. Не так давно ученые обнаружили связь между возникновением себореи и дрожжеподобными грибами. Последние являются условно-патогенными представителями кожи человека и в норме не причиняют вреда. При изменении химического состава кожного сала и при усилении работы сальных желез, грибы начинают активно размножаться и вызывать воспаление кожного покрова, преимущественно волосистой части головы и лица.

Перхоть — появление на волосистой части головы белесых чешуек. Основной причиной является интенсивный рост грибка *Malassezia furfur*.

Техника взятия клинического материала:

- из очага поражения пинцетом взять чешуйки кожи и волосы;
- взятый материал положить на предметное стекло и закрыть другим предметным стеклом.
- взятый материал подвергнуть исследованию.

Микроскопическое исследование патологического материала на грибы производят в нативных и окрашенных препаратах. Для приготовления неокрашенных препаратов полученный материал размельчают при помощи скальпеля или препаровальной иглы и помещают на середину предметного стекла. Для более четкого выявления элементов гриба производят просветление (мацерацию) материала. С этой целью прибегают к помощи различных веществ, чаще всего едкой щелочи (КОН, NaOH), которые растворяют эпидермальные чешуйки, слизь, гной, просветляют пигмент волоса и тем самым делают грибы доступными для исследования. На размягченные чешуйки кожи или ногтя, которые помещают на середину предметного стекла, наносят 1-3 капли 20 - 30% раствора КОН (NaOH). Исследуемый материал в каплях щелочи осторожно подогревают над пламенем спиртовки до появления нежного белого ободка из кристаллов щелочи по периферии капли. Подогревать до кипячения не следует. После подогревания каплю накрывают покровным стеклом, избегая попадания пузырьков воздуха.

Бактериологический метод. Проводят посев материала на стандартную среду Сабуро, часто с добавками антибиотиков. В диагностике дерматофитных инфекций принято добавлять в среду Сабуро циклогексимид, подавляющий рост грибов-контаминантов, попадающих из воздуха. Существуют готовые коммерческие среды с добавками антибиотиков и циклогексимида. Следует помнить, что многие плесневые грибы-недерматофиты и некоторые виды *Candida* не растут на среде с циклогексимидом,

поэтому рекомендуется делать посев на среду Сабуро с циклогексимидом и на среду без него. Идентификацию видов обычно проводят при микроскопическом исследовании выросшей культуры или путем пересева на селективные среды.

2.15-16 Лабораторная работа № 15-16 (4 часа)

Тема: «Особенности взятия клинического материала при раневых инфекциях, его микроскопия и бактериологическое исследование. Особенности выделения и идентификации возбудителей раневой инфекции. Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения раневой инфекции»

2.15-16.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики клинического материала при раневых инфекциях

2.15-16.2 Задачи работы:

1. Дать представления овидах раневых инфекций.
2. Познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики раневых инфекций.
3. Освоить микроскопический, бактериологический методы исследования.

2.15-16.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Клинический материал.
2. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла.
3. Табличный материал.

2.15-16.4 Описание работы

При появлении гнойно-воспалительного процесса в ране раневое отделяемое, гной, кусочки инфицированных тканей (грануляции, мышцы и т.п.) подвергают микробиологическому исследованию. Возбудителями гнойно-воспалительных процессов могут быть представители различных родов, подавляющее большинство которых относят к так называемой "условно-патогенной" микрофлоре (аэробной, микроаэрофильной и анаэробной). Среди них чаще встречаются виды родов: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Hafnia*, *Serratia*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Acetobacter*, *Haemophilus*, *Peptococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Propionobacterium*, *Bacteroides*, *Nocardia*, *Listeria*, *Fusobacterium*, *Neisseria*, *Mycrococcus*, *Mycoplasma*, реже - *Yersinia*, *Erwinia*, *Salmonella*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Brucella*, *Candida*, *Actinomyces*. Микроорганизмы могут вызывать и поддерживать гнойный процесс как в монокультуре, так и в ассоциации.

Взятие исследуемого материала. Взятие материала производит лечащий врач при соблюдении правил асептики. При взятии материала из раны стерильным ватным тампоном кожу вокруг раны предварительно обрабатывают спиртом или другим антисептиком, некротические массы, детрит и гной удаляют стерильной салфеткой. Взятие материала стерильным тампоном производят круговыми вращательными движениями от центра к периферии поверхности раны. Материал берут двумя тампонами, один из которых используют для микроскопии, а другой - для посева. При наличии в ране дренажей для активной аспирации отделяемого, последнее отсасывают шприцем и в количестве 1-2 мл помещают в стерильную пробирку. Кусочки тканей, гной, промывную жидкость из дренажа также берут в стерильные пробирки при соблюдении всех правил асептики. Не более чем через 1 час после взятия весь материал доставляют в микробиологическую лабораторию для немедленного посева. При невозможности доставить материал в течение этого времени, он должен храниться в холодильнике, но не более двух часов.

Микроскопия исследуемого материала. Материал, взятый одним из стерильных ватных тампонов, "размазывают" по стерильному предметному стеклу, окрашивают по Граму и просматривают под микроскопом. При обнаружении микроорганизмов отмечают их морфологическую характеристику (грамположительные и грамотрицательные палочки, кокки и др.) и степень обсемененности. В соответствии с результатами микроскопии могут быть внесены коррективы в ход бактериологического исследования. Внимательно просматривают мазок, отмечая наличие и количество (+) следующих клеток: полиморфно-ядерные гранулоциты (клетки гноя); грамположительные кокки, расположенные в виде виноградной грозди (предположительно стафилококки); грамположительные кокки, расположенные в виде цепочек (предположительно стрептококки); грамотрицательные палочки, сходные с колиформами или облигатными анаэробами (бактероиды); крупные прямые грамположительные палочки с "обрубленными" концами – предположительно клостридии или бациллы; разнообразные бактериальные клетки, включая веретенообразные формы палочек. Такая картина свидетельствует о "смешанной анаэробной флоре"; Candida или другие дрожжевые клетки, которые выглядят как овальные грамположительные почкующиеся сферы, часто формируя дочерний псевдомицелий

Посев исследуемого материала. Питательные среды: 1. 5% кровяной агар; сахарный бульон; "Среда для контроля стерильности".

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

Лечение. В первой фазе (воспаления) необходимы мероприятия, ускоряющие очищение раны, нейтрализующие неблагоприятные факторы воспаления (отек, нарушения кровообращения, чрезмерная активация протеолиза) и адекватное дренирование раны. Местное (аппликационное) лечение при открытом ведении раны требует применение влажновысыхающих повязок — "мокрое лечится мокрым". Препараты, используемые для лечения свежих и гнойных ран в фазе воспаления, должны обладать гидрофильностью и оказывать на рану комплексное, многонаправленное действие — антимикробное, дегидратирующее, некролитическое, противовоспалительное и обезболивающее. На флоте наиболее широко применяются гипертонический раствор (10 %) хлорида натрия, раствор фурацилина (1: 5000), 3 % раствор борной кислоты. Действие этих растворов

продолжается не более 4—6 ч как из-за разбавления раневым экссудатом, так и из-за быстрого высыхания. Наилучшим образом отвечают перечисленным требованиям препараты на основе полиэтиленгликоля (ПЭГ) — "левосин", "левомеколь", диоксициновая мазь, 10 % мазь мафенида ацетата. Патогенетически обоснованным и эффективным методом лечения ран является вульнеросорбция. Одним из принципов местного применения лекарственных препаратов должна быть их частая смена (каждые 4—6 дней). Это предотвращает развитие сенсибилизации в результате образования комплексов с собственными белками организма. Подавление микрофлоры раны и улучшение трофики тканей достигается проведением повторных новокаиновых блокад с антибиотиками. Несмотря на то, что антибиотики и другие антимикробные препараты не решили полностью проблемы раневой инфекции, их использование остается чрезвычайно важным направлением в профилактике и лечении инфекционных осложнений. В ранние сроки после ранения сохраняется высокая чувствительность микробов в ране к антибиотикам первого поколения. Паравульнарное введение этих препаратов при огнестрельных ранениях позволило снизить частоту инфекционных осложнений в американской армии во Вьетнаме в 2 раза при отсроченной (до 48 ч) первичной хирургической обработке. В то же время частота раневой инфекции и сепсиса находится в прямой корреляционной связи с длительностью так называемого профилактического применения антибиотиков в первые 10 суток после травмы. Эти примеры указывают на необходимость разработки рациональной тактики антибактериальной терапии. Идеальной, по-видимому, является такая тактика, когда антибиотик вводится туда, где возбудитель должен быть подавлен или куда его не хотят допустить, и отсутствует там, где нормальная микрофлора человека препятствует проникновению патогенных возбудителей. Руководствуясь особенностями раневого и инфекционного процессов, свойствами микробов, профилактику и лечение раневой инфекции с помощью антибиотиков следует проводить по следующим правилам: 1) возможно раннее (в первые 3—6 ч после ранения) введение антибиотиков в окружность раны; 2) повторное паравульнарное введение антибиотиков в условиях развития микрофлоры раны; 3) в условиях развившейся раневой инфекции лечение должно проводиться в соответствии с антибиотикограммами; 4) в связи с тенденцией к увеличению числа антибиотикоустойчивых штаммов необходимы действия, повышающие эффективность антибиотиков, либо снижающие устойчивость возбудителей. Существует правило: врач должен быть скупым в назначении антибиотиков и щедрым при определении их доз. Недопустимо постепенное уменьшение дозировок и отмена антибиотиков раньше, чем через 2—3 дня после нормализации основных показателей (температуры, крови). Рациональная смена химиопрепаратов препятствует возникновению и распространению устойчивых штаммов. С этой целью каждые 8—10 дней (срок формирования резистентных штаммов) в лечебном учреждении производится смена одной равноценной комбинации антибиотиков на другую. Таких комбинаций должно быть установлено не менее 5—6, чтобы к моменту возврата к первой число устойчивых штаммов было минимальным. Оправдано применение пенетрантов (димексид), способствующих проникновению антибиотиков в клетку. Необходимо внедрение в практику комбинированных препаратов, в состав которых входят вещества, подавляющие антибиотическую активность микробов (сульбактамные антибиотики), а также комбинированное применение других антимикробных препаратов — диоксицина, фурагина и др.

2.17 Лабораторная работа № 17 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика столбняка и газовой гангрены».

2.17.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики столбняка и газовой гангрены.

2.17.2 Задачи работы:

1. Дать представление об инфекциях
2. Познакомить студентов с этапами лабораторной диагностики инфекций.
3. Провести микроскопическое исследование препаратов из культур *C. tetani*, *C. perfringens*, описать культуральные свойства *C. perfringens*.

2.17.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Готовые микропрепараты.
2. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла.
3. Культура *C. perfringens*, выращенная на среде Кит-Тароцци и агаре Цейслера.

2.17.4 Описание работы

Столбняк (*tetanus* - оцепенение, судороги) - острое инфекционное заболевание с поражением двигательных нейронов ЦНС и развитием тонических и клонических судорог поперечно-полосатых мышц.

Бактериологическая диагностика столбняка заключается в выделении и идентификации возбудителя и в обнаружении его токсина в исследуемом материале. Для исследования берут от больных кусочки ткани из мест проникновения возбудителя в организм, экссудат, инородное тело, тампоны из раны. При исследовании умерших берут материал из раны, а также кровь и легкие, куда возбудитель может быть занесен кровью. При анализе твердых образцов используют высокопроизводительные мельницы Fritsch.

