

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Челябинский государственный университет»

РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ
по дисциплине «Клиническая микробиология»

Студент _____

Группа _____

Одобрено учебно-методическим советом биологического факультета ФГБОУ ВО «ЧелГУ».

Рабочая тетрадь предназначена для бакалавров 4-го курса; необходима для подготовки к лабораторным и практическим занятиям по дисциплине «Клиническая микробиология»; содержит справочный материал по диагностике оппортунистических инфекций, раздел заданий для выполнения студентами.

Составители:

А. Л. Бурмистрова, д-р мед. наук, проф. кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии;
Л. И. Бахарева, канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии;
Н. Э. Хайдаршина, канд. биол. наук, доц. кафедры микробиологии, иммунологии и общей биологии.

Рецензент:

Е. Н. Кандалова, врач высшей категории баклаборатории МБУЗ ГКБ № 6 г. Челябинска.

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	4
Лабораторное занятие 1. Количественные и условно-количественные методы посева клинического материала.....	5
Лабораторное занятие 2. Методы выделения и идентификации кандид.....	10
Лабораторное занятие 3. Методы выделения и идентификации стафилококков.....	13
Лабораторное занятие 4. Методы выделения и идентификации стрептококков, энтерококков	16
Лабораторное занятие 5. Методы выделения и идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий	19
Лабораторное занятие 6. Микробиологическая диагностика дисбактериоза кишечника	22
Лабораторное занятие 7. Микробиологическая диагностика инфекций мочевыводящих путей	26
Лабораторное занятие 8. Микробиологическая диагностика вагиноза и неспецифического вагинита	29
Лабораторное занятие 9. Микробиологическая диагностика инфекций ВДП и глаз	34
Лабораторное занятие 10. Микробиологическая диагностика инфекций нижних дыхательных путей	38
Лабораторное занятие 11. Микробиологическая диагностика раневой инфекции	42
Лабораторное занятие 12. Микробиологическая диагностика сепсиса	46
Лабораторное занятие 13. Микробиологическая диагностика нозокомиальных инфекций	49
Лабораторное занятие 14. Микробиологическая диагностика инфекций новорождённых	53
Лабораторное занятие 15. Определение антибиотикочувствительности УПБ диско-диффузионным методом	55
Лабораторное занятие 16. Детекция БЛРС у энтеробактерий и МБЛ у НГОБ	59
Лабораторное занятие 17. Детекция устойчивости к β -лактамам, макролидам и линкозамидам у грамположительных кокков	63
Лабораторное занятие 18. Микробиологическая диагностика СПИД-ассоциированных инфекций	66
Список рекомендуемой литературы	69

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АБ	антибиотик	МПС	мочеполовая система
АБР	антибиотикорезистентность	МРС	метициллинрезистентные стафилококки
АБЧ	антибиотикочувствительность	МХА	Мюллер — Хинтон агар
АГ	антиген	НГОБ	неферментирующие грамотрицательные бактерии
АМГ	аминогликозиды	НДП	нижние дыхательные пути
АТ	антитело	НОАБ	неспорообразующие облигатно-анаэробные бактерии
Б-н	бульон	НИ	нозокомиальные инфекции
Баклаборатория	бактериологическая лаборатория	НФ	нормальная микрофлора
БАЛ	бронхоальвеолярный лаваж	ОАБ	облигатно-анаэробные бактерии
Блаур.	среда Блаурокка	ОМЧ	общее микробное число
БЛРС	β -лактамазы расширенного спектра	П	промежуточная чувствительность к антибиотикам
ВДП	верхние дыхательные пути	ПВ	папилломавирус
ВИЧ	вирус иммунодефицита человека	ПЕН	пенициллин
ВПГ	вирус простого герпеса	ПСБ	пенициллин связывающий белок
ВПЧ	вирус папилломы человека	ПТИ	пищевые токсикоинфекции
ВСА	висмут-сульфит агар	ПЦР	полимеразная цепная реакция
ВУИ	внутриутробные инфекции	Р-р	раствор
ВЭБ	вирус Эпштейна — Барр	РА	реакция агглютинации
ГВ	герпесвирус	РИФ	реакция иммунофлюоресценции
ГП	гликопептиды	РНИФ	реакция непрямой иммунофлюоресценции
гр-	грамтрицательный	РПГА	реакция пассивной гемагглютинации
гр+	грамположительный	СПИД	синдром приобретённого иммунодефицита
ДДМ	дискодиффузионный метод	Ср.	среда
ЖКА	желточно-кровяной агар	ТЕТ	тетрациклины
ЖСА	желточно-солевой агар	Тиогл. ср.	тиогликолевая среда
ЖСС	железосульфитная среда	У	устойчивость к антибиотикам
ЖЭС	желчно-эскулиновая среда	УГТ	урогенитальный тракт
ЗЗР	зона задержки роста	УПБ	условно-патогенные бактерии
ЗППП	заболевания, передающиеся половым путём	УПМ	условно-патогенный микроорганизм
ИВЛ	искусственная вентиляция лёгких	Физраствор	физиологический раствор
ИНГ	ингибитор	ФХ	фторхинолоны
ИФА	иммуноферментный анализ	Ч	чувствительность к антибиотикам
КА	кровяной агар	ч/з	через
Калиб. петля	калиброванная петля	ЦМВ	цитомегаловирус
КАРБ	карбапенемы	ЦС	цефалоспорины
КК	«ключевые» клетки	ША	шоколадный агар
ЛИН	линкозамиды	ЭБ	энтеробактерии
ЛЮМ	люминесцентная микроскопия	ЭДТА	этилендиаминтетрауксусная кислота
МАК	макролиды	↑	высокий
МБЛ	металло- β -лактамаза	↓	низкий
МВП	мочевыводящие пути	МРС	метициллинрезистентность стафилококков
МОН	монобактамы		
МПА	мясопептонный агар		
МПБ	мясопептонный бульон		

Лабораторное занятие 1

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ И УСЛОВНО-КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ МЕТОДЫ ПОСЕВА КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

1. Цель. Ознакомиться с методами посева клинического материала для выделения УПМ.

2. Задачи:

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- правила взятия материала для бактериологического исследования;
- выбор питательных сред для посева клинического материала;
- критерии оценки этиологической значимости УПМ;
- количественные методики посева клинического материала;
- условно-количественный метод посева клинического материала.

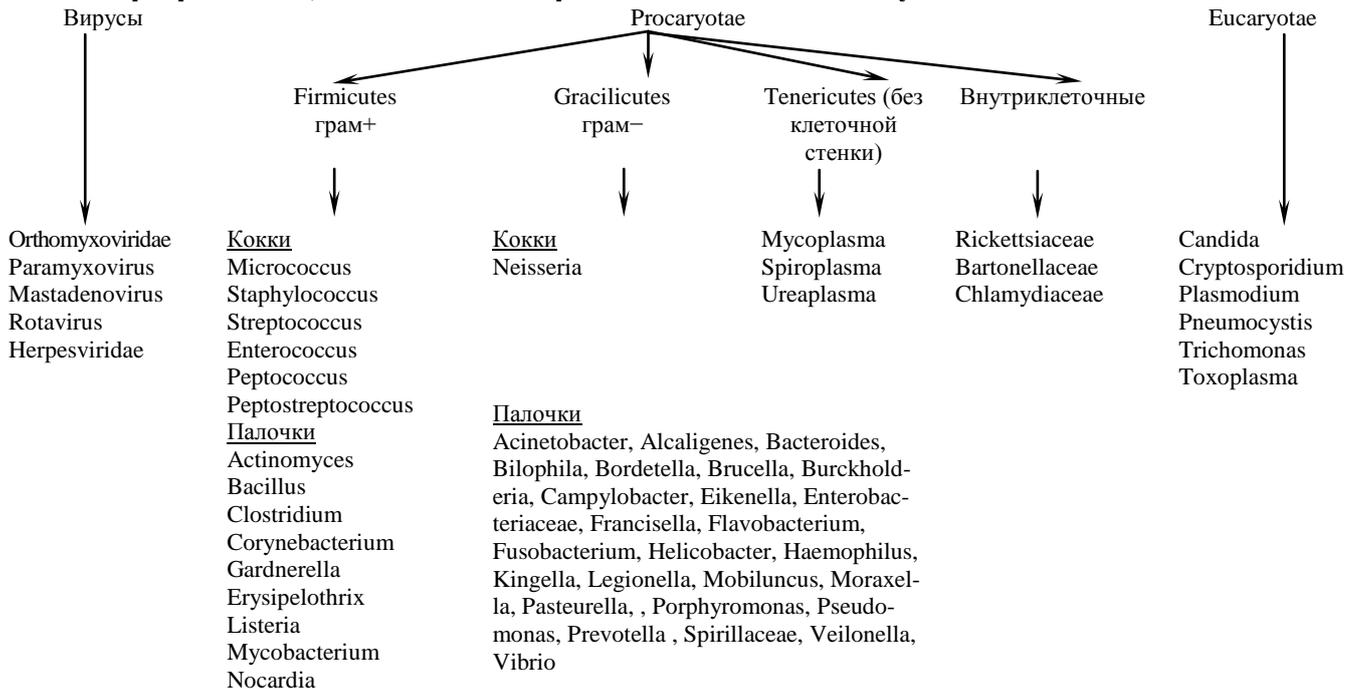
2.2. Освоить методики посева клинического материала.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Патогенность микроорганизмов, условия проявления у оппортунистов.
- 3.2. Характеристика УПМ. Отличительные признаки истинных патогенов и оппортунистов.
- 3.3. Виды взаимодействия «макроорганизм — микроорганизм». Отличие колонизации от инфекции.
- 3.4. Условия возникновения оппортунистических инфекций.
- 3.5. Понятие, предмет изучения и задачи клинической микробиологии.
- 3.6. Классификация заболеваний в клинической микробиологии. Методы бакдиагностики.
- 3.7. Критерии этиологической значимости УПМ.
- 3.8. Методы индикации микробов в исследуемом материале.
- 3.9. Методы посева материала в клинической микробиологии, их характеристика и значение.

4. Справочный материал.

4.1. Микроорганизмы, вызывающие инфекционные заболевания у человека.



4.2. Значение УПМ в развитии инфекций различных органов и систем.

Материал	Высокий уровень приоритетности	Средний уровень приоритетности	Низкий уровень приоритетности
Ликвор	N. meningitidis, S. pneumoniae, H. influenzae, гр- палочки, M. tuberculosis, C. neoformans	S. agalactiae	L. monocytogenes, E. coli, др. энтеробактерии, Salmonella spp., Citrobacter spp., S. agalactiae
Кровь	Salmonella spp., гр- палочки, N. meningitidis, Streptococcus spp., S. aureus	H. influenzae, Bacteroides spp., P. aeruginosa	C. albicans, C. neoformans, Brucella spp., P. pseudomallei, другие НГОБ
Инфекции ВДП	S. pyogenes, C. diphtheriae, S. pneumoniae, H. influenzae	C. albicans (ротоглотка), S. aureus (уши, синусы), M. catarrhalis (уши, синусы)	Гр- палочки, Pseudomonas spp. (уши), N. meningitidis (назофарингальное носительство)
Отделяемое глаз	S. aureus, S. epidermidis, E. coli, K. pneumonia	Proteus spp., P. aeruginosa, Moraxella lacumta, C. diphtheriae, N. gonorrhoeae	M. catarrhalis, Streptococcus, Haemophilus, Candida, Aspergillus spp., хламидии

Материал	Высокий уровень приоритетности	Средний уровень приоритетности	Низкий уровень приоритетности
Инфекции НДП	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>M. tuberculosis</i>	Enterobacteriaceae, <i>C. albicans</i> , <i>M. catarrhalis</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>L. pneumophila</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>Chlamydia</i> spp.
Моча	<i>E. coli</i> , др. гр- палочки, <i>Enterococcus</i> spp., <i>S. saprophyticus</i>	<i>Pseudomonas</i> spp., др. НГОБ, <i>Staphylococcus</i> spp.	<i>C. albicans</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Половые органы	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>T. pallidum</i>	<i>H. ducreyi</i> , <i>G. vaginalis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>T. vaginalis</i> , <i>Mycoplasma</i> spp.	<i>C. trachomatis</i>
Испражнения	<i>S. typhi</i> , <i>S. paratyphi</i> , <i>Shigella</i> spp., <i>V. cholerae</i> , нехолерный вибрион, <i>Aeromonas</i> , <i>Plesiomonas</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp., <i>Y. enterocolitica</i> , <i>C. difficile</i>	<i>E. coli</i> (EPEC, EIEC, EPEC, EHEC)
Инфициро- ванные раны	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i>	Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> spp. и др. неспорообразующие анаэробы, <i>Streptococcus</i> spp.	<i>B. anthracis</i> , <i>M. tuberculosis</i> , <i>P. multocida</i>

4.3. Правила взятия материала для бактериологического исследования:

- основные рекомендации в МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» (2006);
- забор материала производить в стерильную, плотно закрывающуюся посуду;
- забор достаточного количества материала (недостаточное количество приводит к ложноотрицательному результату), четко определять очаг поражения;
- желателен забор материала в острую фазу до применения антибиотиков;
- избегать во время забора материала контаминации нормальной эндогенной микрофлорой и доставлять его с соблюдением правил асептики;
- доставлять материал в лабораторию в минимальные сроки (до 2 ч);
- если транспортировка в указанные сроки невозможна, пользоваться специальными транспортными средами и соблюдать особые условия хранения, зависящие от биологических особенностей предполагаемого возбудителя;
- в документации четко указывать фамилию, инициалы больного, возраст, диагноз, источник и характер собранного материала, день болезни, дату и час взятия материала, применение антибиотиков (до, на фоне, после проведенной терапии);
- сопроводительная документация должна быть упакована в отдельный пакет и иметь тот же номер, что и ёмкость с собранным материалом.