Микробиологическая диагностика включает в себя следующие этапы: 1) бактериоскопия исходного материала; 2) посев для выделения возбудителя и его идентификации; 3) обнаружение столбнячного токсина. Выделение *C. tetani* из патологического материала или других образцов проводят по обычной для строгих анаэробов схеме. Филдсом предложен следующий метод: исследуемый материал засевают в каплю конденсационной жидкости на дне пробирки с косячком из кровяного или сыровоточного агара.

Обычно через 18-24 часов инкубации при температуре 37 °С в анаэробных условиях *C. tetani* благодаря своему ползучему росту, обусловленному жгутиками, образуют тонкую пленку по всей скошенной поверхности среды. С помощью системы микроволнового разложения процесс можно сократить до получаса.

Наиболее простым и эффективным методом микробиологической диагностики столбняка является биологическая проба на белых мышах. С этой целью исследуемый материал (растертые в физиологическом растворе кусочки некротизированной ткани, гной и иной материал) или фильтрат изучаемой культуры делят на две фракции. Одну из них смешивают с антитоксической сывороткой и оставляют смесь при комнатной температуре на 40 мин (для нейтрализации токсина). Для испытания устойчивости образцов используются реакторы высокого давления. После этого заражают белых мышей нативным материалом и смесью его с антитоксической сывороткой. При наличии в нативном материале столбнячного токсина опытные мыши погибают; контрольные мыши, которым вводят смесь нативного материала с антитоксином, остаются живыми. Для обнаружения столбнячного токсина может быть использована РПГА с антительным эритроцитарным диагностикумом.

Газовая гангрена — заболевание, возникающее в результате попадания в раны патогенных анаэробов после травм, ранений и т. д. Классическая картина газовой гангрены с явлениями мионекроза, отека тканей, сильного газообразования в них, а также общей интоксикации, "гемолитической анемии" бывает обусловлена главным образом *Clostridium perfringens* типа А. Однако заболевание могут вызывать и другие типы клостридий (В, С, D, E, F). Как правило, возникают ассоциации нескольких типов клостридий со стрептококками, стафилококками, кишечной палочкой. Морфология: клостридий перфрингенс типов А, В, С, D, Е и F - крупные грамположительные образующие капсулу палочки. Жгутиков не имеют, неподвижны, образуют при

определенных условиях центральные или субтерминальные споры. Клетки разных штаммов могут отличаться друг от друга по своей толщине и длине. В одних случаях это короткие толстые палочки, в других - длинные нити с заостренным краем, клетки в 6—8 очаговых культурах грамположительны, хорошо красятся метиленовым синим и другими основными красками. Старые клетки становятся грамотрицательными. Они не воспринимают метиленовый синий, и их окрашивают фуксином.

Культуральные свойства возбудителя газовой гангрены: в жидких анаэробных питательных средах, приготовленных из гидролизатов мяса или казеина, при 37—43 °С, клостридии перфрингена всех типов растут быстро (3—8 ч) с бурным газообразованием, изменением pH среды в кислую сторону. На щелочных средах, богатых белком и не содержащих сбраживающих углеводов, возбудители газовой гангрены способны образовывать споры. Существуют следующие варианты колоний: гладкие (S); слизистые (M); шероховатые (R). Колонии возбудителя газовой гангрены, выросшие на поверх-ности кровяного агара, часто окружены 1 или 2 зонами гемо-лиза и при выдерживании на воздухе приобретают зеленоватую окраску. Большинство штаммов клостридий перфрингенс обладают слабыми протеолитическими свойствами, вырабатывают ферменты, расплавляющие желатин. Все штаммы сбраживают с образованием кислот и газа глюкозу, галактозу, лактазу, левулезу, мальтозу, сахарозу и не ферментируют маннит.

Образование токсинов: деление клостридии перфрингенс на 6 типов основано на способности этих микроорганизмов вырабатывать различные по своим антигенным свойствам летальные и некротические токсины. Большинство этих веществ выделяется в окружающую среду в процессе роста микроорганизмов, не задерживаясь внутри клеток. Различные типы возбудителя вызывают определенные заболевания людей и животных. Клостридии перфрингенс А, вырабатывающий α-токсин в большом количестве, считается в данное время основным возбудителем газовой гангрены, вызывающим это заболевание в 70—80% случаев.

Лабораторная диагностика газовой гангрены. Для бактериологического исследования на газовую гангрену берут экссудат, кусочки измененной ткани из раны больного, а так-же кровь из вены. Трупный материал следует брать по возможности быстрее после смерти, так как в ткани трупа могут проникать различные патогенные анаэробные микроорганизмы, всегда имеющиеся в желудочно-кишечном тракте. Все взятые материалы помещают в стерильную герметически закрывающуюся стеклянную посуду и немедленно пересылают в бактериологическую лабораторию. Все пробы подвергают микроскопии. Для этой цели готовят мазки-отпечатки и окрашивают их по Граму. Наличие в пробе большого количества крупных грамположительных палочек служит ориентировочным признаком для подозрения на клостридиальную инфекцию.

Бактериологическое исследование: плотные материалы стерильно измельчают, кровь или экссудат подвергают центрифугированию в течение 30 мин. Взвесь исследуемого материала засевают на кровяной агар, агар Вильсона-Блэра и бензидиновый агар. Посевы инкубируют в анаэробных условиях при 37° С, просматривают на следующий день и затем через каждые 2 дня (до 7 суток) для выделения подозрительных колоний. Выраженные колонии, вызывающие гемолиз на кровяном агаре, проверяют на чистоту и наличие грамположительных палочек (путем микроскопии) и затем отсевают в пробирки с жидкой казеиново-грибной средой под слоем вазелинового масла либо на анаэробную среду Китта-Тароцци. Выделенные чистые культуры проверяют на токсичность и вирулентность, а также проводят биологическую пробу на лабораторных животных (мышьях, морских свинках).

Промикроскопировать препараты из культур *C.tetani*, *C perfringens*, описать культуральные свойства *C perfringens*.

2.18 Лабораторная работа № 18 (2 часа)

Тема: «Особенности взятия клинического материала для исследования при заболеваниях дыхательных путей (соскоб, мокрота, бронхиальный смыв, плевральный выпот, биоптат)».

2.18.1 Цель работы: познакомить студентов с правилами взятия клинического материала при заболеваниях дыхательных путей.

2.18.2 Задачи работы:

1. Разобрать правила взятия различных видов клинического материала.
2. Взять соскоб и мокроты и провести микроскопическое их исследование.

2.18.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Готовые микропрепараты.
2. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, ватные стерильные тампоны, квачи.

2.18.4 Описание работы

Материал при инфекциях верхних дыхательных путей

Образцы из зева. Исследуют прежде всего для выявления α -гемолитических стрептококков группы А, *H. influenzae* (при эпиглотитах). При наличии специфического анамнеза проводят исследование для исключения гонококковой этиологии фарингита.

Не следует брать материал при воспалённом надгортаннике, так как может возникнуть обструкция дыхательных путей!

Мазок из зева следует брать до еды или через 2 - 3 часа после приёма пищи. Перед взятием пробы больному необходимо прополоскать рот тёплой кипячёной водой.

Аккуратно прижимая язык шпателем, вводят стерильный тампон между дужками миндалин и язычком.

Движением тампона вперёд и назад собирают материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления слизистой.

Тампон помещают в стерильную пробирку, при необходимости используя транспортную среду.

При взятии пробы со слизистой зева (глотки) нельзя касаться щёк, языка, дёсен, а также собирать слюну.

Материал из ротоглотки и носа берут отдельными тампонами, натошак или не ранее, чем через 2 часа после еды, при хорошем освещении с использованием шпателя, не касаясь тампоном языка, слизистых щек и зубов.

При наличии налетов материал следует брать с границы пораженных и здоровых тканей, слегка нажимая на них тампоном.

Для взятия материала из носа используют один тампон, который вводят сначала в один, а потом в другой носовой ход, не касаясь крыльев носа снаружи.

Необходимо обеспечить доставку материала в лабораторию не позднее 2-х часов, а при использовании глицериновых тампонов - в течение 4-х часов.

Бактериологическое исследование носоглоточной слизи на менингококки. Исследуемый материал берут из задней стенки носоглотки натошак или через 3 - 4 часа после еды стерильным ватным тампоном, укрепленным на изогнутой проволоке.

Материал берут с обязательным надавливанием шпателем на корень языка. Тампон вводят концом кверху за мягкое небо в носоглотку и проводят 2 - 3 раза по задней стенке.

При извлечении тампон не должен касаться зубов, слизистой щек, языка и язычка.

Материал может быть взят смоченным тампоном, который затем доставляют в лабораторию.

Питательную среду для смачивания тампонов получают в бактериологической лаборатории. Можно использовать специальные транспортные среды.

Полученную пробу доставить в лабораторию, избегая охлаждения

Мазок со слизистой передних отделов полости носа. Исследование обычно проводится для выявления носительства метициллинрезистентных штаммов *S. aureus*.

Мазок со слизистой носа берут одним стерильным тампоном.

Тампон вводится сначала в здоровую ноздрию до упора на уровне носовой раковины и вращательными движениями собирают материал со слизистой. Повторяют процедуру в другом носовом ходе. Тампон помещают в стерильную пробирку.

Материал при инфекциях нижних дыхательных путей.

Мокрота. Исследуют свободно откашливаемую мокроту, утреннюю порцию, натошак

Пациент предварительно должен почистить зубы, дёсны, язык, слизистую оболочку щёк зубной щёткой и прополоскать рот кипяченой водой.

Если мокрота отделяется плохо, накануне пациенту дают отхаркивающие средства или проводят ингаляцию физ. раствором.

Мокроту собирают в стерильную посуду с крышкой.

Сроки доставки мокроты в лабораторию не должны превышать 1,5-2 часа от момента её получения (допускается хранение в холодильнике, но не более 6 часов), т.к. задержка ведёт к аутолизу *S. pneumoniae*, а за счёт размножения бактерий-контаминантов меняется истинное соотношение микрофлоры бронхиального секрета. Качество собранной мокроты можно оценить по данным микроскопии нативных мазков по Граму. При наличии в мазке мокроты более 10 эпителиальных клеток в поле зрения и менее 25 полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПЯЛ) при малом увеличении микроскопа (объектив X10) высока вероятность контаминации образца содержимым полости рта (слюной). Дальнейшее исследование такого материала нецелесообразно, материал необходимо взять повторно.

Трахеобронхиальные смывы. Исследуют при отсутствии мокроты или невозможности её выделить естественным путём. Специальным шприцем в трахею вводят около 10 мл стерильного физ. раствора и собирают откашливаемый смыв в стерильную посуду.

Бронхиальные смывы, в том числе вблизи очага воспаления, могут быть сделаны с помощью бронхоскопа.

Недостатком является очень часто значительное разведение трахеобронхиального содержимого, что снижает возможность выделения бактерий, а концентрация их падает примерно в 100 раз по сравнению с мокротой.

Плевральная жидкость. Кожу перед пункцией обрабатывают 70% этиловым спиртом, затем спиртовой настойкой йода, затем опять спиртом. После прокола жидкость собирают шприцем в стерильную пробирку и незамедлительно отправляют в лабораторию. Допускается посев плевральной жидкости (по 5 мл) в аэробные и анаэробные флаконы, используемые для исследования крови. Материал отсылают в лабораторию в анаэробной транспортной среде или непосредственно в шприце. Не рекомендуется исследовать промывную жидкость из носоглотки, так как образцы контаминируются нормальной микрофлорой верхних дыхательных путей, что не позволяет правильно трактовать результаты анализа.

При хронических синуситах возможен прицельный забор материала для микробиологического исследования с использованием эндоскопов.

Исследование мокроты. Мокрота — патологическое отделяемое органов дыхания, выбрасываемое при кашле и отхаркивании (нормальный секрет бронхов настолько незначителен, что устраняется без отхаркивания). В состав мокроты могут входить слизь, серозная жидкость, клетки крови и дыхательных путей, элементы распада тканей, кристаллы, микроорганизмы, простейшие, гельминты и их яйца (редко). Исследование мокроты помогает установить характер патологического процесса в органах дыхания, а в ряде случаев определить его этиологию. Мокроту для исследования лучше брать утреннюю, свежую, по возможности до еды и после полоскания рта. Однако для обнаружения микобактерий туберкулеза мокроту, если больной выделяет ее мало, нужно собирать в течение 1-2 суток. В несвежей мокроте размножается сапрофитная флора, разрушают форменные элементы. Суточное количество мокроты колеблется в широких

пределах - от 1 до 1000 мл и более. Выделение сразу большого количества мокроты, особенно при перемене положения больного, характерно для мешотчатых бронхоэктазов и образования бронхиального свища при эмпиеме плевры. Изучение мокроты начинают с ее осмотра (т.е. макроскопического исследования) сначала в прозрачной банке, а затем в чашке Петри, которую ставят попеременно на черный и белый фон. Отмечают характер мокроты, понимая под этим различимые на глаз основные ее компоненты. От последних зависит и цвет мокроты, и ее консистенция. *Слизистая мокрота* обычно бесцветная или слегка беловатая, вязкая; отделяется, например, при остром бронхите. *Серозная мокрота* тоже бесцветная, жидкая, пенная; наблюдается при отеке легкого. *Слизисто-гнойная мокрота* желтого или зеленоватого цвета, вязкая; образуется при хроническом бронхите, туберкулезе и т. д. *Чисто гнойная*, однородная, полужидкая, зеленовато-желтая мокрота характерна для абсцесса при его прорыве. *Кровянистая мокрота* может быть как чисто кровяной при легочных кровотечениях (туберкулез, рак, бронхоэктазы), так и смешанного характера, например слизисто-гнойная с прожилками крови при бронхоэктазах, серозно-кровянистая пенная при отеке легкого, слизисто-кровянистая при инфаркте легкого или застое в малом круге кровообращения, гнойно-кровянистая, полужидкая, коричневатосерая при гангрене и абсцессе легкого. Если кровь выделяется медленно, гемоглобин ее превращается в гемосидерин и придает мокроте ржавый цвет, характерный для крупозной пневмонии. При стоянии мокрота может расслаиваться. Для хронических нагноительных процессов характерна трехслойная мокрота: верхний слой слизисто-гнойный, средний - серозный, нижний - гнойный. Чисто гнойная мокрота разделяется на 2 слоя - серозный и гнойный. Запах у мокроты чаще отсутствует. Зловонный запах свежеевыделенной мокроты зависит либо от гнилостного распада ткани (гангрена, распадающийся рак, либо от разложения ободков мокроты при задержке ее в полостях (абсцесс, бронхоэктазы).

Из отдельных элементов, различимых простым глазом, в мокроте могут быть обнаружены спирали Куршмана в виде небольших плотных извитых беловатых нитей; сгустки фибрина — беловатые и красноватые древовидно разветвленные образования встречаемые при фибринозном бронхите, изредка при пневмонии; чечевички — небольшие зеленовато-желтые плотные комочки, состоящие из обызвествленных эластических волокон, кристаллов, холестерина и мыл и содержащие микобактерий туберкулеза; пробки Дитриха, сходные с чечевичками по виду и составу, но не содержащие МБТ и издающие при раздавливании зловонный запах (встречаются при гангрене, хроническом абсцессе, гнилостном бронхите); зерна извести, обнаруживаемые при распаде старых туберкулезных очагов; друзы актиномицетов в виде мелких желтоватых зернышек, напоминающих манную крупу; некротизированные кусочки ткани легкого и опухолей; остатки пищи.

Микроскопическое исследование мокроты производится как в нативных, так и в окрашенных препаратах. Для первых из налитого в чашку Петри материала отбирают гнойные, кровянистые, крошковатые комочки, извитые белые нити и переносят их на предметное стекло в таком количестве, чтобы при накрывании покровным стеклом образовался тонкий полупрозрачный препарат. Последний просматривают сначала при малом увеличении для первоначальной ориентировки и поисков спиралей Куршмана, а затем при большом увеличении для дифференцирования форменных элементов. Спираль Куршмана представляет собой тяж слизи, состоящие из центральной плотной осевой нити и спиралеобразно окутывающей ее «мантии», в которую бывают вкраплены лейкоциты (часто эозинофильные) кристаллы Шарко—Лейдена. Спираль Куршмана появляется в мокроте при спазме бронхов, чаще всего при бронхиальной астме, реже при пневмонии, раке легкого.

При большом увеличении в нативном препарате можно обнаружить лейкоциты, небольшое количество которых имеется в любой мокроте, а большое — при воспалительных и, в частности, нагноительных процессах; *эозинофильные лейкоциты* можно отличить в нативном препарате по однородной крупной блестящей

зернистости, но легче их узнать при окраске. Эритроциты появляются при разрушении ткани легкого, при пневмонии, застое в малом круге кровообращения, инфаркте легкого и т. *Плоский эпителий* попадает в мокроту преимущественно из полости рта и не имеет диагностического значения. Цилиндрический мерцательный эпителий в небольшом количестве присутствует в каждой мокроте, в большом — при поражениях дыхательных путей (бронхит, бронхиальная астма). *Альвеолярные макрофаги* — крупные клетки (в 2—3 раза больше лейкоцитов) ретикулоэндотелиального происхождения. Цитоплазма их содержит обильные включения. Последние могут быть бесцветными (миелиновые зерна), черными от частиц угля (*пылевые клетки*) или желто-коричневыми от гемосидерина (*«клетки сердечных пороков»*, сидерофаги). Альвеолярные макрофаги в небольшом количестве имеются в каждой мокроте, их больше при воспалительных заболеваниях; клетки сердечных пороков встречаются при попадании эритроцитов в полость альвеол; при застое в малом круге кровообращения, особенно при митральном стенозе; при инфаркте легкого, кровоизлияниях, а также при пневмонии. Для более достоверного их определения производят так называемую реакцию на берлинскую лазурь: немного мокроты помещают на предметное стекло, добавляют 1-2 капли 5 % раствора желтой кровяной соли, через 2—3 минуты столько же 2% раствора хлористоводородной кислоты, перемешивают и накрывают покровным стеклом. Через несколько минут зерна гемосидерина окрашиваются в синий цвет. *Актиномицеты* отыскивают, выбирая из мокроты мелкие плотные желтоватые крупинки. У раздавленной под покровным стеклом в капле глицерина или щелочи друзы под микроскопом видна центральная часть, состоящая из сплетения мицелия, и окружающая ее зона лучисто расположенных колбовидных образований. При окрашивании раздавленной друзы по Граму мицелий приобретает фиолетовую, а колбочки розовую окраску. Из других грибов, встречающихся в мокроте, наибольшее значение имеет *Candida albicans*, поражающий легкие при длительном лечении антибиотиками и у очень ослабленных больных. В нативном препарате обнаруживаются почкующиеся дрожжеподобные клетки и ветвистый мицелий, на котором споры расположены мутовками.

Исследованию подвергается бронхиальный и бронхоальвеолярный смывы. Для их получения необходим фибробронхоскоп — эндоскопический прибор, имеющий тонкую трубочку, вводимую в бронхиальное дерево. Через канал бронхоскопа проводят еще более тонкий катетер. Через него затем вводят стерильный физиологический раствор и полностью аспирируют его обратно, получая при этом смывы с поверхности стенки сегментарных бронхов или более мелких бронхов и альвеол. Это зависит от глубины введения бронхоскопа.

Для получения бронхиального и бронхоальвеолярного смывов необходим фибробронхоскоп — эндоскопический прибор, имеющий тонкую трубочку, вводимую в бронхиальное дерево. Через канал бронхоскопа проводят еще более тонкий катетер. Через него затем вводят стерильный физиологический раствор и полностью аспирируют его обратно, получая при этом смывы с поверхности стенки сегментарных бронхов или более мелких бронхов и альвеол. Это зависит от глубины введения бронхоскопа.

Полученную жидкость анализируют под микроскопом. В ней подсчитывают количество эпителиальных клеток, макрофагов, нейтрофилов, лимфоцитов, эозинофилов и других.

Специальной подготовки к исследованию обычно не требуется. Перед пункцией желательно опорожнить мочевой пузырь, особенно если предполагается эвакуация жидкости (это занимает в среднем 30 минут).

Плевральный выпот. Плевральная пункция. Пациент садится на стул лицом к его спинке, наклоняет голову вперед, кладет руки на спинку стула. Место предполагаемого прокола обрабатывают спиртом, делают инъекцию новокаина. Затем в области 6 – 7 межреберья по средней или задней подмышечной линии вводят иглу для плевральной пункции и получают жидкость для анализа, при необходимости постепенно удаляют выпот. После извлечения иглы место пункции обрабатывают спиртом, настойкой йода,

закрывают стерильной салфеткой и заклеивают лейкопластырем. В некоторых случаях дополнительно проводят тугое бинтование грудной клетки. Пациент в течение суток должен соблюдать постельный режим

2.19-20 Лабораторная работа № 19-20 (4 часа)

Тема: «Особенности выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей (ангина, ОРЗ, бронхиты, пневмонии, плевриты, абсцессы легких). Основные противомикробные и специфические лечебно-профилактические препараты для лечения ГВЗ дыхательных путей».

2.18.1 Цель работы: познакомить студентов с особенностями выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей.

2.18.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы выделения и идентификации возбудителей ГВЗ дыхательных путей.
2. Провести посев клинического материала на питательные среды и сделать из него мазки.
3. Провести идентификацию выделенных микроорганизмов.

2.18.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, ватные стерильные тампоны, квачи.
2. Питательные среды: МПА, МПБ, агар Эндо, ЖСА, КА.
3. Антибиотические диски.

2.18.4 Описание работы

Стафилококки и их характеристика. Микробиологическая диагностика стафилококковых инфекций.

Морфологические свойства: Все виды стафилококков представляют собой округлые клетки. В мазке располагаются несимметричными гроздьями. Клеточная стенка содержит большое количество пептидогликана, связанных с ним тейхоевых кислот, протеин А. Грамположительны. Спор не образуют, жгутиков не имеют. У некоторых штаммов можно обнаружить капсулу. Могут образовывать L-формы.

Культуральные свойства: Стафилококки — факультативные анаэробы. Хорошо растут на простых средах. На плотных средах образуют гладкие, выпуклые колонии с различным пигментом, не имеющим таксономического значения. Могут расти на агаре с высоким содержанием NaCl. Обладают сахаролитическими и протеолитическими ферментами. Стафилококки могут вырабатывать гемолизины, фибринолизин, фосфатазу, лактамазу, бактериоцины, энтеротоксины, коагулазу. Стафилококки пластичны, быстро приобретают устойчивость к антибактериальным препаратам. Существенную роль в этом играют плазмиды, передающиеся с помощью трансдуцирующих фагов от одной клетки к другой. R-плазмиды детерминируют устойчивость к одному или нескольким антибиотикам, за счет продукции в-лактамазы.