4.4. Методы лабораторной диагностики в клинической микробиологии.

- Индикация возможного возбудителя в исследуемом материале:
 - окраска анилиновыми красителями;
 - обработка специфическими сыворотками, мечеными флюорохромами;
 - поиск антигена в ИФА;
 - использование Со-агглютинации;
 - определение ДНК (РНК) в ПЦР;
 - определение продуктов жизнедеятельности возбудителя хроматографическим методом.
- Культуральный метод (количественный посев на питательные среды).
- Серологические методики для обнаружения специфических антител (РА, РПГА, ИФА, РИФ и др.).
- Аллергические пробы.

4.5. Характеристика основных методов окраски анилиновыми красителями.

Цель окраски	Способ окраски	Ингредиенты и этапы	Результат
Выявление грампринад- лежности	По Граму	1 — зафиксировать мазок; 2 — нанести р-р генцианвиолета, выдержать 2 мин, слить; 3 — нанести р-р Люголя, выдержать 1 мин, слить; 4 — добавить этиловый спирт, выдержать 20–30 с; 5 — хорошо промыть под струёй воды; 6 — нанести р-р фуксина, выдержать 2 мин; 7 — хорошо промыть под струёй воды; высушить	Грамположительные клетки окрашиваются в фиолетовый цвет, грамотрица- тельные — в крас- ный
Обнаруже- ние кислото- и спирто- устойчивых бактерий	По Цилю — Нильсену	1 — карбофуксин Циля налить на фильтровальную бумагу поверх мазка, нагреть на горелке до отхождения паров, остудить; 2 — снять бумагу, мазок промыть водой; 3 — полностью обесцветить 5 %-й HCl, промыть водой; 4 — докрасить метиленовым синим 30–60 с, промыть водой	Кислотоустойчивые окрашиваются в розовый, остальные — в синий цвет
	По Kinyoun (холодный способ)	1 — фуксин Kinyoun (основной фуксин — 4 г, 95 %-й этанол — 20 мл, дистил. вода — 100 мл, фенол кристаллический — 8 г) — 5 мин; 2 — обесцветить смесью кислоты и спирта — 3 мин;	

Цель окраски	Способ окраски	Ингредиенты и этапы	Результат
		3 — повторно обесцветить; 4 — докрасить метиленовым синим 1–4 мин. После каждого этапа препарат промывать водой	
	Аурамин-родамином	1 — 1 %-й спиртовой р-р аурамина О — 15 мин; 2 — обесцветить смесью кислоты и спирта; 3 — докрасить 0,5 %-м перманганатом калия 2–3 мин. После каждого этапа препарат промыть водой	Кислотоустойчивые окрашиваются в оранжево-жёлтый цвет
Выявление капсул	По Бури	1 — в центр стекла внести каплю туши, перемешать петлёй с каплей культуры; 2 — сделать мазок ребром покровного стекла, высушить	На чёрном фоне — неокрашенные бактерии, капсулы в виде кружков
	По Гинсу ¹	1 — фиксировать окрашенный тушью по Бури мазок; 2 — красить карболовым фуксином 5–10 мин, промыть водой	Бактерии красные, фон чёрный, капсулы неокрашенные
Выявление спор	По Ожешко ²	1 — на нефиксированный мазок налить 0,5 %-ю HCl, подогреть 1–2 мин; 2 — слить кислоту, промыть водой, зафиксировать препарат; 3 — окрасить по Цилю — Нильсену	Тела бактерий синего цвета, споры — красного
Выявление зернистости у <i>Corynebacterium spp.</i>	По Леффлеру	Щелочная метиленовая синь Леффлера: дистил. вода — 99 мл, 1 %-й р-р KOH — 1 мл, спиртовой р-р метиленовой сини (3 г на 30 мл спирта) — 30 мл. Окрашивать 1–2 мин	Гранулы валютина сине-фиолетовые, протоплазма яркосиния
Окраска жгутиков	По Леффлеру	1 — за 1–2 суток до употребления приготовить протраву (1 мл насыщенного спиртового р-ра основного фуксина + 10 мл 20 %-го водного р-ра танина + 5,5 мл водного р-ра соли Мора), профильтровать; 2 — препарат на покровном стекле зафиксировать, поместить на часовое стекло; 3 — налить протраву и 30–50 с подогреть до отхождения паров; 4 — промыть водой, красить фуксином Циля 2–3 мин при нагревании; 5 — тщательно промыть препарат и высушить	Жгутики окрашиваются в розовый цвет
	По Грею ³	1 — за сутки до употребления смешать р-р 1 (насыщенный водный р-р калиевых квасцов $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 5 мл + 20 %-й водный р-р танина 2 мл + насыщенный водный р-р двухлористой ртути 2 мл) и р-р 2 (насыщенный спиртовой р-р основного фуксина 0,4 мл), составляющие протраву; 2 — налить протраву на препарат на 8–10 мин; 3 — промыть водой и окрасить 5 мин карболовым фуксином Циля; 4 — вновь промыть водой, высушить	
Окраска ядерных элементов	По Романовскому — Гимзе	Препарат погрузить в ёмкость с краской Романовского — Гимзы (смесь азур-эозина с метиленовым синим) на 10–20 мин	

¹ Другие способы окраски: по Ольту, по Антонию, по Гиссу, по Мак-Нилу, по Лоусону.

² Другие способы окраски: по Шефферу — Фултону, по Биттеру, по Пешкову, по Дорнеру, по Витц — Конклину.

³ Другие способы окраски: по Морозову, по Лейфсону, по Шенку.

4.6. Критерии этиологической значимости УПБ.

- Обнаружение бактерий в концентрации около 10^5 КОЕ/мл при посеве материала из очага поражения.
- Двух-, трёхкратное выделение однотипного микроорганизма из одного и того же очага.
- Высев однотипного микроорганизма из очагов, объединённых общим патогенезом.
- Наличие специфических иммунологических сдвигов.
- Санация в процессе специфической терапии.
- Наличие соответствующей клинической картины.

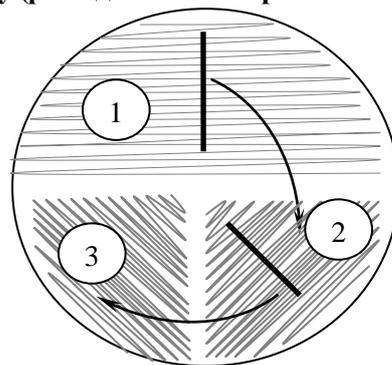
4.7. Выбор питательных сред в зависимости от клинического материала.

Материал для микробиологического исследования	Среды
Раневое отделяемое (гранул. ткани)	КА, Эндо, тиогл. ср.
Кровь	Сахарный б-н, тиогл. ср., Сабуро
Мазок из зева, носа	КА, Эндо, Сабуро
Мокрота	КА, ША, Сабуро
Моча	КА, Сабуро

4.8. Схема посева и учёта колоний количественным методом по Lindsey (разведённого материала 1:10).

КОЕ в 1 мл материала	Число колоний в секторе		
	1	2	3
10^3	1–10	–	–
10^4	10–100	–	–
10^5	100–1 000	–	–
10^6	>1 000	1–10	–
$10^{6,5}$	>1 000	10–100	–
10^7	>1 000	>100	1–10
$10^{7,5}$	>1 000	>100	10–100

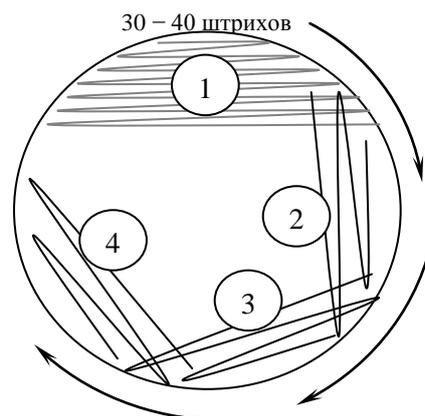
Диаметр петли 6 мм, посевная доза 0,01 мл.



4.9. Схема посева и учёта колоний количественным методом по Goldy (неразведённого материала).

КОЕ в 1 мл материала	Число колоний в секторе			
	1	2	3	4
1–6	–	–	–	1 000
8–20	–	–	–	3 000
20–30	–	–	–	5 000
30–60	–	–	–	10 000
70–80	–	–	–	50 000
100–150	5–0	–	–	100 000
Не сосчитать	20–30	–	–	500 000
Не сосчитать	40–60	–	–	$1 \cdot 10^6$
Не сосчитать	100–140	10–20	–	$5 \cdot 10^6$
Не сосчитать	Не сосчит.	30–40	–	10^7
Не сосчитать	Не сосчит.	60–80	Ед. колонии	10^8

Диаметр петли 3 мм, посевная доза 0,005 мл.

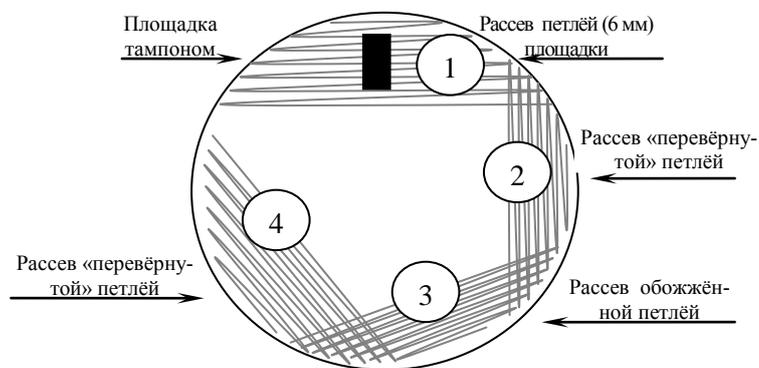


Посев обожжённой петлёй 2 мм (по 4 штриха в каждом секторе)

4.10. Схема посева условно-количественным методом «тампон-петля».

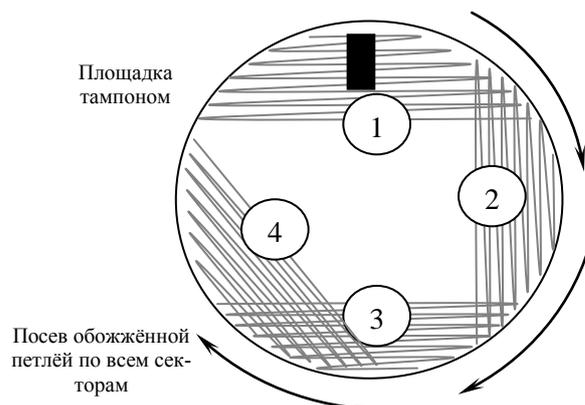
Вариант 1

Рост в 1-м секторе	10^4 КОЕ
Рост во 2-м секторе	10^5 КОЕ
Рост в 3-м секторе	10^6 КОЕ
Рост в 4-м секторе	10^7 КОЕ



Вариант 2

1-й сектор	Рост слабый	10^3
1-й сектор	Много колоний	10^4-10^5
2-й сектор	Единичные колонии	
1, 2-й сектор	Много колоний	10^6
3-й сектор	Подсчитываемое	
1, 2, 3-й сектор	Много колоний	10^7-10^8
4-й сектор	Подсчитываемое	

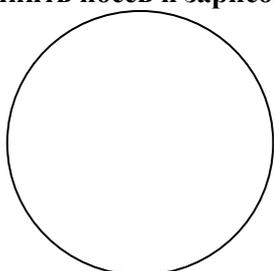


4.11. Критерии интерпретации АБЧ для некоторых групп УПМ.