Антигенная структура. Около 30 антигенов, представляющих собой белки, полисахариды и тейхоевые кислоты. В составе клеточной стенки стафилококка содержится протеин А, который может прочно связываться с Fc-фрагментом молекулы иммуноглобулина, при этом Fab-фрагмент остается свободным и может соединяться со специфическим антигеном. Чувствительность к бактериофагам (фаготип) обусловлена поверхностными рецепторами. Многие штаммы стафилококков являются лизогенными (образование некоторых токсинов происходит с участием профага).

Факторы патогенности: Условно — патогенные. Микрокапсула защищает от фагоцитоза, способствует адгезии микробов; компоненты клеточной стенки — стимулируют развитие воспалительных процессов. Ферменты агрессии: каталаза —

защищает бактерии от действия фагоцитов, в-лактамаза — разрушает молекулы антибиотиков.

Резистентность. Устойчивость в окружающей среде и чувствительность к дезинфектантам обычная.

Микробиологическая диагностика. Материал для исследования — гной, кровь, мокрота. Бактериоскопический метод: из исследуемого материала (кроме крови) готовят мазки, окрашивают по Граму. Наличие грам «+» гроздевидных кокков, располагающихся в виде скоплений.

Бактериологический метод: Материал засевают петлей на чашки с кровавым и желточно-солевым агаром для получения изолированных колоний. Посевы инкубируют при 37°C в течении суток. На следующий день исследуют выросшие колонии на обеих средах. На кровавом агаре отмечают наличие или отсутствие гемолиза. На ЖСА *S. aureus* образует золотистые круглые выпуклые непрозрачные колонии. Вокруг колоний стафилококков, обладающих лецитиназной активностью, образуются зоны помутнения с перламутровым оттенком. Для окончательного установления вида стафилококка 2—3 колонии пересевают в пробирки со скошенным питательным агаром для получения чистых культур с последующим определением их дифференциальных признаков. *S. aureus* — «+»: образование плазмокоагулазы, летициназы. Ферментация: глк, миннита, образование а-токсина.

Для установления источника госпитальной инфекции выделяют чистые культуры стафилококка от больных и бактерионосителей, после чего проводят их фаготипирование с помощью набора типовых стафилофагов. Фаги разводят до титра, указанного на этикетке. Каждую из исследуемых культур засевают на питательный агар в чашку Петри газоном, высушивают, а затем петлей каплю соответствующего фага наносят на квадраты (по числу фагов, входящих в набор), предварительно размеченные карандашом на дне чашки Петри. Посевы инкубируют при 37 °C. Результаты оценивают на следующий день по наличию лизиса культуры.

Серологический метод: в случаях хронической инфекции, определяют титр анти-а-токсина в сыворотке крови больных. Определяют титр АТ к риботейхоевой кислоте (компонент клеточной стенки).

Лечение и профилактика. Антибиотики широкого спектра действия (пенициллины, устойчивые к в-лактамазе). В случае тяжелых стафилококковых инфекций, не поддающихся лечению антибиотиками, может быть использована антитоксическая противостафилококковая плазма или иммуноглобулин, иммунизированный адсорбированным стафилококковым анатоксином. Выявление, лечение больных; проведение планового обследования медперсонала, вакцинация стафилококковым анатоксином. Стафилококковый анатоксин: получают из нативного анатоксина путем осаждения трихлоруксусной кислотой и адсорбцией на гидрате оксида алюминия. Стафилококковая вакцина: взвесь коагулазоположительных стафилококков, инактивированных нагреванием. Применяют для лечения длительно текущих заболеваний. Иммуноглобулин человеческий противостафилококковый: гамма-глобулиновая фракция сыворотки крови, содержит стафилококковый анатоксин. Готовят из челов. крови, с высоким содержанием антител. Применяется для специфического лечения.

Стрептококки и их характеристика. Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций. Род *Streptococcus* включает многочисленные виды, которые различаются между собой по физиологическим и биохимическим признакам, а также патогенности для человека.

Морфология, физиология. Клетки шаровидной или овальной формы, расположенные попарно или в виде цепочек разной длины. Грамположительны. Хемоорганотрофы. Требовательны к питательному субстрату. Размножаются на кровавых или сывороточных средах. На поверхности твердых сред образуют мелкие колонии, на жидких дают

придонный рост, оставляя среду прозрачной. По характеру роста на кровяном агаре различают α -гемолитические стрептококки, окруженные небольшой зоной гемолиза с зеленовато-сероватым оттенком (β -гемолитические, окруженные прозрачной зоной гемолиза, и негемолитические, не изменяющие кровяной агар). Однако гемолитический признак оказался весьма вариабельным, вследствие чего для дифференциально-диагностических целей используется с осторожностью. Ферментация углеводов не является стабильным и четким признаком, вследствие чего он не используется для дифференцировки и идентификации стрептококков. Стрептококки аэробы, не образуют каталазы, в отличие от стафилококков.

Стрептококки сравнительно широко распространены в природе. По экологическому признаку их можно подразделить на несколько групп. К первой группе относят стрептококки серогруппы А, патогенные только для человека (*S. pyogenes*). Вторую группу составляют патогенные и условно-патогенные стрептококки серогруппы В и D (*S. agalactia*, *S. faecalis* и др.), патогенные для людей и животных. Третья экологическая группа — это условно-патогенные оральные стрептококки (*S. mutans*, *S. mitis* и др.). Таким образом, одни стрептококки вызывают только антропонозные инфекции, другие — антропозоонозные инфекции. В организме человека стрептококки обитают в экологических нишах: полость рта, верхние дыхательные пути, кожа и кишечник.

Источником инфекции являются здоровые бактерионосители, рековалесценты и больные люди. Основной путь распространения возбудителя — воздушно-капельный, реже контактный. Во внешней среде стрептококки сохраняются в течение нескольких дней. При нагревании до 50°C они погибают через 10-30 мин.

Лабораторная диагностика. Материал для исследования: гной, слизь из зева и носа и др. — подвергают бактериоскопическому исследованию. Для этого готовят мазки, которые окрашивают по Граму. Бактериологическое исследование проводят путем посева исследуемого материала на чашки Петри с кровяным агаром. Выросшие колонии характеризуют по наличию или отсутствию гемолиза. Заключительным этапом бактериологического исследования является идентификация выделенной культуры по антигенным свойствам в реакции преципитации с полисахаридным преципитином, выделенным из исследуемой культуры, и антисыворотками к серотипам А, В, D. При подозрении на сепсис делают посевы крови.

Серологическое исследование проводят для подтверждения диагноза ревматизма. С этой целью определяют наличие антител к О-стрептолизину в РСК или реакции преципитации, а также С-реактивного белка. В последние годы для диагностики стрептококковых инфекций используют ПЦР.

Пневмококки и их характеристика. Микробиологическая диагностика пневмококковых инфекций.

Основным возбудителем (около 60%) бактериальных пневмоний в настоящее время является пневмококк (*Streptococcus pneumoniae*).

Морфология и физиология. Диплококки, имеющие вытянутую форму в виде ланцета. Каждая пара кокков окружена выраженной капсулой, под которой располагается М-протеин иной антигенной специфичности, чем таковой *S. pyogenes*. Растет на кровяных средах, образуя мелкие колонии, окруженные неполной зоной гемолиза (α -гемолиз).

Патогенность и патогенез. Способность к адгезии обуславливают капсульные полисахариды и М-белок. Факторами вирулентности являются гемолизины и секретируемые пневмококком ферменты: пептидаза, расщепляющая секреторный IgA, гиалуронидаза, способствующая распространению стрептококка в тканях, агрессивные, подавляющие фагоцитоз, к которым относится и протеин М. Инфицирование пневмококками слизистых оболочек респираторного тракта чаще происходит при нарушении их целостности разными вирусами (риновирусами, аденовирусами и др.). Пневмококки как и другие стрептококки являются внеклеточными паразитами, колонизирующими клеточную поверхность отдельных участков респираторного тракта.

При этом они вызывают бронхиты, пневмонию, реже бактериемию, а у некоторых больных септицемию и менингит. Генерализованные формы чаще встречаются у маленьких детей и пожилых людей.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет малонапряженный и носит типоспецифический характер.

Нередко встречаются вторичные инфекции. Пневмония антропонозная инфекция. Стрептококки вегетируют на слизистых оболочках верхних дыхательных путей. Заражение происходит воздушно-капельным путем. Частота носительства увеличивается при длительном контакте с больным или носителем. Хотя естественным хозяином пневмококка является человек, известны случаи заболевания домашних животных. Полагают, что заражение животных происходит от человека.

Лабораторная диагностика. В основном проводят бактериологическое исследование и биопробу для выделения чистой культуры с последующей ее идентификацией.

Гемофильная палочка. Биологические свойства. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика.

Возбудитель гемофильной инфекции - *Haemophilus influenzae*, способен вызывать гнойный менингит, острое воспаление верхних дыхательных путей, бронхит, пневмонию, эмпиему, конъюнктивит, отит и другие оппортунистические заболевания. Уровень носительства гемофильной палочки среди здоровых лиц высокий (до 90 %). Гемофильная инфекция у детей в возрасте до 3 лет протекает исключительно тяжело, особенно в случае возникновения острого эпиглоттита (воспаления надгортанника).

Бактериоскопический метод может быть использован при исследовании спинномозговой жидкости при подозрении на гнойный менингит.

Бактериологический метод является основным в лабораторной диагностике гемофильной инфекции. Исследуемый материал (мокрота, кровь, спинномозговая жидкость, серозную жидкость) засевают на МПА с 6 - 10 % нативной крови или на «шоколадный» агар с прогретой или кипяченой кровью. Если возможности немедленно посеять материал на среды нет, используют транспортную полужидкую среду с активированным углем и ниацином. Серозную и спинномозговую жидкости центрифугируют, осадок засевают бактериальной петлей на шоколадный агар (МПА с 5% дефибринированной крови человека, лошади или кролика выдерживают 2-3 минуты при температуре 80° С, повторно добавляют 5% крови и вновь выдерживают при той же температуре 2-3 минуты) или среду Филдса (МПА с добавлением пептического перевара крови лошади или барана). Параллельно делают посев на обычный МПА, на котором гемофильная палочка не растет. Колонии *Haemophilus influenzae* мелкие, прозрачные или полупрозрачные, вырастают через 18-24 часа; в мазках из этих колоний обнаруживаются мелкие капсулообразующие или капсулонеобразующие грамотрицательные палочки (рис. 176). Оставшуюся часть колонии пересевают на скошенный шоколадный МПА для выделения чистой культуры. Идентификацию гемофильных бактерий проводят на основании изучения биохимических (каталазная, оксидазная активность, ферментация углеводов, гемолитическая активность, питательные потребности) и антигенных (постановка РА на стекле с групповыми сыворотками a,b,c, d, e, f к капсульному антигену) свойств. Для идентификации *Haemophilus influenzae* применяют также тест сателлитных колоний, для чего на поверхность шоколадного МПА наносят исследуемую культуру и в некоторые участки среды - штамм *Staphylococcus aureus*. Гемофильная палочка вырастает в виде мелких сателлитных колоний, окружающих колонии *S. aureus*, так как стафилококк, гемолизируя кровь, высвобождает X и V факторы – стимуляторы роста *Haemophilus influenzae*. Каталазу гемофильной палочки определяют по пенообразованию в капле 10% перекиси водорода на предметном стекле при внесении в нее исследуемой культуры. Оксидазу выявляют путем нанесения на диск фильтровальной бумаги, диаметром 5-7 см, 2-3 капель 1% раствора тетраметилпарафенилендиамина и

исследуемой культуры, в результате чего через 10-15 сек. появляется фиолетовое окрашивание. Уреаза определяют общепринятым методом по разложению мочевины с образованием щелочных продуктов в присутствии индикатора фенолового красного; при наличии уреазы среда приобретает ярко-малиновый цвет. Порфириновый тест выявляет способность *N. influenzae* к синтезу Δ -аминолевуленовой кислоты (АЛК) - потребности в факторе X. При внесении АЛК в среду только АЛК-независимые гемофильные бактерии синтезируют и секретируют порфобилиноген и порфирины (промежуточные соединения биосинтеза гема), тогда как АЛК-зависимые гемофильные палочки, нуждающиеся в факторе X, не способны к образованию указанных продуктов. Исследуемые бактерии засевают на шоколадный МПА, наносят на поверхность среды диски, пропитанные АЛК, и после 24-часовой выращивания в термостате при 37⁰ С облучают УФ-лучами. При наличии X-независимых микроорганизмов наблюдают кирпично-красную флюоресценцию.

Для специфической профилактики гемофильной инфекции в России лицензирована полисахаридная вакцина, конъюгированная со столбнячным анатоксином (вакцина Аст-НІВ) фирмы Пастер Мерье Коннот, которая не содержит консервантов и антибиотиков.

Менингококки и их характеристика. Микробиологическая диагностика, специфическая профилактика.

Менингококковая инфекция — острая инфекционная болезнь, характеризующаяся поражением слизистой оболочки носоглотки, оболочек головного мозга и септициемией; антропоноз. Таксономия: возбудитель *Neisseria meningitidis* (менингококк) относится к отряду *Gracilicutes*, семейству *Neisseriaceae*, роду *Neisseria*.

Морфологические свойства. Мелкие диплококки. Характерно расположение в виде пары кофейных зерен, обращенных вогнутыми поверхностями друг к другу. Неподвижны, спор не образуют, грамотрицательные, имеют пили, капсула непостоянна.

Культуральные свойства. Относятся к аэробам, культивируются на средах, содержащих нормальную сыворотку или дефибринированную кровь лошади, растут на искусственных питательных средах, содержащих специальный набор аминокислот. Элективная среда должна содержать ристомидин. Повышенная концентрация CO₂ в атмосфере стимулирует рост менингококков.

Антигенная структура: Имеет несколько АГ: родовые, общие для рода нейссерии (белковые и полисахаридные, которые представлены полимерами аминсахаров и сиаловых кислот); видовой (протеиновый); группоспецифические (гликопротеидный комплекс); типоспецифические (белки наружной мембраны), которые разграничивают серотипы внутри серогрупп В и С. По капсульным АГ выделяют девять серогрупп (А, В, С, D, X, Y, Z, W135 и E). Капсульные АГ некоторых серогрупп иммуногенны для человека. Штаммы серогруппы А вызывают эпидемические вспышки. В, С и Y - спорадические случаи заболевания. На основании различий типоспецифических АГ выделяют серотипы, которые обозначают арабскими цифрами (серотипы выявлены в серогруппах В, С, Y, W135). Наличие АГ серотипа 2 рассматривается как фактор патогенности. Во время эпидемий преобладают менингококки групп А и С, которые являются наиболее патогенными.

Биохимическая активность: низкая. Разлагает мальтозу и глк. До кислоты, не образует индол и сероводород. Ферментация глк. и мальтозы – диф.-диагностический признак. Не образует крахмалоподобный полисахарид из сахарозы. Обладает цитохромоксидазой и каталазой. Отсутствие β -галактозидазы, наличие γ -глутаминтрансферазы.

Факторы патогенности: капсула – защищает от фагоцитоза. АТ, образующиеся к полисахаридам капсулы, проявляют бактерицидные свойства. Токсические проявления менингококковой инфекции обусловлены высокотоксичным эндотоксином. Для генерализованных форм менингококковой инфекции характерны кожные высыпания, выраженное пирогенное действие, образование АТ. Пили, белки наружной мембраны, наличие гиалуронидазы и нейроминидазы. Пили являются фактором адгезии к слизистой

оболочке носоглотки и тканях мозговой оболочки. Менингококки выделяют IgA-протеазы, расщепляющие молекулы IgA, что защищает бактерии от действия Ig.

Резистентность. Малоустойчив во внешней среде, чувствителен к высушиванию и охлаждению. В течение нескольких минут погибает при повышении температуры более 50 °С и ниже 22 °С. Чувствительны к пенициллинам, тетрациклинам, эритромицину, устойчивы к ристомицину и сульфамидам. Чувствительны к 1 % раствору фенола, 0,2 % раствору хлорной извести, 1 % раствору хлорамина.

Эпидемиология, патогенез и клиника. Человек — единственный природный хозяин менингококков. Носоглотка служит входными воротами инфекции, здесь возбудитель может длительно существовать, не вызывая воспаления (носительство). Механизм передачи инфекции от больного или носителя воздушно-капельный.

Инкубационный период составляет 1—10 дней (чаще 2—3 дня). Различают локализованные (назофарингит) и генерализованные (менингит, менингоэнцефалит) формы менингококковой инфекции. Из носоглотки бактерии попадают в кровяное русло (менингококкемия) и вызывают поражение мозговых и слизистых оболочек с развитием лихорадки, геморрагической сыпи, воспаления мозговых оболочек.

Иммунитет. Постинфекционный иммунитет при генерализованных формах болезни стойкий, напряженный.

Микробиологическая диагностика: Материал для исследования - кровь, спинномозговая жидкость, носоглоточные смывы.

Бактериоскопический метод – окраска мазков из ликвора и крови по Граму для определения лейкоцитарной формулы, выявления менингококков и их количества. Наблюдают полинуклеарные лейкоциты, эритроциты, нити фибрина, менингококки – грам «-», окружены капсулой.

Бактериологический метод – выделение чистой культуры. Носоглоточная слизь, кровь, ликвор. Посев на плотные, полужидкие питательные среды, содержащие сыворотку, кровь. Культуры инкубируют в течение 20 ч. При 37С с повышенным содержанием CO₂. Оксидазаположительные колонии – принадлежат в данному виду. Наличие *N.meningitidis* подтверждают образованием уксусной кислоты при ферментации глк. и мальтозы. Принадлежность к серогруппам – в реакции агглютинации (РА).

Серологический метод – используют для обнаружения растворимых бактериальных АГ в ликворе, или АТ в сыворотке крови. Для обнаружения АГ применяют ИФА, РИА. У больных, перенесших менингококк – в сыворотке специфические АТ: бактерицидные, аггютинины, гемаггютинины.

Лечение. В качестве этиотропной терапии используют антибиотики - бензилпенициллин (пенициллины, левомецетин, рифампицин), сульфамиды.

Профилактика. Специфическую профилактику проводят менингококковой химической полисахаридной вакциной серогруппы А и дивакциной серогрупп А и С по эпидемическим показаниям. Неспецифическая профилактика сводится к соблюдению санитарно-противоэпидемического режима в дошкольных, школьных учреждениях и местах постоянного скопления людей.

2.21 Лабораторная работа № 21 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика пневмококковой инфекции».

2.21.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами лабораторной диагностика пневмококковой инфекции.

2.21.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы выделения и идентификации пневмококка
2. Провести посев клинического материала на питательные среды и сделать из него мазки.

2.21.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Микроскопические препараты из культур пневмококков, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P.

2. Табличный материал.

2.21.4 Описание работы

Общая характеристика пневмококков. *S.pneumoniae* является представителем рода *Streptococcus*, семейства *Streptococcaceae*, в который входят грамположительные, каталазо- и оксидазоотрицательные шаровидные бактерии (кокки), являющиеся факультативными анаэробами, рост которых усиливается при повышении содержания углекислого газа в атмосфере инкубации до 5-7%. Строение клеточной стенки стрептококков типично для грамположительных бактерий. Ее основой является пептидогликан со встроенными углеводами, тейхоевыми кислотами, липопротеинами и поверхностными белками. Для пневмококков характерно наличие мощной полисахаридной капсулы, которая выполняет защитную функцию, препятствуя опсонизации и последующему фагоцитозу. Существует по крайней мере 90 различных капсульных типов *S.pneumoniae*, но большинство (>90%) инвазивных заболеваний вызывается 23 серотипами, которые входят в широко используемую в настоящее время полисахаридную вакцину.

Бактериологическая диагностика пневмококковой инфекции

Материалом для бактериологического исследования служат кровь, спинномозговая и плевральная жидкости, аспираты из синуса и среднего уха, мокрота и др.

При поступлении на исследование мокроты особое внимание следует обратить на оценку качества доставленного образца. Критериями пригодности мокроты для бактериологического исследования является наличие более 25 сегментоядерных лейкоцитов и не более 10 эпителиальных клеток в поле зрения при просмотре, как минимум, 20 полей зрения мазка, окрашенного по Граму (под увеличением X100).

Принципы выделения пневмококка из клинического материала

Для выделения пневмококка из клинического материала необходимо соблюдать следующие условия:

- использование приемлемых питательных сред. Пневмококк является "привередливым" микроорганизмом, требующим для роста на искусственных питательных средах высокого содержания аминного азота и нативного белка животного происхождения;

- наличие в среде дефибринированной крови. Кровь необходима не столько для обогащения среды нативными белками, сколько для использования возможности идентификации гемолитической реакции пневмококка. Потребность пневмококка в белках может быть обеспечена добавлением сыворотки крови животных (лошади, барана);

- инкубация в атмосфере с повышенным содержанием CO₂. Наиболее распространенным методом создания повышенной концентрации CO₂ является использование эксикатора, в который помещается зажженная свеча, которая при горении утилизирует кислород. Когда она гаснет, концентрация CO₂ достигает 3%. Однако наиболее эффективным является применение CO₂-термостата.

Исследуемый материал засевают на агар с добавлением 5% дефибринированной крови барана, лошади, крупного рогатого скота или человека. В качестве основы для приготовления кровяного агара (КА) используют колумбийский агар (Columbia agar), агар для бруцелл (Brucella agar), основу для КА (Blood agar base), эритроцит агар, ГРМ-агар и др.

В России в ряде лабораторий имеется опыт использования эритроцитной массы из крови человека вместо дефибринированной крови. Вероятность выделения пневмококка из мокроты увеличивается при использовании селективных сред, содержащих добавки, ингибирующие рост сапрофитных грамотрицательных микроорганизмов (нейссерий, гемофильных палочек и др.). Такой средой, например, является агар Columbia CNA, селективными добавками в котором являются колистин и налидиксовая кислота. Другой вариант - среда с добавлением гентамицина в конечной концентрации 5 мг/л

Принципы идентификации пневмококков. Идентификация пневмококков проводится на основании: морфологических особенностей роста; фенотипических характеристик; антигенной структуры (серологический метод). Гемолитическая реакция стрептококков на КА является отправной точкой в идентификации пневмококков. Различают 3 основных типа гемолитической реакции: альфа-гемолиз (частичный гемолиз эритроцитов) - зеленое окрашивание агара вокруг колонии; бета-гемолиз (полный гемолиз эритроцитов) - зона полного просветления вокруг колонии; гамма-гемолиз (или отсутствие гемолиза).