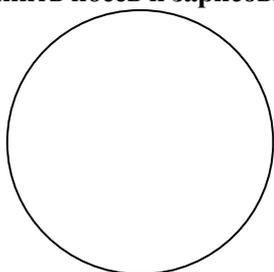
Вид или группа УПМ	АБ и интервалы ЗЗР для интерпретации					
Enterobacteriaceae	Ампициллин Ч ≥ 14 Р < 14	Цефотаксим Ч ≥ 17 Р < 17	Цефтазидим Ч ≥ 22 Р < 19	Амоксилав Ч ≥ 19 Р < 19	Левифлоксацин Ч ≥ 22 Р < 19	Амикацин Ч ≥ 16 Р < 13
Pseudomonas spp.	Цефтазидим Ч ≥ 16 Р < 16	Цефепим Ч ≥ 19 Р < 19	Имипенем Ч ≥ 20 Р < 17	Меропенем Ч ≥ 24 Р < 18	Левифлоксацин Ч ≥ 20 Р < 17	Амикацин Ч ≥ 18 Р < 15
Acinetobacter spp.	Цефепим Ч > 18 Р < 15	Имипенем Ч ≥ 23 Р < 17	Меропенем Ч ≥ 21 Р < 15	Левифлоксацин Ч ≥ 21 Р < 18		
S. aureus	Цефокситин Ч ≥ 22 Р < 22	Норфлоксацин Ч ≥ 17	Амикацин Ч ≥ 18 Р < 16	Эритромицин Ч ≥ 21 Р < 18	Клиндамицин Ч ≥ 22 Р < 19	
Enterococcus spp.	Ампициллин Ч ≥ 10 Р < 8	Нофлоксацин Ч ≥ 12 Р < 12	Ванкомицин Ч ≥ 12 Р < 12	Линезолид Ч > 19 Р > 19		
S. pyogenes	Бензилпенициллин Ч ≥ 18 Р < 18	Эритромицин Ч ≥ 21 Р < 18	Клиндамицин Ч ≥ 17 Р < 17			
Candida spp.	Амфотерицин В Ч > 10 Р < 10	Нистатин Ч > 10 Р < 10	Имидазолы Ч > 20 > 10			

5. Задание для практической работы.

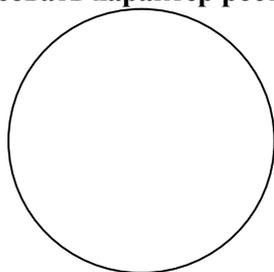
5.1. Выполнить посев и зарисовать схему посева мочи по методу Goldy.



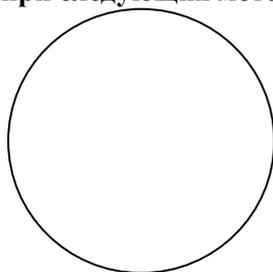
5.2. Выполнить посев и зарисовать схему посева раневого отделяемого по методу «тампон–петля».



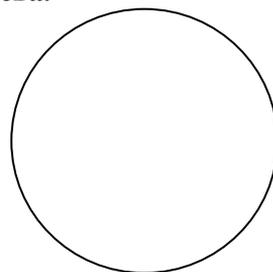
5.3. Зарисовать характер роста УПБ при следующих методах посева.



Посев по Lindsey



Посев по Goldy



Посев «тампон–петля»

5.4. Оценить и записать этиологическую значимость УПБ на демонстрационных чашках.

№	Чашка с посевом	Кол-во колоний в 1-м секторе	2-й сектор	3-й сектор	4-й сектор	Количество бактерий в клиническом материале
1	Посев по Lindsey					
2	Посев по Goldy					
3	Посев «тампон–петля»					

Лабораторное занятие 2 МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ КАНДИД

1. Цель. Ознакомиться с методикой лабораторной диагностики кандидозов.

2. Задачи:

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- роль кандид в патологии человека;
- материал для исследования; питательные среды для выделения кандид;
- определение ауксанограммы, зимограммы;
- тест на антимикотикочувствительность диско-диффузионным методом;
- тест на антимикотикочувствительность методом ТПК с помощью тест-системы Fungitest.

2.2. Освоить методы выделения, идентификации, определения антимикотикочувствительности.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Роль грибов рода *Candida* в патологии человека.
- 3.2. Клинический материал, питательные среды и методы посева при подозрении на кандидоз.
- 3.3. Идентификация кандид по морфологии: образование ростовых трубок, хламидоспор.
- 3.4. Идентификация грибов рода *Candida* по биохимической активности.

4. Справочный материал.

4.1. Классификация кандидозов

- Поверхностные кандидозы: орофарингеальный, вульвовагинальный, кожный, хронический кожно-слизистый, онихомикоз.
- Инвазивные кандидозы:
 - локальные: эзофагит, желудочно-кишечный; цистит, грибковый шар, локальная почечная инфекция; перитонит;
 - гематогенные диссеминированные кандидозы: кандидемия; хронический диссеминированный кандидоз (гепато-спленический кандидоз); гнойный тромбофлебит; эндофтальм; остеомиелит; эндокардит; миокардит; артрит; менингит; абсцесс мозга; пневмония (редко).

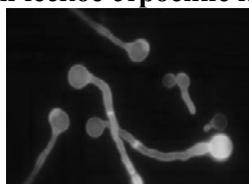
4.2. Основные возбудители кандидоза.

Вид	Экологическая ниша				Путь заражения		Формы кандидоза	
	Ротовая полость	Кишечник	Влагалище	Кожа	Эндогенный	Экзогенный	поверхностный	глубокий
<i>C. albicans</i> Комменсал слизистых	20–70 %	+	10–30 % здоровых	Временное носительство	Главный	Особенно госпитальные инфекции	90 %	50–70 %
<i>C. tropicalis</i> Комменсал слизистых	6–7 %	2–3 %	≈5 %	Транзиторно	Основной	Единичный	Редко	10–20 %
<i>C. parapsilosis</i> Комменсал кожи	≈2 %	≈5–6 %	1–2 %	30–50 %	Возможен	Основной	Онихомикоз	7–60 % гематогенный
<i>C. glabrata</i> Комменсал слизистых	3–9 %	3–9 %	10–30 %	Временное носительство	Главный	Особенно госпитальные инфекции	Вагинальный	9 % кандидемий у онкобольных, 11–14 % у прочих
<i>C. krusei</i> Комменсал слизистых	2–3 %	3–10 %	3–5 %	?	Главный	?	Вагинальный, оральный, ВИЧ-ассоциир	2–4 % кандидемий
<i>C. guilliermondii</i> Комменсал слизистых	0,5 %	0,5 %	0,5 %	Часто	Главный	Особенно госпитальные инфекции	Накожный, онихомикоз	Редко
<i>C. lusitaniae</i>	Встречается редко				Основной	Возможен	?	Единичный
<i>C. kefyr</i> Комменсал кожи, слизистых	1 %	0,1 %	0,5 % (чаще при бесплодии)	На коже и ногтях	Основной	?	Оральный, вагинальный, онихомикоз	5 % кандидемий

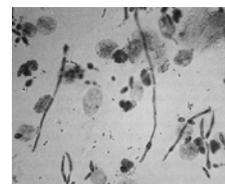
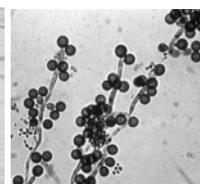
4.3. Микроскопическое строение клеток *C. albicans*.



Ростовые трубки



Хламидоспоры



Псевдомицелий

4.4. Ферментативная активность *Candida*, имеющих значение в патологии человека.

Вид	Глюкоза	Галактоза	Сахароза	Мальтоза	Лактоза
<i>C. albicans</i>	+	В	-(+)	+	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	В	+	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-
<i>C. kefyр</i>	+	+	+	-	В
<i>C. parapsilosis</i>	+	В	-С	-С	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	В	+	-	-
<i>C. utilis</i>	+	-	+	-	-
<i>C. catenulata</i>	В	-	-	-	-

4.5. Ассимиляционная способность грибов рода *Candida*.

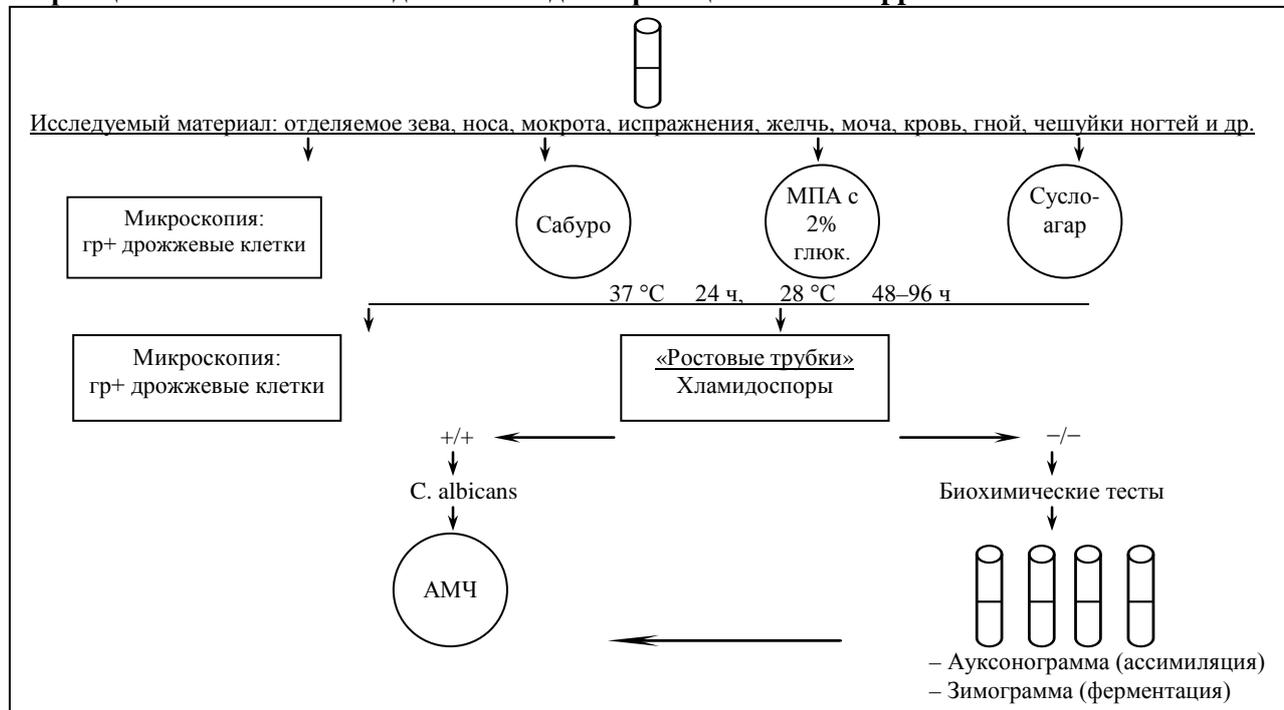
Вид	Глюкоза	Мальтоза	Сахароза	Галактоза	Лактоза	Раффиноза	Инозитол	Целлобиоза	Трегалоза	Мелицитоза	Ксилоза	Арабиноза
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	±	В	±	В
<i>C. tropicalis</i>	+	+	±	+	-	-	-	В	+	+	+	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	±	±	±	+
<i>C. glabrata</i>	+	-	-	-	-(+)	-	-	-	+	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	+	-	±	-	+	+	±	±	+
<i>C. lusitanae</i>	+	+	+	±	-(+)	-	-	+	+	+	±	В
<i>C. kefyр</i>	+	-	+	+	±	+	-	В	-(+)	-	В	В

«+», «-» — наличие и отсутствие признака; «±» — реакция положительная у 95 % штаммов; «-(+)» — реакция отрицательная у 95 % штаммов; «В» — активность варьирует; «-С» — слабая ферментативная активность у некоторых штаммов.

4.6. Интерпретация чувствительности грибов к антифунгальным препаратам

Антифунгальный препарат	Диаметр ЗЗР и интерпретация результата		
	Чувствительный	Промежуточный	Резистентный
Амфотерицин В	>10		<10
Нистатин	>10		<10
Имидазолы (эконазол, клотримазол, миконазол, кетоконазол)	>20	20–10	<10

4.7. Принципиальная схема выделения и идентификации *Candida* spp.