S.pneumoniae - альфа-гемолитический (зеленящий) стрептококк, который по морфологическим признакам роста трудно отличим от других альфа-гемолитических ("зеленящих") стрептококков - *S.mitis*, *S.oralis*, *S.sanguis*, *S.parasanguis*, *S.gordonii*.

Пневмококки при росте на КА могут давать несколько типов колоний, что зависит от степени выраженности капсулы. Колонии с сильно развитой капсулой, например серотипа 3, могут иметь несколько миллиметров в диаметре и быть настолько слизистыми, что напоминают каплю масла на агаровой поверхности; их идентификация не представляет существенных проблем. Колонии штаммов с менее выраженной капсулой имеют небольшие размеры, а их выделение сопряжено с определенными трудностями.

Использование стереомикроскопа с увеличением 7 X 2,5 позволяет увидеть характерные морфологические особенности роста пневмококка - сероватый оттенок колоний, выпуклую поверхность и влажную "сметанообразную" консистенцию, что существенно облегчает его идентификацию. При длительной инкубации (48 ч) центральная часть колонии может опускаться, давая характерную блюдцеобразную форму, что объясняется действием пневмококковых аутолизин. Колонии некоторых штаммов могут полностью уплощаться, образуя поверхность "шляпки гвоздя".

Дальнейшая идентификация *S.pneumoniae* проводится стандартными фенотипическими методами, основными из которых являются чувствительность к оптохину и лизис в присутствии солей желчи.

Чувствительность к оптохину. Принцип. Метод основан на способности оптохина (этилгидрокупреина гидрохлорида) селективно подавлять рост пневмококка в отличие от других зеленящих стрептококков. Материалы: агар с добавлением 5% дефибринированной крови; диски, содержащие 5 мкг оптохина.

Процедура. Произвести посев 1 колонии альфа-гемолитического стрептококка, подозрительного по морфологии на пневмококк, штрихом на сектор КА. Поместить диск с оптохином на засеянную поверхность и инкубировать в течение 18-24 ч при температуре 35°C в атмосфере с 5-7% CO₂. Интерпретация результата. Зона задержки роста >14 мм (диск диаметром 6 мм) или >16 мм (диск диаметром 10 мм) свидетельствует о наличии *S.pneumoniae*. Зона задержки роста <14 мм (<16 мм) требует подтверждения испытуемой культуры на принадлежность к *S.pneumoniae* в тесте лизиса в присутствии солей желчных кислот.

Лизис в присутствии солей желчных кислот. Принцип. Соли желчи (в особенности дезоксихолат натрия и таурохолат натрия) обладают способностью избирательно лизировать колонии *S.pneumoniae* на агаре или в бульоне. Метод основан на активации пневмококковых аутолизин - ферментов, участвующих в синтезе клеточной стенки. Соли желчных кислот активируют аутолизин большинства штаммов, что приводит к визуальному лизису *S.pneumoniae* в течение 0,5-2 ч. Наиболее стандартизованным является пробирочный метод, который описан ниже.

Материалы. Существует несколько вариантов проведения теста лизиса в присутствии солей желчных кислот. Используется 10% раствор дезоксихолата натрия, приготовленный следующим образом: дезоксихолат натрия - 1 г; стерильная дистиллированная вода - 9мл; рН - 7,0. Раствор стерилизуется на водяной бане 5 мин. Хранится в холодильнике в темной емкости. При выпадении осадка (при снижении рН <6,5) реагент не пригоден для дальнейшего использования. Вместо дистиллированной воды можно использовать стерильный 0,9% раствор хлорида натрия или бульон с рН=7,4.

Процедура. Приготовить суспензию исследуемого штамма в 1-2 мл стерильной дистиллированной воды (или 0,9% раствора хлорида натрия) до мутности 1 по стандарту МакФарланда. Половину полученной суспензии перенести в другую пробирку, равную по диаметру.

К пробирке, маркированной словом "Тест", добавить 3-4 капли 10% раствора дезоксихолата натрия, а к другой, с маркировкой "Контроль" - 3-4 капли 0,9% раствора хлорида натрия. Тщательно встряхнуть пробирки и инкубировать 0,5-2 ч при температуре 35°C, после чего следует визуально сравнить мутность микробной суспензии в 2 пробирках.

Интерпретация. Просветление жидкости в пробирке "Тест" по сравнению с пробиркой "Контроль" свидетельствует о принадлежности культуры к *S.pneumoniae*.

Ограничения теста. Примерно 86% пневмококков полностью лизируются в присутствии солей желчи. Для штаммов с неполным лизисом может потребоваться использование других тестов, например серологических.

Использование нативной, сухой или медицинской желчи не обеспечивает достоверных результатов, поскольку такая желчь не стандартизована по содержанию желчных кислот.

Контроль качества. Цель: контроль качества раствора дезоксихолата натрия. Контрольный штамм: положительный контроль - *S.pneumoniae* ATCC 49619, отрицательный контроль - *S.salivarius* ATCC 13419 или любой зеленеющий стрептококк.

Методика постановки и интерпретация соответствуют описанной выше.

Альтернативные методы идентификации. Наряду с фенотипическими существуют альтернативные методы идентификации *S.pneumoniae*, самым распространенным из которых является серологический. Тест основан на выявлении пневмококковых капсульных полисахаридных антигенов с использованием поливалентной специфической пневмококковой сыворотки. Имеются коммерческие диагностические наборы для выполнения латекс-агглютинационного теста, например "Slidex pneumokit" фирмы "биоМерье". Этот метод может использоваться для ускоренного выявления пневмококка непосредственно с чашки первичного посева.

Определение чувствительности пневмококка к антибактериальным препаратам сопряжено с определенными трудностями. До настоящего времени в России этому уделялось недостаточно внимания. В "Методических указаниях по определению чувствительности микроорганизмов методом диффузии в агар с использованием дисков" Минздрава СССР (1983), в методическом письме Минздрава РСФСР "пределение антибиотикочувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом" (1984) и "Методических указаниях по определению чувствительности стрептококков к антибиотикам" (1985) Минздрава СССР методика тестирования не описана и не приведены интерпретационные критерии для пневмококков.

Рекомендуемая этими документами среда АГВ не пригодна для определения чувствительности пневмококка к ингибиторам фолиевой кислоты, так как содержит повышенное количество тимидина и тимина, за счет которых восполняется потребность бактериальной клетки в этих веществах, используемых при синтезе нуклеиновых кислот. В результате устраняется ингибирующий эффект сульфаниламидов и триметоприма, что проявляется как ложная резистентность пневмококка к этим препаратам.

В настоящее время большинство исследователей при определении чувствительности микроорганизмов к антибиотикам руководствуется стандартами NCCLS - Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США. Вследствие этого основные исследования чувствительности пневмококков к антибиотикам проводятся в соответствии с этими рекомендациями.

Обязательным является определение чувствительности пневмококков к пенициллину, эритромицину, триметоприму/сульфаметоксазолу (I группа). Определение чувствительности к другим препаратам, например тетрациклину, офлоксацину и ванкомицину, проводится только при необходимости (наличии резистентности к

препаратам I группы и др.). При системных инфекциях и при резистентности к пенициллину в обязательный набор антибиотиков для определения чувствительности входят цефалоспорины III поколения (цефотаксим или цефтриаксон).

Наибольшее значение имеет резистентность *S.pneumoniae* к пенициллину, который на протяжении десятилетий являлся препаратом выбора при лечении пневмококковых инфекций.

2.22 Лабораторная работа № 22 (2 часа)

Тема: «Особенности взятия клинического материала для исследования кишечной микрофлоры».

2.22.1 Цель работы: познакомить студентов со способами взятия клинического материала для исследования кишечной микрофлоры.

2.22.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы взятия клинического материала.

2.22.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Контейнеры для взятия клинического материала.

2. Табличный материал.

2.22.4 Описание работы

Исследование фекалий на патогенные и условно-патогенные энтеробактерии и дисбактериоз. При исследовании на дисбактериоз пациент за 1-3 дня до взятия пробы должен находиться на диете, исключающей приём продуктов, усиливающих процессы брожения в кишечнике, а также алкоголь, антимикробные лекарственные препараты и т. п. Фекалии собирают сразу после дефекации из предварительно обработанного дез. раствором и тщательно промытого водой судна, горшка, специального лотка или с пеленки с помощью стерильной стеклянной палочки, проволочной петли или деревянного шпателя. Порцию фекалий помещают в стерильный флакон.

Объём испражнений для исследования на патогенные энтеробактерии, флору и на дисбактериоз должен составлять 1/3 флакона, объёмом 20 мл.

При наличии в испражнениях патологических примесей (слизь, хлопья, гной) их следует включать в исследуемую пробу.

Материал доставляется в лабораторию в кратчайшие сроки

Испражнения для исследования на патогенные энтеробактерии можно получить непосредственно из прямой кишки с помощью ректальных, ватных или ватно - марлевых тампонов, укрепленных на металлической или деревянной палочке, вводя их круговыми движениями в прямую кишку на 6-8 см.

2.23 Лабораторная работа № 23 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика дисбиоза кишечника».

2.23.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами исследования клинического материала на дисбиоз.

2.23.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы исследования клинического материала на дисбиоз.

2. Осуществить первый этап исследования материала.

2.23.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла, ватные стерильные тампоны, квачи.

2. Питательные среды: МПА, МПБ, агар Эндо, ЖСА, КА, агар Сабуро.

2.23.4 Описание работы

Дисбактериоз (дисбиоз) - изменение количественного соотношения и состава нормальной микрофлоры организма, главным образом его кишечника, при котором происходит уменьшение количества или исчезновение обычно составляющих ее микроорганизмов и появление в большом количестве редко встречающихся или несвойственных ей микробов.

Показания для бактериологической диагностики дисбактериоза кишечника: длительно протекающие инфекции и расстройства, при которых не удается выделить патогенные энтеробактерии; затяжной период реконвалесценции после перенесенной кишечной инфекции; дисфункции ЖКТ на фоне или после проведенной антибиотикотерапии или у лиц, постоянно контактирующих с антимикробными препаратами. Исследования также следует проводить при болезнях злокачественного роста, у страдающих диспептическими расстройствами, лиц подготавливаемых к операциям на органах брюшной полости, недоношенных или травмированных новорожденных, а также при наличии бактериемий и гнойных процессов, трудно поддающихся лечению (язвенные колиты и энтероколиты, пиелиты, холециститы и др.).

Посевы изучают на наличие патогенных микроорганизмов и на нарушение соотношения различных видов микробов. Результаты исследования следует считать объективными при анализе роста изолированных колоний в том числе, если можно изучить морфологию и подсчитать количество колоний на чашку Петри. После идентификации проводят пересчет содержания микроорганизмов каждого вида на 1 г исследуемого материала. При обнаружении патогенной микрофлоры необходимо изучить ее чувствительность к антибактериальным препаратам и бактериофагам.

Отбор и доставка материала на дисбактериоз. Материалом для исследования является кал не позже 2 часов после дефекации. Для получения достоверного результата стул должен быть обязательно утренним, самостоятельным, не на фоне лечения. У грудных детей забирать материал не с памперсов и пеленок. Одну столовую ложку фекалий помещают в прокипяченную стеклянную баночку.