4.8. Опосредованные методы лабораторной диагностики диссеминированных кандидозов

- Серологическая диагностика: реакция преципитации; методы иммунодиффузии (радиальная диффузия в агаре по Манчини); встречный иммуноэлектрофорез; реакция латекс-агглютинации, непрямой гемагглютинации; иммуноферментные и радиоиммунные методы.
- Молекулярные методы диагностики: газожидкостная хроматография; полимеразная цепная реакция.

5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть демонстрационные мазки под микроскопом. Зарисовать элементы дрожжевых грибов в препаратах.



Псевдомицелий

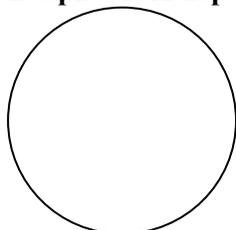


Хламидоспоры

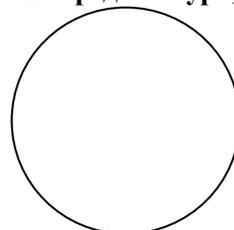


Ростовые трубки

5.2. Просмотреть и зарисовать характер роста разных видов Candida на среде Сабуро, хромагар.



C. albicans, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*
(среда Сабуро)



C. albicans, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*
(хромагар)

5.3. Определить ассимиляционные свойства с помощью тест-системы Auxacolor и идентифицировать изучаемую культуру.

C. Neg	Glu. Mal. Sac.	Gal. Lac. Raf.	Ino. Cel. Tre.	Ado. Mel. Xyl.	Ara. Hex. Pox/Pro
○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

5.4. Определить зимограмму кандид на среде с углеводами и предположить вид кандид.

Глюкоза	Галактоза	Мальтоза	Сахароза	Лактоза

Вид _____

5.5. Просмотреть и записать результаты теста на определение антимикотикочувствительности исследуемой культуры Candida spp. диско-диффузионным методом.

№ штам-ма	Вид микроорга-низма	Диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска и интерпретация (Ч / У / Р)					
		Амфотерицин В	Нистатин	Клотримазол	Кетоканазол		

5.6. Просмотреть и записать результаты теста на определение антимикотикочувствительности методом ТПК с помощью тест-системы Fungitest.

	K+ K+	5 FC	AB	MCZ	KET	ITR	ITR	K- K-
		Флуороци-тозин	Амфотерицин В	Миконазол	Кетоконазол	Итраконазол	Флуконазол	
	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○	○ ○
Интерпретация антимикотико-чувствительности								

Лабораторное занятие 3 МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ СТАФИЛОКОККОВ

1. Цель. Ознакомиться с методикой выделения и идентификации стафилококков.

2. Задачи:

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- характеристика стафилококков;
- заболевания, вызываемые стафилококками;
- исследуемый материал для выделения стафилококков;
- питательные среды для выделения стафилококков;
- схема выделения и идентификации стафилококков;
- фаготипирование стафилококков.

2.2. Освоить методы выделения и идентификации стафилококков.

3. Контрольные вопросы:

3.1. Экология стафилококков. Эпидемиология инфекционных процессов, вызванных стафилококками.

3.2. Роль стафилококковых токсинов в возникновении различных клинических проявлений.

3.3. Морфологические и культуральные особенности стафилококков.

4. справочный материал.

4.1. Наиболее важные признаки видов и подвидов рода *Staphylococcus*.

Признак	<i>S. aureus</i>	<i>S. intermedius</i>	<i>S. hyicus</i> s.s. <i>hyicus</i>	<i>S. hyicus</i> s.s. <i>chromogenes</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. capitis</i>	<i>S. warneri</i>	<i>S. hominis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. simulans</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. xylosum</i>	<i>S. cohnii</i>	<i>S. sciuri</i> s.s. <i>sciuri</i>	<i>S. sciuri</i> s.s. <i>lentus</i>
Каталаза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Коагулаза	+	+	+B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ДНК-аза	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+B	+B
Сбраживание маннита	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Гиалуронидаза	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Пигмент	+	-	-	+	-	-	+B	+B	-	-	-	+B	-	-	-
Гемолизин	+	+	+B	-	-	-	-	-	+B	-	-	-	-	-	-
Ацетоин	+	-	-	-	+	B	+	+B	+B	-	+B	-	+B	-	-
Нитратредуктаза	+	+	+	+	+B	B	-	+B	+	+	+	+	-	+	+
Фосфатаза	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+B	-	+B	-
Устойчивость к новобиоцину	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
Окисление:															
галактозы	+	+	+	+	+	-	-	+B	+B	-	-	+B	-	+	+B
маннозы	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+B	-	+	+B	-	+B
ксилозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+B	-
рибозы	+	H	+	+	-	-	+B	-	-	+B	-	-	-	+	+B
мальтозы	+	-	-	-	+	-	+B	+	+	-	+	+	+B	-	+B
лактозы	+	+	+	+	+B	-	-	+B	+B	+	+	+B	+B	-	+B
сахарозы	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
трегалозы	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+B	+	+	+	+	+
целлобиозы	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
маннита	+	+	-	-	-	+	+B	-	+B	+B	+	+	+B	+	+

«+», «-» — наличие и отсутствие признака у > 80 % штаммов; «+B» — признак варьирует (+ у 21–79 % штаммов); «H» — нет данных.

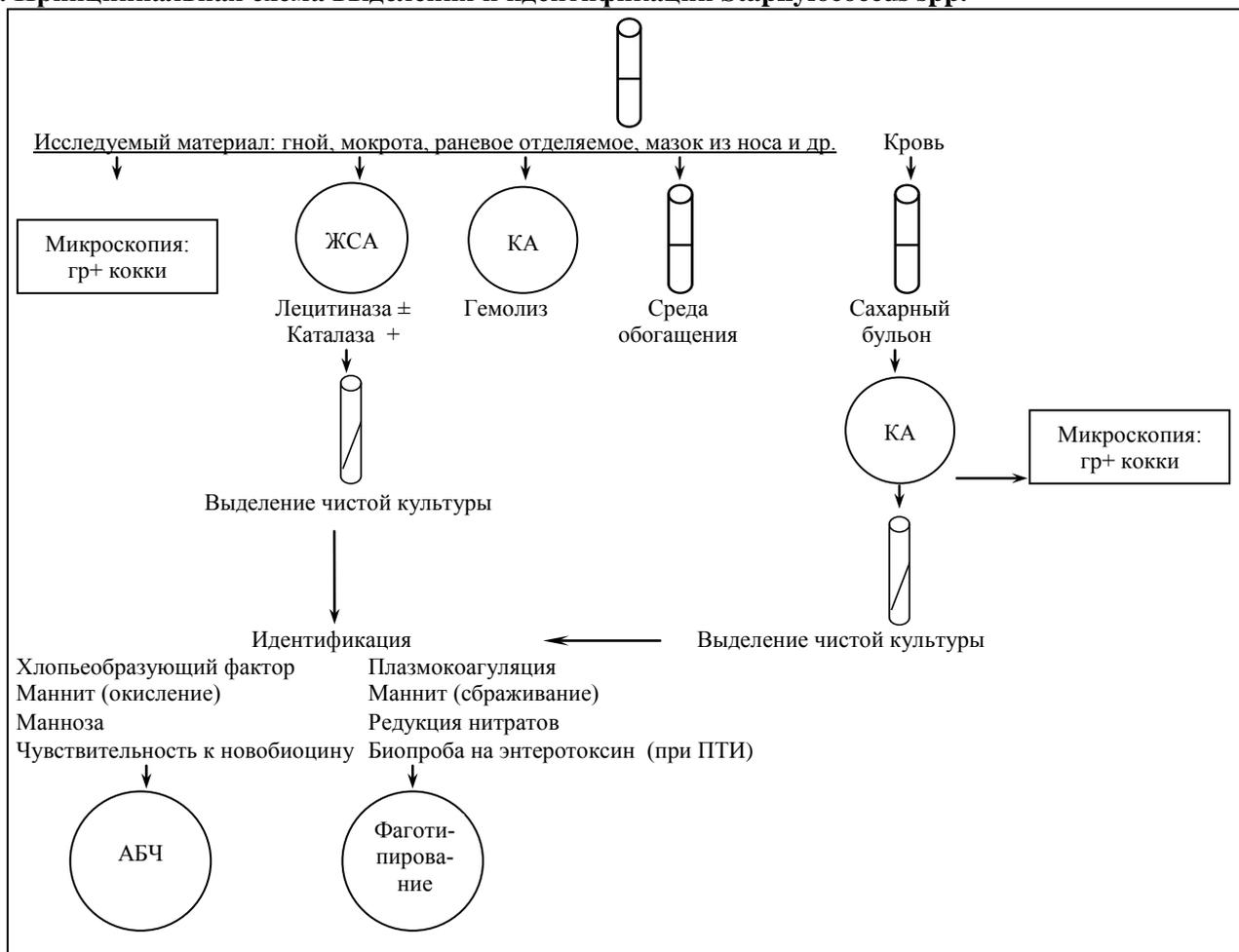
4.2. Дифференциальные признаки стафилококков, имеющих медицинское значение.

Признак	<i>S. aureus</i>		<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
	анаэроб.	аэроб.		
Наличие каратиноидного пигмента	-	+	-	±
Рост в аэробных условиях	-	+	+	+
анаэробных условиях	+	+	+	+
Продукция коагулазы	+	+	-	-
Фактор слипания	-	+	-	-
Рост на средах с 10 %-й NaCl	+	+	W	+
Рост при 15/40 °C	/-	+/+	-W / +	+ / ±
ДНК-аза	+	+	-W	-
Гемолиз	+	+	-W	-

Признак	S. aureus		S. epidermidis	S. saprophyticus
	анаэроб.	аэроб.		
Кислота в аэроб. условиях: маннит	–	+	–	±
манноза	–	+	(+)	–
Сбраживание маннита	–	+	–	–
Восстановление нитратов	–	+	+W	–
Устойчивость к новобиоцину	–	–	–	+

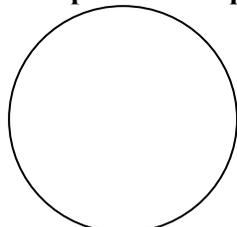
«+», «–» — наличие, отсутствие признака у >80 % штаммов; «(+)» — реакция с задержкой; «±» — 11–88 % положительных реакций; «W» — слабая реакция.

4.3. Принципиальная схема выделения и идентификации *Staphylococcus spp.*

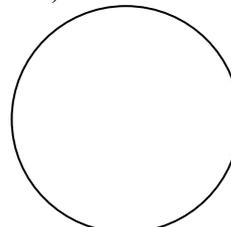


5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть и зарисовать характер роста стафилококков на КА, ЖСА.



КА



ЖСА

5.2. Приготовить мазки из культуры стафилококка, окрасить по Граму; зарисовать.



5.3. Выполнить тест на каталазу; зарисовать.



5.4. Зарисовать результаты тестов на ферментацию маннита, плазмокоагуляцию, лизис специфическим фагом.



5.5. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов, записать результат.

№ штам-ма	Вид микроорга-низма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм), интерпретация (Ч / У / Р)					

Лабораторное занятие 4

МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ СТРЕПТОКОККОВ, ЭНТЕРОКОККОВ

1. **Цель.** Ознакомиться с методикой выделения и идентификации стрептококков, энтерококков.

2. **Задачи:**

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- стрептококки человека;
- классификация и свойства стрептококков;
- исследуемый материал для выделения стрептококков, энтерококков;
- питательные среды для выделения стрептококков, энтерококков;
- принципиальная схема выделения и идентификации стрептококков и энтерококков.

2.2. Освоить методы выделения и идентификации стрептококков, энтерококков.

3. **Контрольные вопросы:**

- 3.1. Классификация стрептококков.
- 3.2. Морфология и культуральные признаки стрептококков.
- 3.3. Патогенные стрептококки: характеристика, представители, дифференциальные признаки.
- 3.4. Стрептококки ротовой полости: основные представители, морфологические признаки.
- 3.5. Энтерококки: признаки рода, видовое типирование.