Лабораторная диагностика дисбактериоза кишечника. Метод исследования - бактериологический: мерный посев исследуемого материала с целью определения количества микроорганизмов наиболее значимых групп.

Этапы исследования: приготовление серийных разведений суспензии испражнений; посев на питательные среды из разведений; учет результатов посева и ориентировочная идентификация микроорганизмов; оценка результатов. Этот метод диагностики дисбактериоза кишечника не очень точен, так как для его проведения берется материал из нижних отделов кишечника, тем не менее он позволяет проанализировать соотношение 15-20 основных представителей микрофлоры кишечника человека (это составляет не более 10-11% от общего количества обитающих в кишечнике видов микроорганизмов) и оказать реальную помощь врачу в постановке верного диагноза.

Основные показатели дисбактериоза (копрограмма):

- количество бифидобактерий — менее 10 в 8-й степени клеток в 1 г;
- доля атипичных эшерихий (кишечных палочек) — более 16%;
- появление гемолитической микрофлоры — + + +;
- число условно патогенных грамотрицательных палочек или золотистых стафилококков (*S. aureus*) — более 10 в 4-й степени в 1 г;
- число грибов рода *Candida* — более 10 в 3-й степени в 1 г;
- кишечные палочки (*E. coli*) — увеличение более 2-10 в 8-й степени или снижение их количества до 10 в 6-й степени.

На проведение такого рода диагностики дисбактериоза кишечника требуется 7 дней: в течение этого срока на специальных питательных средах вырастают колонии выделенных из кишечного содержимого бактерий.

На результат анализа могут повлиять условия забора материала, его доставки и хранения. Поэтому рекомендуется точно соблюдать правила, о которых расскажет врач, выписывая направление.

2.24 Лабораторная работа № 24 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика хеликобактерной инфекции с помощью уреазного теста».

2.24.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами исследования клинического материала на хеликобактерную инфекцию.

2.24.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы исследования клинического материала на хеликобактерную инфекцию.
2. Изучить морфологию возбудителя.

2.24.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Готовые микропрепараты с возбудителем хеликобактерной инфекции.
2. Уреазный тест для диагностики хеликобактерной инфекции.
3. Видеоматериал.

2.24.4 Описание работы

В клинической практике для выявления *Helicobacter pylori* используется несколько неинвазивных диагностических тестов. Уреазный дыхательный тест, основанный на определении ^{13}C -мочевины, является лучшим тестом для диагностики инфекции *Helicobacter pylori*. Это быстрый и высокоточный метод определения инфицированности *Helicobacter pylori* слизистой оболочки желудка по уреазной активности микроорганизма: способности уреазы разлагать мочевины до NH_4^+ и HCO_3^- с последующим образованием из HCO_3^- углекислого газа, который, попадая в кровоток, затем выделяется через легкие и может быть определен спектрометром в выдыхаемом воздухе. Специфичность метода - 93-100%, чувствительность - 95-97%. Быстрый уреазный тест прост в выполнении, бывает положительным лишь при наличии активной инфекции. В одном из широко используемых тестов — CLO-test — биоптат размещают в агаре, содержащем мочевины и индикатор pH. Гидролиз мочевины приводит к увеличению pH агара и вызывает изменение окраски в течение 24 часов. Поскольку бактерии *Hp* могут быть разбросаны по гастродуоденальной слизистой оболочке в виде очагов, для повышения чувствительности метода целесообразно брать биоптаты из разных частей желудка. Дыхательные тесты с мочевиной являются относительно недорогими (однако все же более дорогими, чем серологические) и легко выполнимыми.

2.25 Лабораторная работа № 25 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика гарднереллеза».

2.25.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами исследования клинического материала на гарднереллеза.

2.25.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы исследования клинического материала на гарднереллез.
2. Изучить морфологию возбудителя.

2.25.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Готовые микропрепараты с возбудителем гарднереллеза
2. Видеоматериал.

2.25.4 Описание работы

Возбудитель гарднереллез - *Gardnerella vaginalis* относится к роду *Gardnerella*.

Морфология гарднерелл. Гарднереллы - бактерии, мелкие палочки или коккобациллы размером 1-2 x 0,3-0,6 мкм. В мазках клетки располагаются поодиночке или парами. Молодые 8-12-часовые культуры окрашиваются грамотрицательно, а культуры,

выращенные на оптимальной среде, - грамположительны. Капсул, жгутиков и спор не имеют.

Культуральные свойства гарднерелл. Факультативные анаэробы, капнофилы. Требовательны к питательным средам, на простых питательных средах не растут или дают слабый рост на кровяном агаре. Растут на специальных сложных питательных средах с добавлением гемина и при 35-37 °С.

Биохимическая активность гарднерелл. Метаболизм бродильного типа. Расщепляют глюкозу и мальтозу до кислоты. Главный продукт брожения - уксусная кислота, некоторые штаммы способны образовывать янтарную и муравьиную кислоты.

Ферментативная активность низкая: каталазу и оксидазу не образуют, разлагают гипурат, гидролизуют крахмал.

Антигенная структура гарднерелл. Выделяют 7 серогрупп гарднерелл. Общий антиген, представляющий гликопептид, определяют в развернутой РА и ИФА. В РИФ выявлены общие антигены с *Candida albicans*.

Факторы патогенности гарднерелл. Некоторые штаммы гарднерелл продуцируют нейрамидазу, разрушающую гликопротеиды слизистой оболочки влагалища.

Патогенез гарднереллеза. Экологической нишей является влагалище. Гарднереллы совместно с бактероидами, мобилункасами и другими анаэробами вызывают у женщин бактериальный вагиноз, характеризующийся нарушениями микробиоценоза влагалища. Предрасполагающими факторами служат сахарный диабет, беременность, применение гормональных противозачаточных средств, менопауза, эндокринные нарушения, приводящие к дисбалансу эстрогена и прогестерона в организме. Все это вызывает изменение концентрации сахара на слизистой оболочке влагалища и как следствие уменьшения количества лактобацилл, поддерживающих колонизационную резистентность влагалища, в результате чего рН во влагалище становится выше 4,5, и гарднереллы в ассоциации с анаэробами, клостридами, как бактероиды, пептострептококки и мобилункусы, размножаются, вызывая развития бактериального вагиноза. Ни один из этих микробов в отдельности вагиноза не вызывает.

Симптомы гарднереллеза. Симптомы гарднереллеза характеризуются образованием пенистых влагалищных выделений белого или серого цвета с резким неприятным рыбным запахом, обусловленным образованием аномальных аминов. Признаки воспаления отсутствуют. У мужчин обычно развивается неспецифический уретрит или воспалительные процессы полового члена. Бактериальный вагиноз может приводить к тяжелым последствиям, таким, как преждевременные роды, снижение массы тела новорожденных, преждевременный разрыв оболочек, воспалительные заболевания органов малого таза, патологические маточные кровотечения. До 1/3 женщин, предъявляющих различные жалобы на неприятные ощущения в области влагалища, страдают бактериальным вагинозом. При присоединении воспалительного компонента и появлении в отделяемом влагалища нейтрофилов развивается вагинозобагиниит.

Иммунитет после перенесенного заболевания не формируется.

Лабораторная диагностика гарднереллеза. Материалом для исследования служат мазки из влагалища и шейки матки. Для диагностики используют бактериоскопический и бактериологический методы. Обычно диагноз ставят бактериоскопический по обнаружению ключевых клеток, т.е. клеток эпителия влагалища, покрытых большим количеством грамотрицательных и грамположительных бактерий. Ключевые клетки покрыты огромным количеством тонких палочек или коккобактерий, что придает поверхности клетки зернистый вид и неясность очертаний. Лактобациллы в окрашенных по Граму мазках почти или полностью замещаются профузно растущей бактериальной флорой, состоящей из анаэробных бактерий. Кроме того, используют следующие клинические признаки: выделения из влагалища имеют рН выше 4,5; повышение количества резко водянистых гомогенных выделений из влагалища, отсутствие

лейкоцитоза влагалищных выделений; появление резкого запаха при добавлении к выделениям 10% раствора КОН.

Бактериологическое исследование проводят редко.

Лечение гарднереллеза. Лечение гарднереллеза направлено на восстановление нормальной микрофлоры влагалища, для этого используют антибиотики, действующие на неспорообразующие анаэробы (метронидазол) и вагинальные пробиотики на основе лактобактерий.

2.26 Лабораторная работа № 26 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика генитального кандидоза».

2.26.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами исследования клинического материала на кандидоз.

2.26.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы исследования клинического материала на влагалищный кандидоз.
2. Изучить морфологию и культуральные свойства возбудителя.

2.26.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Пастеровские пипетки, спиртовые горелки, бактериологические петли, набор красок для окраски по Граму, световые микроскопы бинокулярные XSP-103P, предметные стекла.
2. Культуры *C. albicans*.

2.26.4 Описание работы

Кандидоз влагалища - инфекционное поражение нижнего отдела гениталий, вызываемое дрожжеподобными грибами рода *Candida*. Грибы рода кандида в последнее десятилетие все чаще становятся причиной заболеваний различных органов и систем. Увеличивается также число больных кандидозом влагалища, который регистрируется и как самостоятельное заболевание, и как сопутствующее другим инфекциям, передаваемым половым путем (ИППП).

Грибы рода кандида входят в состав нормальной микрофлоры влагалища, и 10-20% женщин являются носителями кандид – при отсутствии жалоб и клинических проявлений заболевания. Однако под воздействием определенных внутренних или внешних факторов носительство может переходить в клинически выраженную форму и вызывать заболевание - кандидоз.

Среди лабораторных методов диагностики влагалищного кандидоза ведущая роль принадлежит микробиологическим методам исследования (посев на грибки рода кандида), которые включают в себя комплексную оценку результатов культуральной диагностики и микроскопии мазков вагинального отделяемого.

Микроскопическое исследование вагинального отделяемого (исследование проводят в нативных и окрашенных препаратах) - наиболее простой и доступный метод диагностики кандидоза. Микроскопию можно считать полуколичественным методом исследования, поскольку наличие возбудителя в количествах, достаточных для визуализации, уже свидетельствует о массивной колонизации или инфекции. Микроскопическое исследование позволяет определить наличие кандид, его мицелия или спор гриба, выявить наличие других микробов, определить принадлежность к другим видам бактерий или молочно-кислыми бактериями. Микроскопия неокрашенного мазка при подозрении на кандидоз имеет высокую чувствительность и является наиболее специфичным методом диагностики, имеет прямую связь с симптомами. Окраска мазков по Граму не уступает микроскопии неокрашенных препаратов. Микробиологическая диагностика кандидоза относится к самым доступным методам исследования молочницы. Она проводится по образцам белесой плёнки и налёта, который образуется на слизистых органов мочеполовой системы и ротовой полости в случае заражения кандидами. Данный лабораторный метод исследования мужчин и женщин проводится в два этапа:

- 1) микроскопия на малом увеличении для обнаружения псевдомицелий и скоплений дрожжевых грибов;
- 2) микроскопия на большом увеличении, которая позволяет выделить отдельные клетки грибов кандиды в колониях и определить их форму и местоположение. Микробиологическое исследование как лабораторный метод подходит и мужчинам, и женщинам.

Культуральное исследование в диагностике генитального кандидоза позволяет определить: родовую и видовую принадлежность грибов, их чувствительность к противогрибковым препаратам, сопутствующую бактериальную флору. Особую важность этот метод приобретает при хроническом кандидозе влагалища. Таким образом, постановка диагноза вульварного кандидоза должна базироваться в первую очередь на данных клинико-лабораторных методов исследования, среди которых приоритет отдается микробиологическим.