4. **Справочный материал.**

4.1. **Дифференциальные признаки стрептококков, имеющих медицинское значение.**

Признак	Пиогенные стрептококки					Стрептококки ротовой полости							
	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. agalactiae</i>	<i>S. dysgalactiae</i>	<i>S. equi</i>	<i>S. canis</i>	<i>S. mitis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>S. oralis</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. salivarius</i>	<i>S. sanguis</i>	<i>S. bovis</i>	<i>S. equinus</i>
Каталаза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Характер гемолиза	β	β(d)	α	β	β	(α)		α	α	α	α	α	+BW
pH 9,6												+	–
Лизис желчью	–	+B	–	–	–	+B	+B	+	+	+B	+B	–	–
Рост на 6,5 %-й NaCl	–	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
S к 0,25 % оптохина	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	–
Группа по Лансфилд	A	B	C	C	G	нет	нет	нет	нет	нет	нет	D	D

Анаэробные стрептококки: *S. hansenii*, *S. morbillorum*, *S. parvulus*, *S. pleomorphus*

4.2. **Устройство для создания микроаэрофильных условий:**



ГазПак



Эксикатор

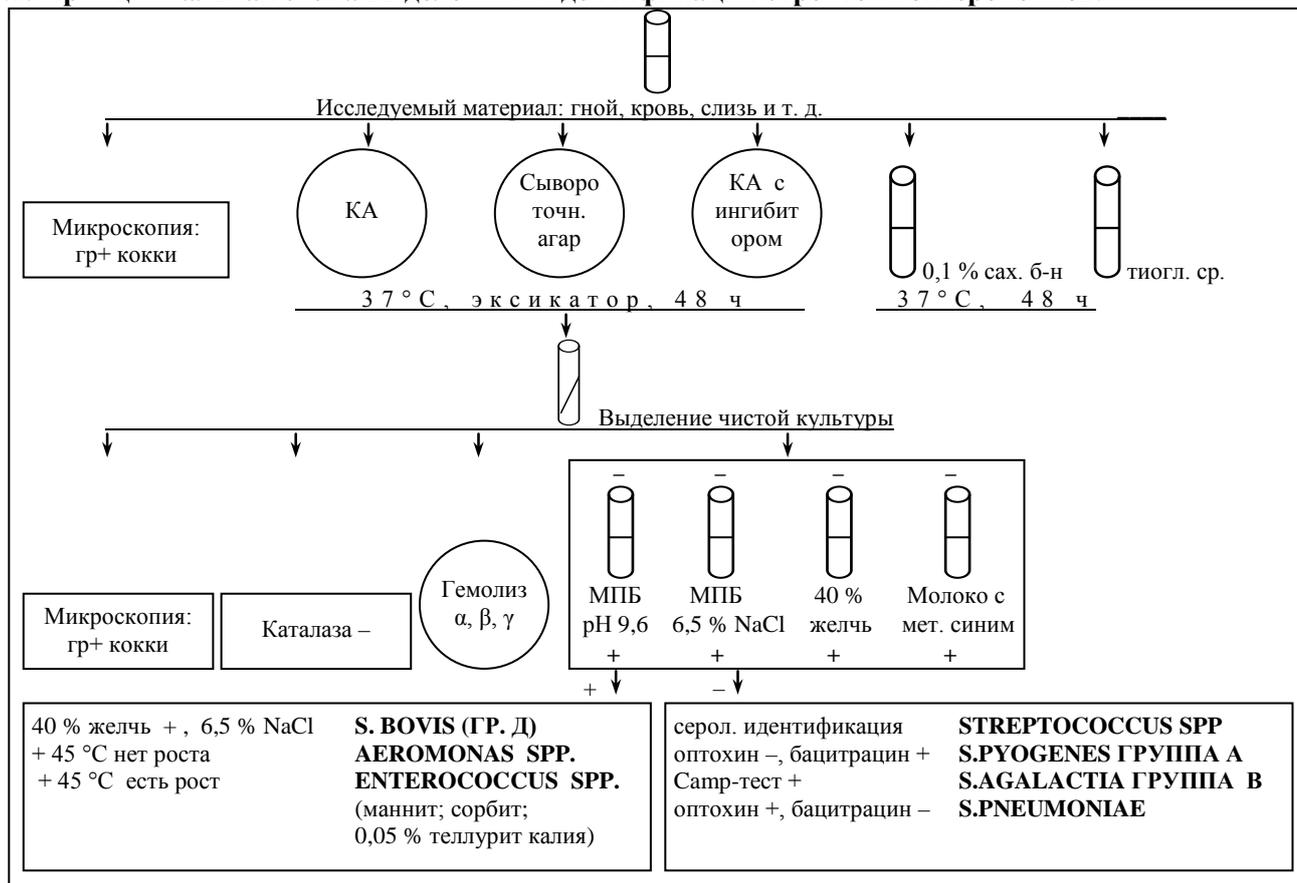
4.3. **Родовые признаки Enterococcus spp. (критерии Шермена).**

Признак	Результат теста
Рост при 45 °C	+
Рост при pH 9,6	+
Рост в среде с 40 %-й желчью	+
Рост в среде с 6,5 %-й NaCl	+
Рост в молоке с 0,1 %-м метиленового синего	+

4.4. **Внутриродовая дифференцировка энтерококков.**

Признак	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. avium</i>
Рост в 0,1 %-м молоке с мет. синью	+	–	+	±	–	±
Рост при 0,04 %-м теллурита калия	+	–	–	–	–	–
Рост при 45 °C	+	+	+	+	–	+
Подвижность	–	–	–	+	–	–
Маннит	+	+	–	+	–	+
Сахароза	+	+	–	+	+	+
Сорбит	+	–	–	–	–	+
Раффиноза	–	–	–	+	+	–
Группа Лансфилд	D	D	D	D	не D	Q (D)

4.5. Принципиальная схема выделения и идентификации стрепто- и энтерококков.



5. Практическая работа.

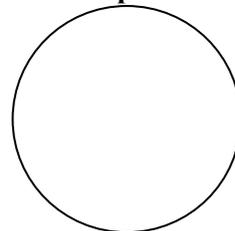
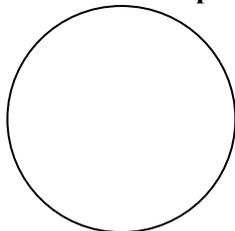
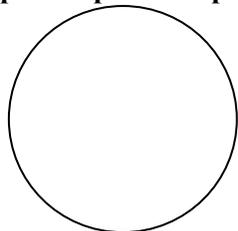
5.1. Приготовить мазки стрептококков, окрасить по Граму; просмотреть; зарисовать.



5.2. Выполнить тест на каталазу; зарисовать.

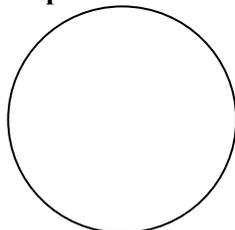


5.3. Просмотреть и зарисовать типы гемолиза стрептококков (макро- и микроскопический вид).



α-гемолиз (*S. pneumoniae*); β-гемолиз (*S. pyogenes*); γ-гемолиз (негемолитический энтерококк)

5.4. Зарисовать и записать чувствительность *S. pyogenes* и *S. pneumoniae* к бацитрацину и оптохину.

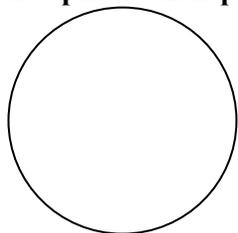


S. pyogenes (бацитрацин __, оптохин __); *S. pneumoniae* (бацитрацин __, оптохин __)

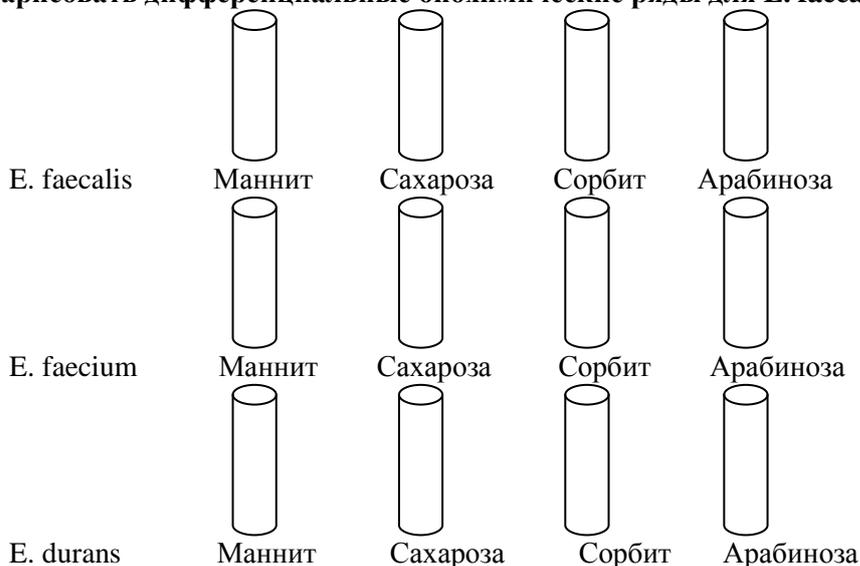
5.5. Зарисовать тест Шермена для дифференциации видов *Enterococcus*.



5.6. Просмотреть и зарисовать характер роста *E. faecalis* и *E. durans* на среде ЖЭС.



5.7. Зарисовать дифференциальные биохимические ряды для *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*.



Лабораторное занятие 5
МЕТОДЫ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ
НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

1. Цель. Ознакомиться с методами выделения и идентификации НГОБ.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:
 – питательные среды для выделения НГОБ;
 – схема выделения и идентификации НГОБ.
- 2.2. Освоить методы выделения и идентификации НГОБ.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Общая характеристика НГОБ. Основные роды, имеющие медицинское значение.
 3.2. Биохимические свойства и методы их выявления.
 3.3. Свойства бактерий рода *Pseudomonas*.
 3.4. Свойства бактерий рода *Acinetobacter*.
 3.5. Экология и эпидемиология НГОБ.
 3.6. Критерии этиологической значимости НГОБ, выделенных из различного клинического материала.
 3.7. Культуральные, биохимические свойства и АБЧ клинически значимых видов НГОБ.

4. Справочный материал.

4.1. Критерии этиологической значимости:

- В выделенных ассоциациях ведущее значение отводится видам, количественно преобладающим.
- Уровень обсеменённости в ране $\geq 10^5$ КОЕ/г является критическим (нагноение развивается даже в жизнеспособных тканях и возрастает риск генерализации инфекционного процесса).
- $< 10^5$ КОЕ/г при наличии в ране некротизированных тканей, гематом, инородных тел.
- Подозрение на анаэробную инфекцию: расхождения между результатами бактериоскопического (обнаружение микроорганизмов) и бактериологического (отсутствие роста) исследования; наличие нарастающего отёка тканей (подозрение на клостридиальную инфекцию).

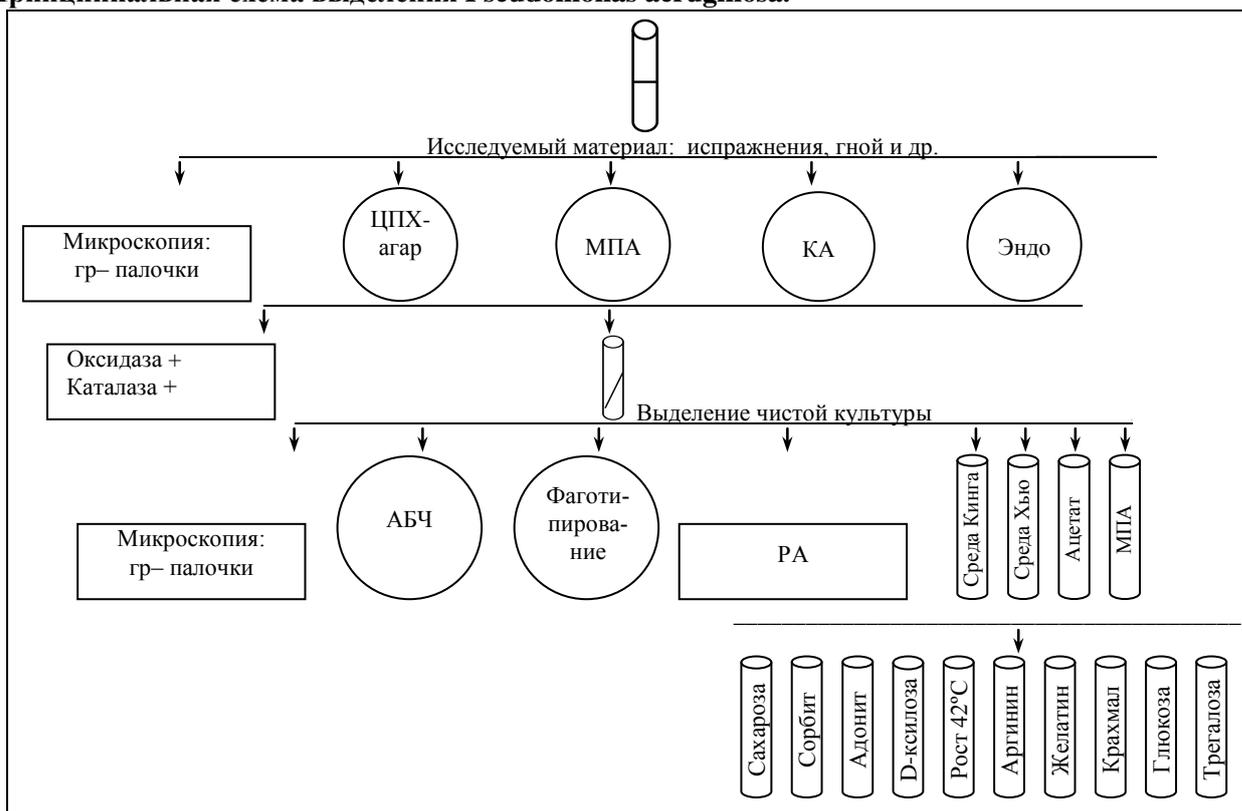
4.2. Грамотрицательные неферментирующие бактерии, вызывающие заболевания человека.

Поражения	Микроорганизм	Материал для исследования
Кожные поражения, абсцессы	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>X. maltophilia</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Ожоговые	<i>P. aeruginosa</i>	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Кератиты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты ткани роговицы
Конъюнктивиты	<i>Moraxella</i> spp.	Биоптаты ткани конъюнктивы
Отиты	<i>P. aeruginosa</i>	Мазки-отпечатки отделяемого
Менингиты	<i>P. aeruginosa</i> , <i>F. meningosepticum</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>X. maltophilia</i>	Ликвор
Бактериемия	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>X. maltophilia</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> spp.	Кровь
Эндокардиты	<i>P. aeruginosa</i> , <i>X. maltophilia</i>	Кровь, биоптаты клапанов, протезы
Энтериты	<i>P. aeruginosa</i>	Фекалии, биоптаты слизистой кишечника
Пневмонии	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. cepacia</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Мокрота, промывные воды из бронхов и трахеи, биоптаты лёгких, кровь, плевральная жидкость (при плевритах)
Инфекции МВП	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Моча
Остеомиелиты, артриты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты костной ткани из очагов поражения и суставная жидкость

4.3. Биохимические свойства бактерий рода *Pseudomonas*.

Тест	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>P. pickettii</i>		<i>P. mendocina</i>	<i>P. stutzeri</i>
						1-й биовар	2-й биовар		
Оксидаза	+	+	+	+	+(86%)	+	+	+	+
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гемолиз	-/+	+/-	-/+	-	-/+	+	-	+	-
ОФ-тест	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Рост при 42 °С	+	-	-	-	+/-	+	+	+	+(70%)
Рост при 5 °С	-	+	*	*	*	*	*	-	*
Цитр. Симмонса	+	+	+	+(60%)	+	+	+	+	+
Кинг А (пиоц.)	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Кинг В (флюор.)	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Лизин	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Мочевина	-/+	-	-	-	+(60%)	+	+	+(50%)	-

4.4. Принципиальная схема выделения *Pseudomonas aeruginosa*.



4.5. Культуральные и биохимические свойства бактерий рода *Acinetobacter*.

Вид	<i>A. baumannii</i>	<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. lwoffii</i>
Гемолиз	-	-	+ (β-гем.)	-	-	-
Подвижность	-	-	-	-	-	-
Рост при: 44/37 °С	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/+
OF-тест	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-
Глюкоза	+	+	+	-	-	-
Цитрат Симмонса	+	+	+ (71 %)	+	+ (82 %)	±
Мочевина	±	+ (25 %)	-	-	-	-
Утилизация: цитрата	+	+	±	+	±	±
DL-лактата	+	+	-	+	+	+
L-фенилаланина	+ (98 %)	+	-	-	-	-
малоната	+ (98 %)	+	-	+/-	-	-
ацетата	+ (90 %)	+	-	-	-	+
L-аспартата	+	+	+ (64 %)	+ (60 %)	±	-
В-аланина	+ (95 %)	+	-	-	-	-
L-аргинина	+ (98 %)	+	+ (96 %)	± (35 %)	+	-

4.6. Свойства некоторых неферментирующих бактерий.

Вид	Оксидаза	Подвижность	Гемолиз	OF-тест	Рост 42 °С	Цитрат	Кинг А	Кинг В	Нитрат	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Аргинин	Лизин	Мальтоза	Маннитол	Мочевина	Эскулин	Орнитин
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	◇	+/-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	◇	-	-
<i>P. fluorescens</i>	+	+	±	+/-	-	+	-	+	-	+	-	◇	+	-	-	+	-	-	-
<i>P. putida</i>	+	+	◇	+/-	-	+	-	+	+	+	◇	-	+	-	◇	◇	-	-	-
<i>P. mendocina</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	±	-	-
<i>B. cepacia</i>	±	+	◇	+/-	±	±	-	-	±	±	+	+	-	+	+	+	±	±	◇
<i>P. pickettii</i> : биовар 1	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>P. pickettii</i> : биовар 2	+	+	-	+/-	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. stutzeri</i>	+	+	-	+/-	±	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
<i>P. alcaligenes</i>	+	+	-	-/-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>X. maltophilia</i>	-	+	+	+/-	◇	-	-	-	-	+	±	±	-	+	+	-	-	-	-
<i>C. luteola</i>	-	+	-	+/-	+	+	-	-	±	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>F. oryzihabitans</i>	-	+	◇	+/-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-

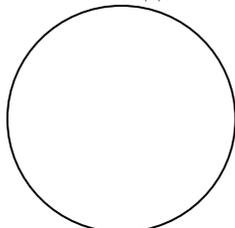
<i>F. meningosepticum</i>	+	-	+	+/-	+	-	-	-	-	+	+	-			+	+	-	+	
<i>A. faecalis</i>	+	+	◇	-/-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть демонстрационные мазки раневого отделяемого под микроскопом; зарисовать.



5.2. Выполнить посев отделяемого раны методом «тампон-петля». Зарисовать схему посева.



5.3. Зарисовать биохимические признаки отдельных видов НГОБ.

	Оксидаза	Хью	Кинг А	Кинг В	Рост 42 °С	Рост 5 °С	Лактоза
<i>P. aeruginosa</i>							
<i>P. fluorescens</i>							
<i>P. putida</i>							
<i>B. cereus</i>							

	Оксидаза	Рост 44 °С	Рост 37 °С	Подвижность
<i>A. baumannii</i>				
<i>S. maltophilia</i>				

5.4. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов НГОБ, записать результат.

№ штамма	Вид микроорганизма	Диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска и интерпретация (Ч / У / Р)					

Лабораторное занятие 6

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИСБАКТЕРИОЗА КИШЕЧНИКА

1. Цель. Ознакомиться с методикой микробиологической диагностики дисбактериоза кишечника человека.

2. Задачи:

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- нормальная микрофлора кишечника человека;
- становление нормальной микрофлоры у новорожденного;
- понятие дисбиоза и дисбактериоза;
- методы исследования кишечного дисбактериоза;
- морфологические особенности аэробной и анаэробной микрофлоры кишечника;
- микробиологические критерии оценки кишечного дисбактериоза.

2.2. Освоить методы диагностики кишечного дисбактериоза.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Понятие о нормальной микрофлоре, её значение и становление у новорожденного.
- 3.2. Характеристика микрофлоры желудочно-кишечного тракта.
- 3.3. Требования к проведению исследований на кишечный дисбактериоз.
- 3.4. Этапы исследования кишечного дисбактериоза. Интерпретация результатов.

4. Справочный материал.

4.1. Фазы становления кишечной микрофлоры новорожденного.

Фаза	Состав микрофлоры	Начало фазы	Окончание фазы
асептическая	Желудочно-кишечный тракт стерилен	С рождения	2–16 ч
нарастающей инфекции	Размножаются случайные микроорганизмы, обитающие в воздухе, на окружающих предметах, на руках матерей, обслуживающего персонала (кокки, Proteus, УПБ)	Летом через 2–4 ч, зимой через 12–16 ч	3–4 суток
трансформации	Замещение первичной микрофлоры бифидофлорой. Высокое содержание бифидобактерий (до 90–95 %), незначительное содержание аэробов (E. coli, лактобациллы, энтерококки)	Через 3–4 дня	7–9-е сутки (у детей на естественном вскармливании)

4.2. Количественный состав микрофлоры кишечника у здоровых людей и детей.

Микроорганизмы	Количество микроорганизмов в 1 г фекалий		Частота выделения микроорганизмов у взрослых
	Взрослые	Дети до года	
Бифидобактерии	10^8-10^{10}	10^9-10^{10}	98,0±1,0
Бактероиды	10^9-10^{10}	$\leq 10^{8**}$	90,0±3,0
Лактобактерии	10^6-10^7	10^6-10^8	96,0±1,0
Молочнокислый стрептококк	10^6-10^7	10^7-10^8	
Энтерококки	10^5-10^6	10^5-10^7	80,2±2,0
Эшерихии: с нормальной ферментативной активностью	10^7-10^8	10^7-10^8	100
со сниженной ферментативной активностью	10^6-10^{7*}	10^6-10^7	
лактозонегативные	10^6-10^{7*}	10^6-10^{7*}	50,0±4,0
Микробы рода протей	$\leq 10^{4*}$	$\leq 10^{3***}$	2,0±0,5
Другие условно-патогенные энтеробактерии	$\leq 10^{5*}$	$\leq 10^{4*}$	3,0±0,5
Стафилококки (сапрофитный, эпидермальный)	$\leq 10^{4*}$	10^4-10^{6*}	15,0±3,0
Дрожжеподобные грибы	$\leq 10^{4*}$	$\leq 10^{4*}$	10,0±2,0
Спороносные анаэробные палочки (клостридии)	$\leq 10^{5*}$	–	60,0±4,0

* Могут обнаруживаться у части практически здоровых людей.

** Обнаруживаются у незначительной части детей старше 3 месяцев жизни.

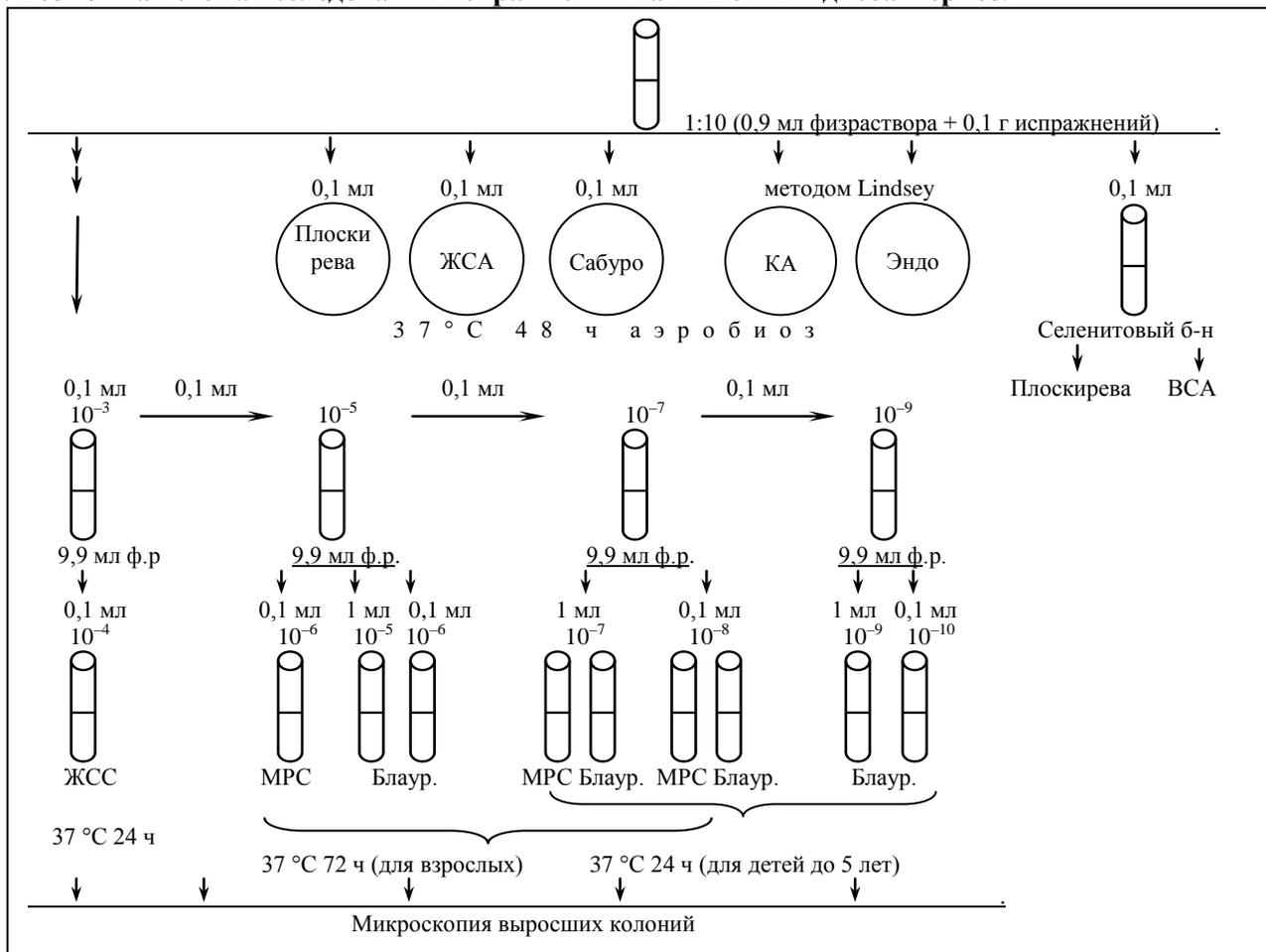
4.3. Нормальная микрофлора желудочно-кишечного тракта взрослого человека.