Серологическая реакция является ещё одним популярным методом диагностики молочницы у мужчин и женщин. В ходе нескольких лабораторных исследований, которые включают в себя реакции РА, РСК, РП и РПГА, наличие кандидоза пробуют выявить по оценке титра роста соответствующих антител. При росте титра в более чем 4 раза реакция считается положительной, что свидетельствует о заболевании.

Помимо перечисленных методов исследования для обнаружения кандидоза используются такие лабораторные методы определения заболевания как ПЦР и ИФА. Первый позволяет определить скрытую хроническую форму заболевания, а второй - применяется для оценки эффективности лечения мужчин и женщин.

Взятие материала из влагалища для исследования. После введения зеркала и подъемника во влагалище материал собирают стерильным ватным тампоном с заднего свода или с патологически измененных участков.

Взятие материала из цервикального канала.

- Обнажают шейку матки с помощью зеркал и влагалищную ее часть тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным физраствором или стерильной водой.
- Тонкий стерильный ватный тампон осторожно вводят в цервикальный канал, не касаясь стенок влагалища, и берут материал.

Для бактериологического исследования можно использовать соскоб слизистой, полученный при диагностическом выскабливании стенок цервикального канала

2.27 Лабораторная работа № 27 (2 часа)

Тема: «Лабораторная диагностика микоплазменной и уреаплазменной, хламидийной инфекции».

2.27.1 Цель работы: познакомить студентов с этапами исследования клинического материала на микоплазменную и уреаплазменную, хламидийную инфекции.

2.27.2 Задачи работы:

1. Разобрать этапы исследования клинического материала на данные инфекции.
2. Изучить морфологию и культуральные свойства возбудителей.

2.27.3 Перечень приборов, материалов, используемых в лабораторной работе:

1. Табличный материал.
2. Видеоматериал.

2.27.4 Описание работы

Представители семейства Chlamydiaceae (хламидии) являются патогенными облигатными внутриклеточными бактериями, паразитирующими в чувствительных клетках теплокровных (млекопитающих, птиц, человека и др.). Они близки по структуре и химическому составу к классическим бактериям. Для них характерно сохранение

морфологической сущности на протяжении всего жизненного цикла, деление вегетативных форм, наличие клеточной стенки, содержание ДНК и РНК, энзиматическая активность, чувствительность к антибиотикам широкого спектра, наличие общего родоспецифического антигена. В то же время хламидии по размерам меньше классических бактерий, имеют небольшой геном, являются облигатными внутриклеточными паразитами с уникальным циклом развития. Они не способны синтезировать высокоэнергетические соединения и обеспечивать собственные энергетические потребности (*энергозависимые паразиты*), что и определяет их облигатный паразитизм. С учетом своих особенностей хламидии занимают самостоятельное (особое) положение среди других микроорганизмов - прокариот. Для человека имеют значение преимущественно представители двух родов – *Chlamydia* и *Chlamydophila*. Наибольшее значение имеют три вида. *Chlamydia trachomatis*, различные серотипы которого вызывают *трахому*, *венерическую лимфогранулему* и наиболее распространенные *урогенитальные хламидиозы*. *Chlamydia psittaci* вызывает *орнитоз* *изоонозные хламидиозы*. *Chlamydia pneumoniae* вызывает антропонозные пневмонии, ОРЗ, с этим возбудителем связывают развитие некоторых форм бронхиальной астмы, атеросклероза.

Лабораторная диагностика. Золотой стандарт - метод культивирования в культурах клеток применяется очень редко в связи с трудоемкостью и длительностью культивирования, необходимостью работы с инфекционным материалом, этот метод по чувствительности уступает ПЦР, требует быстрой доставки материала для исследования. Применяемые лабораторные методы можно разделить на две основные группы - методы выявления антител и методы выявления антигенов.

Методы выявления антител наиболее эффективны при генерализованных формах хламидиозов, сопровождающихся выработкой антител в высоких титрах (орнитоз), и мало эффективны при локальных (особенно хронических) формах (урогенитальные хламидиозы). Большинство методов выявляет антитела к группоспецифическому липополисахариду хламидий, что не позволяет определить вид хламидий. Среди используемых методов:

- РСК- достаточно специфичный, но мало чувствительный метод;
- РНГА- более эффективный метод для диагностики текущего инфекционного заболевания;
- ИФА- наиболее чувствительный метод серологической диагностики. Некоторые варианты тест - систем ИФА позволяют дифференцировать *C.pneumoniae* от хламидий других видов;
- РНИФ- обладает наибольшей степенью видоспецифичности.

Методы выявления возбудителя, его ДНК и антигенов.

1. Цитологические методы окраской мазков по Романовскому - Гимзе и другими методами мало чувствительны и специфичны, имеют преимущественно историческое значение.

2. Метод флюоресцирующих антител (МФА) с моноклональными антителами (МКА) к группоспецифическому липополисахариду хламидий - наиболее распространенный, чувствительный и специфичный метод, позволяет выявлять локализацию возбудителя (урогенитальные мазки), морфологию (характер гранул, преобладание РТ или ЭТ). Метод требует высокой квалификации микроскописта и качества мазка - отпечатка (достаточное количество клеток с учетом внутриклеточного расположения возбудителя).

3. ИФА для выявления антигена применяется относительно реже, требует большого количества материала (соскоб), связан с получением суспензии и опасностью инфицирования персонала.

4. ПЦР для выявления ДНК хламидий- наиболее чувствительный метод. Однако и при нем возможны ложноположительные (при недостаточной чистоте работы - при

контаминации) и ложноотрицательные (наличие в пробах материала ингибиторов Tag-полимеразы) результаты.

Недостатки чувствительных методов выявления антигенов возбудителя - возможность получения положительных результатов даже через 1 - 1,5 месяца после излечения. Нужна полная замена эпителия слизистой, содержащего поверхностные антигены разрушенных хламидий, для получения отрицательных результатов. Особенно это относится к ИФА, ПЦР, для МФА - в меньшей степени (этот метод позволяет оценить морфологию включений хламидий).

Род *Mycoplasma* и род *Ureaplasma*. Микоплазмы - самые мелкие прокариотические микроорганизмы, не имеющие клеточной стенки (это придает им сходство с L- формами бактерий) и способные к паразитированию на мембранах эукариотических клеток. Способность персистировать на мембранах клеток связана с наличием сходства структуры и состава цитоплазматической мембраны микоплазм с мембранами клеток эукариот и использованием микоплазмами их компонентов (прежде всего холестерина и фосфолипидов) для построения собственных структур. Микоплазмы имеют трехслойную цитоплазматическую мембрану, обеспечивающую целостность микробных клеток и частично замещающую в функциональном отношении отсутствующую клеточную стенку. Современная систематика относит представителей семейства *Mycoplasmataceae* к классу *Mollicutes* (молликут - "мягкокожих"), объединяющему микоплазмы, уреаплазмы, ахолеплазмы (первые три рода молликут встречаются у человека, среди них встречаются патогенные и сапрофитические виды), спироплазмы и анаэроплазмы. Основные характеристики молликут - отсутствие истинной клеточной стенки, мелкая кокковидная форма, паразитизм на мембранах эукариотических клеток, рост на плотных средах в виде мелких врастающих в агар колоний с приподнятым центром ("яичница - глазунья"), абсолютная резистентность к пенициллинам и другим действующим на синтез клеточной стенки антибиотикам. Характеризуются малым размером генома, низким содержанием Г+Ц в ДНК. Имеют от 104 до 113 нуклеотидов в 5S рРНК. Представители рода микоплазм-паразиты и возбудители заболеваний (микоплазмозов) широкого круга млекопитающих, птиц, человека. Представители некоторых видов встречаются на растениях и в насекомых. Известно около 100 видов микоплазм, число новых видов продолжает увеличиваться. 12 видов встречаются у человека, из них наибольшее значение имеют *M. pneumoniae* (вызывает в основном пневмонию и ОРЗ), *M. hominis*, *M. genitalum*, *M. fermentans* (при вызываемых ими инфекциях преобладают урогенитальные поражения). В составе рода *Ureaplasma* выделено пять видов. Штаммы, выделенные от людей, составляют вид *U. urealyticum*, от КРС - *U. diversum*, от птиц - *U. gallorale*, от кошек - *U. cati* и *U. felinum*.

Лабораторная диагностика. Наиболее оптимальна культуральная (бактериологическая) диагностика с использованием жидких и плотных питательных сред, особенно в сочетании с антибиотикограммой и определением титра микоплазм (уреаплазм) в нативных образцах. Преимущества этого подхода: быстрота (для уреаплазм 1-2 суток, для микоплазм - до 3 суток), простота (цветной пробирочный тест), достоверность (селективность сред, учет биохимизма возбудителей), возможность определения концентрации (титр 10000 цветообразующих единиц - ЦОЭ имеет диагностическое значение) и чувствительности к различным препаратам на основе антибиотикограммы (повышает эффективность лечения), возможность достоверного контроля эффективности лечения (растут только жизнеспособные микоплазмы).

Наиболее чувствительна ПЦР - диагностика. Однако: возможны ложно - положительные и ложно - отрицательные результаты, длительность выявления положительных результатов контроля излеченности, невозможность определения титра микоплазм (не разработаны количественные методики) и чувствительности к препаратам.

Люминесцентная диагностика дает неудовлетворительные результаты чаще, чем при выявлении хламидий. Это связано с малыми линейными размерами возбудителей, серологической гетерогенностью и антигенной изменчивостью, возможностью

перекрестных реакций между различными видами, наличием диагностических препаратов только для выявления уреоплазм и *M.hominis*.

Серологические методы многочисленны, однако коммерческие препараты отсутствуют, существуют проблемы в интерпретации результатов.

Материал	при	инфекциях	урогенитального	тракта
<u>Исследование</u>	<u>отделяемого</u>	<u>женских</u>	<u>половых</u>	<u>органов</u>

Материал из уретры. Собирают не ранее, чем через 1 ч после мочеиспускания.

Отделяемое из уретры собирают стерильным ватным тампоном. Если отделяемое получить не удастся, наружное отверстие уретры обмывают мылом и ополаскивают кипяченой водой, вводят в уретру тонкий стерильный «уретральный» тампон на глубину 2-4 см, аккуратно вращают его в течение 2 сек., вынимают, помещают в соответствующую транспортную среду и доставляют в лабораторию.

Материал из вульвы, преддверия влагалища. Берут стерильным ватным тампоном.

При воспалении бартолиниевых желез производят их пункцию.

Материал из влагалища. После введения зеркала и подъемника во влагалище материал собирают стерильным ватным тампоном с заднего свода или с патологически измененных участков.

Цервикальный канал. Обнажают шейку матки с помощью зеркал и влагалищную ее часть тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным физраствором или стерильной водой. Тонкий стерильный ватный тампон осторожно вводят в цервикальный канал, не касаясь стенок влагалища, и берут материал.

Для бактериологического исследования можно использовать соскоб слизистой, полученный при диагностическом выскабливании стенок цервикального канала.

Матка. Правильное взятие материала из матки может быть выполнено только при использовании специальных инструментов типа шприца-аспиратора., имеющего на зонде покрытие. После прохождения зондом цервикального канала в полость матки раскрывают наружную оболочку зонда и набирают в шприц содержимое матки.

Материал из шприца помещают в стерильную пробирку.