Микроорганизмы	Концентрация бактерий в мл или г содержимого кишечника			
	Желудок	Тощая кишка	Подвздошная кишка	Толстый кишечник
Число жизнеспособных бактерий	$10-10^3$	$10-10^4$	10^2-10^7	$10^{10}-10^{12}$
Аэробы и фак. анаэробы:				
энтеробактерии	$0-10^2$	$0-10^3$	10^2-10^7	10^4-10^1
энтерококки	$0-10^2$	$0-10^4$	10^2-10^6	10^5-10^{10}
стафилококки	$0-10^2$	$0-10^3$	10^2-10^5	10^4-10^9
лактобациллы	$0-10^3$	$0-10^4$	10^2-10^5	10^4-10^{10}
грибы (кандида)	$0-10^2$	$0-10^2$	10^2-10^4	10^4-10^6
Анаэробы:				
бактероиды	Редко	$0-10^3$	10^3-10^7	$10^{10}-10^{12}$
бифидобактерии	Редко	$0-10^4$	10^3-10^9	10^8-10^{12}
пептококки	Редко	$0-10^3$	10^2-10^6	$10^{10}-10^{12}$
клостридии	Редко	Редко	10^2-10^6	10^5-10^{11}
зубактерии	Редко	Редко	Редко	10^9-10^{12}

4.4. Показания для обследования на кишечный дисбактериоз:

- Длительно протекающие заболевания кишечника неясной этиологии.
- Переход острого инфекционного процесса в хронический.
- Кишечный синдром неустановленной этиологии на фоне: антибактериальной или радиационной терапии; онкологических заболеваний и т. д.
- Анатомические нарушения кишечника, связанные с резекцией, опухолью и т. д.
- Сахарный диабет.
- Аллергические проявления.

4.5. Возможная схема исследования испражнений на кишечный дисбактериоз.



4.6. Вариант бланка «Результаты исследования на кишечный дисбактериоз»

Дата	Анализ №	Ф.И.О.	Анализ первичный, повторный	
Облигатная флора			Норма	У больного
1.	Бифидобактерии		10 ⁸ -10 ¹¹	
2.	Лактобактерии		10 ⁸ -10 ¹⁰	
3.	Кишечная палочка (с типичными свойствами)		10 ⁵ -10 ⁹	
4.	Бактероиды		10 ⁹ -10 ¹¹	
5.	Стрептококки		10 ³ -10 ⁵	
Факультативная флора				
Из общего количества E. coli:				
	лактозонегативная		до 10 %	
	гемолитическая		до 10 %	
	Протей		до 10 ³	
	Клебсиелла		до 10 ³	
	Стафилококк патогенный		до 10 ³	
	Синегнойная палочка		до 10 ³	
	Дрожжеподобные грибы		до 10 ³	
	Плесневые грибы		0	
	Патогенные энтеробактерии		0	
	Клостридии		до 10 ³	

Дата выдачи ответа _____

Врач _____

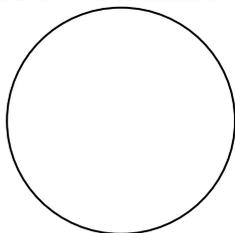
4.7. Степень изменений аутомикрофлоры при дисбактериозе кишечника.

Степень изменений	Возраст	Характер изменений
I	Младше 1 года	– Бб $\leq 10^8-10^9$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4-10^5$; – типичные <i>E. coli</i> $\leq 10^9-10^{10}$
	Старше 1 года	– Бб $\leq 10^7-10^8$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^5-10^6$; – типичные <i>E. coli</i> $\leq 10^9-10^{10}$; – увеличение концентрации нормальной, но несвойственной микрофлоры (<i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Candida</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> и др.)
	Старше 60 лет	– Бб $\leq 10^6-10^7$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4-10^5$; – типичные <i>E. coli</i> $\leq 10^9-10^{10}$ КОЕ/г; – увеличение концентрации нормальной, но несвойственной микрофлоры (<i>Enterococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Candida</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>P. aeruginosa</i> и др.)
II	Младше 1 года	– Бб $\leq 10^8$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4$; – гемолитические или лактозонегативные <i>E. coli</i> ; – или другие УПМ до 10^5-10^7 ; – или ассоциации УПМ 10^4-10^5
	Старше 1 года	– Бб $\leq 10^7$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^5$; – гемолитические или лактозонегативные <i>E. coli</i> ; – или другие нормальные представители до 10^5-10^7 ; – или ассоциации УПМ 10^4-10^5
	Старше 60 лет	– Бб $\leq 10^6$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4$; – гемолитические или лактозонегативные <i>E. coli</i> ; – или другие УПМ до 10^5-10^7 ; – или ассоциации УПМ 10^4-10^5
III	Младше 1 года	– Бб $\leq 10^8$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4$; – обнаружение ассоциаций УПМ 10^6-10^7
	Старше 1 года	– Бб $\leq 10^7$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^5$; – обнаружение ассоциаций УПМ 10^6-10^7
	Старше 60 лет	– Бб $\leq 10^6$ КОЕ/г, Лб $\leq 10^4$; – УПМ 10^6-10^7

Бб — бифидобактерии, Лб — лактобактерии.

5. Практическая работа.

5.1. Выполнить посев клинического материала методом Lindsey. Зарисовать схему посева.



5.2. Описать характер колоний на питательных средах, засеянных нативным материалом.

Среда	Количество	Наличие патогенной микрофлоры	Описание колоний с особыми свойствами
КА			
Эндо			
Плоскирева			
ВСА			
ЖСА			
Сабуро			

5.3. Просмотреть микромазки из культур лактобактерий, бифидобактерий. Зарисовать.



5.4. Интерпретировать результат микробиологического исследования испражнений.

Ф.И.О. больного	Результаты анализа	Интер-претация	Ф.И.О. больного	Результаты анализа	Интер-претация
Фомина А. К.	E. coli 10 ⁶ E. coli лактозонегативная 1 % P. vulgaris 10 ⁷ C. tropicalis 10 ⁴ C. albicans 10 ³ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии <10 ⁸		Казанцев Б. И.	E. coli 10 ³ E. coli гемолитическая 100 % E. faecium 10 ³ C. albicans 10 ³ C. guilliermondii 10 ³ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии <10 ⁵	
Селенцов Ю. М.	E. coli 10 ⁷ E. coli гемолитическая 1 % E. faecalis 10 ⁷ C. krusei 4·10 ⁴ Clostridium spp. <10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸		Суворова Т. Г.	E. coli 10 ⁶ E. coli гемолитическая 20 % E. faecalis 10 ⁷ C. diversus 10 ³ Clostridium spp. <10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸	
Абдулин Т. И.	E. coli 10 ⁷ E. coli гемолитическая 43 % K. pneumoniae 10 ⁷ S. aureus 10 ³ C. albicans 10 ² Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии <10 ⁷		Владимиров М. И.	E. coli 10 ⁶ E. coli лактозонегативная 1 % E. coli гемолитическая 100 % E. faecium 10 ⁷ C. albicans 10 ³ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸	
Николаев М. И.	E. coli 10 ⁶ E. coli лактозонегативная 1 % E. coli гемолитическая 100 % E. faecium 10 ⁷ C. albicans 10 ³ Clostridium spp. <10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸		Асадуллин Н. З.	E. coli 10 ⁷ E. coli гемолитическая 43 % K. pneumoniae 10 ⁷ S. aureus 10 ³ C. albicans 10 ² Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии <10 ⁷	
Водолеев Д. С.	E. coli 10 ⁴ E. coli гемолитическая 5 % E. faecium 10 ⁶ Clostridium spp. <10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸		Борисова Т. Г.	E. coli 10 ⁷ E. coli гемолитическая 15 % C. diversus 10 ³ Clostridium spp. <10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸	
Макланова Е. А.	E. coli 10 ⁷ A. lwoffii 10 ³ E. faecalis 10 ⁶ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии 10 ¹⁰		Иванова В. З.	E. coli 10 ⁶ E. faecium 10 ⁶ E. durans 10 ⁷ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии 10 ⁸	
Сидорович О. А.	E. coli 10 ⁶ E. coli лактозонегативная 90 % E. durans 10 ⁶ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии <10 ⁶ Бифидобактерии <10 ⁵		Моисеев Е. А.	E. coli 10 ⁷ A. lwoffii 10 ³ E. faecalis 10 ⁶ Clostridium spp. ≥10 ⁴ Лактобактерии 10 ⁶ Бифидобактерии 10 ¹⁰	

Лабораторное занятие 7

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

1. Цель. Ознакомиться с методикой лабораторной диагностики заболеваний МВП.

2. Задачи:

- 2.1. Освоить краткие сведения по теме занятия:
 - показания к взятию мочи на бактериологическое исследование;
 - исследуемый материал, правила сбора и транспортировки;
 - схема исследования, автоматизированный метод оценки общего микробного числа (ОМЧ);
 - другие методы индикации возбудителей;
 - возбудители хронического простатита;
 - микроскопическое и бактериологическое исследование мочи при хроническом простатите.
- 2.2. Освоить этапы выделения и идентификации возбудителей.
- 2.3. Рассмотреть схемы диагностики уретритов и простатитов атипичной этиологии.
- 2.4. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Нормальная микрофлора МВП. Этиология заболевания МВП.
- 3.2. Пути проникновения микроорганизмов. Роль *E. coli* в возникновении заболеваний МВП.
- 3.3. Возбудители и лабораторная диагностика простатитов, уретритов.
- 3.4. Общие требования к взятию материала и его доставке в лабораторию.
- 3.5. Выделение возбудителей: выбор питательных сред; техника посева; оценка этиологической значимости.
- 3.6. Основные этапы микробиологической диагностики инфекций МВП.

4. Справочные материалы.

4.1. Потенциальные возбудители инфекций МВП:

- Кишечная микрофлора (*E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Enterococcus* spp., анаэробы).
- Кожная флора (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Bacillus* spp., анаэробы).
- Вагинальная микрофлора (*Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* spp., анаэробы).
- Госпитальная микрофлора (*Acinetobacter*, *Pseudomonas* spp., другие НГОБ).

4.2. Госпитальные возбудители:

- *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*.
- *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Acinetobacter* spp.

4.3. Вероятный спектр возбудителей в зависимости от локализации инфекционного процесса.

Инфекция	Возбудители
Цистит, пиелонефрит	<i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>P. Aeruginosa</i>
Уретрит	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia</i> , <i>Ureaplasma</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>
Эпидидимит, орхит, простатит	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia</i> , <i>Mycoplasma</i> spp.

4.4. Этиологическая значимость микроорганизмов, выделенных из мочи.

Высокий уровень приоритетности	Средний уровень приоритетности	Низкий уровень приоритетности
<i>E. coli</i> Другие энтеробактерии <i>Enterococcus</i> spp., <i>S. saprophyticus</i>	<i>Pseudomonas</i> spp. и другие НГОБ Стафилококки других видов <i>Candida</i> spp.	<i>Candida albicans</i> <i>M. tuberculosis</i>

4.5. Оценка этиологической значимости выделенного из мочи микроорганизма:

- Степень бактериурии.
- Вид выделенного микроорганизма.
- Выделение микроорганизмов при повторном исследовании.

4.6. Оценка по степени бактериурии (рекомендации ВОЗ)

I категория: $<10^4$ КОЕ/мл. Вероятное отсутствие инфекционного процесса (исключение — моча, полученная при инвазивном способе).

II категория: 10^4 – 10^5 КОЕ/мл. При отсутствии клиники — повторить исследование. При наличии клиники и при росте не более двух культур может быть учтён как возбудитель. При сомнении — анализ повторить.

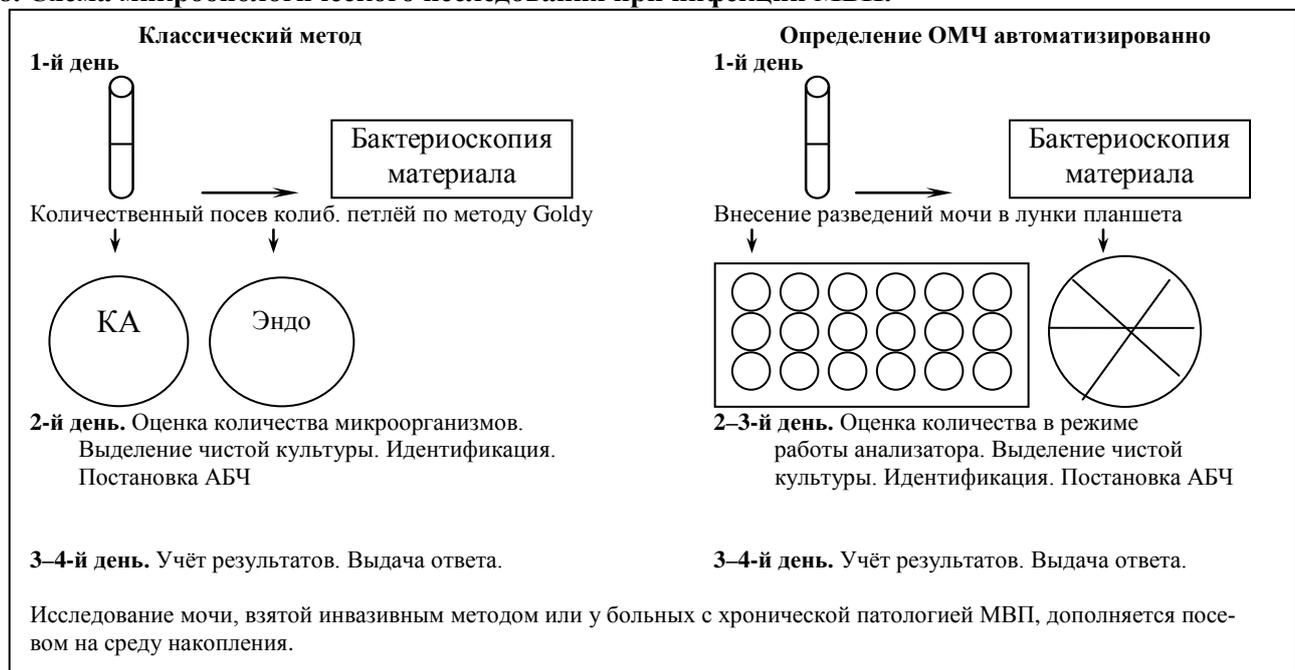
III категория: $>10^5$ КОЕ/мл. Основание для постановки диагноза даже при отсутствии клиники. Выделение 1–2 культур — признак этиологической значимости.

При выделении более двух видов микроорганизмов — подозрение на контаминацию. Анализ следует повторить.

4.7. Вариант полученного результата при определении ОМЧ автоматизированным методом.

Планшет № 1 от 09.09.2003 г.			
№	По журналу	+++	Результат анализа
1	1	+	Плохая пробоподготовка
2	2	++	$5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл
3	3	+++	$1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл
4	4	++	$5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл
5	5		Рост не выявлен
6	6	+++	Присутствует ингибитор роста?
7	7	+++	Присутствует ингибитор роста*
8	8	++	$5 \cdot 10^3$ КОЕ/мл
9	9	+	$5 \cdot 10^1$ КОЕ/мл
10	10	+	$5 \cdot 10^2$ КОЕ/мл
11	11	+++	$5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл
12	12	+++	$1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл
13	13	+++	$3 \cdot 10^7$ КОЕ/мл
14	14	+++	$1 \cdot 10^4 / 1 \cdot 10^7$ КОЕ/мл Смешанная культура?
15	15	++	Присутствует ингибитор роста?
16	R		Рост не выявлен

4.8. Схема микробиологического исследования при инфекции МВП.



4.9. Возбудители простатитов.

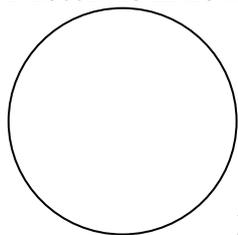
Острый, хронический бактериальный	Идиопатический простатит
<i>E. coli</i> — ведущий патоген, <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterococcus</i> spp., <i>Staphylococcus coagulase</i> (-), <i>M. genitalium</i> , <i>C. trachomatis</i> , <i>T. vaginalis</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i>

4.10. Возбудители инфекционных заболеваний простаты и уретры и методы их диагностики.

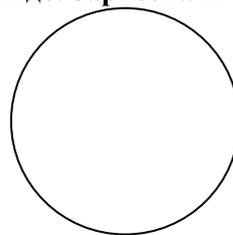
Возбудитель	Культуральный	Окраска анилиновыми красителями	ИФА	РИФ, РНИФ	ПЦР	Другие методы
УПБ	+	+				
<i>N. gonorrhoeae</i>	+	+		+	+	
<i>H. ducreyi</i>	+	+				
<i>T. pallidum</i>		+	+	+		Тѳмнопольная микроскопия
<i>T. vaginalis</i>	+	+		+	+	
<i>C. trachomatis</i>	+	+	+	+	+	
<i>U. urealyticus</i>	+		+	+	+	
<i>M. hominis</i> <i>M. genitalium</i>	+		+	+	+	
CMV, HSV I-II			+	+	+	

5. Практическая работа.

5.1. Выполнить посев мочи по методу Goldy на 5 %-й КА и среду Эндо. Зарисовать схему посева.



КА



Эндо

5.2. Оценить этиологическую значимость возбудителей на КА. Результаты занести в таблицу.

№	Чашка с посевом	Кол-во колоний в секторах				КОЕ/мл
		1-й	2-й	3-й	4-й	
1	Посев на КА по Goldy					
2	Посев на КА «гампон–петля»					
3	Посев на Эндо по Goldy					

5.3. Просмотреть и зарисовать биохимические ряды значимых возбудителей инфекций МВП.

E. coli Олькеницкий Подвижность Индол Симмонс Хью

E. faecalis МПБ 40 % желчи Молоко с синькой Солевой МПБ Маннит Сорбит

S. saprophyticus Плазма Маннит ЖСА Новобиоцин

S. epidermidis Плазма Маннит ЖСА Новобиоцин

5.4. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов, записать результат.

№ штам-ма	Вид микроор-ганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска, интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>E. coli</i>						
	<i>S. epidermidis</i>						

Лабораторное занятие 8
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВАГИНОЗА
И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОГО ВАГИНИТА

1. Цель. Ознакомиться с лабораторной диагностикой дисбиоза влагалища и неспецифического вагинита.

2. Задачи:

2.1. Усвоить теоретические сведения по теме:

- показания для исследования на генитальный дисбактериоз;
- характер исследуемого материала, правила забора и транспортировки;
- схема лабораторной диагностики вагиноза;
- микроскопия нативного мазка, оценка;
- критерии оценки дисбактериоза;
- методы индикации гарднерелл;
- возможные возбудители вагинита;
- характер исследуемого материала; правила забора и транспортировки;
- микроскопия нативного мазка, оценка;
- выбор питательных сред; условия культивирования микроорганизмов.

2.2. Освоить практические навыки исследования нативных мазков из генитального материала.

2.3. Освоить схему бактериологического исследования влагалищного отделяемого.

3. Контрольные вопросы:

3.1. Видовой состав нормофлоры влагалища. Изменения в различном возрасте.

3.2. Классификация заболеваний УГТ.

3.3. Характеристика вагиноза, причины развития, показания для обследования, этапы исследования.

3.4. Характеристика *G. vaginalis*; методы индикации и выделения гарднерелл.

3.5. Характеристика вагинита, причины развития, показания для обследования, этапы исследования.

4. Справочные материалы.

4.1. Качественный и количественный состав микрофлоры генитального тракта женщины.

Группы	Факультативные анаэробы	Концентрация	Облигатные анаэробы	Концентрация
Гр+ палочки	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>G. vaginalis</i> <i>Corynebacterium</i> spp.	10^4 10^6 10^3-10^4	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Bifidobacterium</i> spp. <i>Clostridium</i> , <i>Propionibacterium</i> , <i>Mobiluncus</i> , <i>Eubacterium</i> , <i>Actinomyces</i> spp.	10^4 10^3-10^7 до 10^4
Гр+ кокки	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i> <i>Streptococcus</i> групп А, D и др. <i>Enterococcus</i> spp.	10^4-10^5 10^3-10^4 10^3-10^4	<i>Peptococcus</i> spp. (<i>P. anaerobius</i> , <i>P. asaccharolyticus</i> , <i>P. prevotii</i> , <i>P. variabilis</i>); <i>Peptostreptococcus</i> spp. (<i>P. anaerobius</i>)	10^3-10^4
Гр- палочки	<i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., другие <i>Enterobacteriaceae</i>	10^3-10^4	<i>Bacteroides</i> spp. <i>Prevotella</i> spp. <i>Porphyromonas</i> , <i>Fusobacterium</i> , <i>Leptotrichia</i> , <i>Bilophila</i> , <i>Campylobacter</i> spp.	10^3-10^4 до 10^4 до 10^3
Гр- кокки			<i>Veillonella</i> spp.	до 10^3
Остальные	<i>Candida</i> spp.	10^4		
	<i>Mycoplasma hominis</i>	10^3		
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	10^3		

4.2. Бактериальный вагиноз.

Дисбактериоз — невоспалительная патология влагалища, характеризующаяся наличием конкурентного роста одного или нескольких УПМ ($\geq 10^8$ КОЕ/мл влагалищного секрета с преобладанием факультативных и облигатных анаэробов).

4.3. Предрасполагающие факторы вагиноза:

- нарушение гормональной регуляции;
- инфекционные процессы (особенно ЗППП);
- первичные и вторичные иммунодефициты;
- медикаментозная терапия (особенно гормонами и АБ);
- токсические факторы окружающей среды;
- применение гормональных и внутриматочных контрацептивов;
- частая смена половых партнёров.

4.4. Часто обнаруживаемые микроорганизмы при вагинозе:

- *Atopobium vaginae*.

- *Gardnerella vaginalis*: синтезирует пиروиноградную кислоту и аминокислоты.
- *Candida albicans*: проникает в глубокие слои эпителия, создаёт условия для УПБ.
- *Mobiluncus* spp.: вырабатывает токсин, препятствующий адгезии лактобацилл на эпителиоциты.
- *Leptotrichia buccalis*: в высоких концентрациях потребляет глюкозу, конкурируя с лактобактериями.

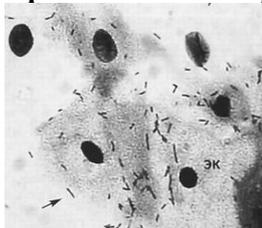
4.5. Материал для исследования при обследовании на вагиноз:

- Содержимое заднего свода влагалища (забирается ватным тампоном).
- Содержимое цервикального канала (забирается ватным тампоном).

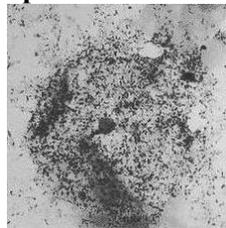
4.6. Этапы лабораторной диагностики вагиноза:

- Исключение ЗППП.
- Микроскопия вагинального мазка, окрашенного по Граму (КК, лейкоциты, вариабельность окраски клеток микроорганизмов).
- Постановка аминотеста: 1–2 капли вагинального отделяемого на предметное стекло, 1–2 капли 10 %-го раствора щёлочи. Появление «рыбного» запаха — один из признаков дисбиоза.
- Определение pH влагалищного отделяемого.
- Посев вагинального отделяемого на питательные среды.

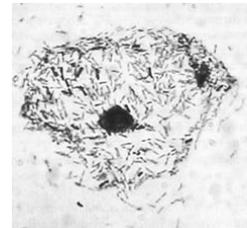
4.7. Характер возможной микроскопической картины вагинального мазка.



Мазок из заднего свода влагалища (норма)

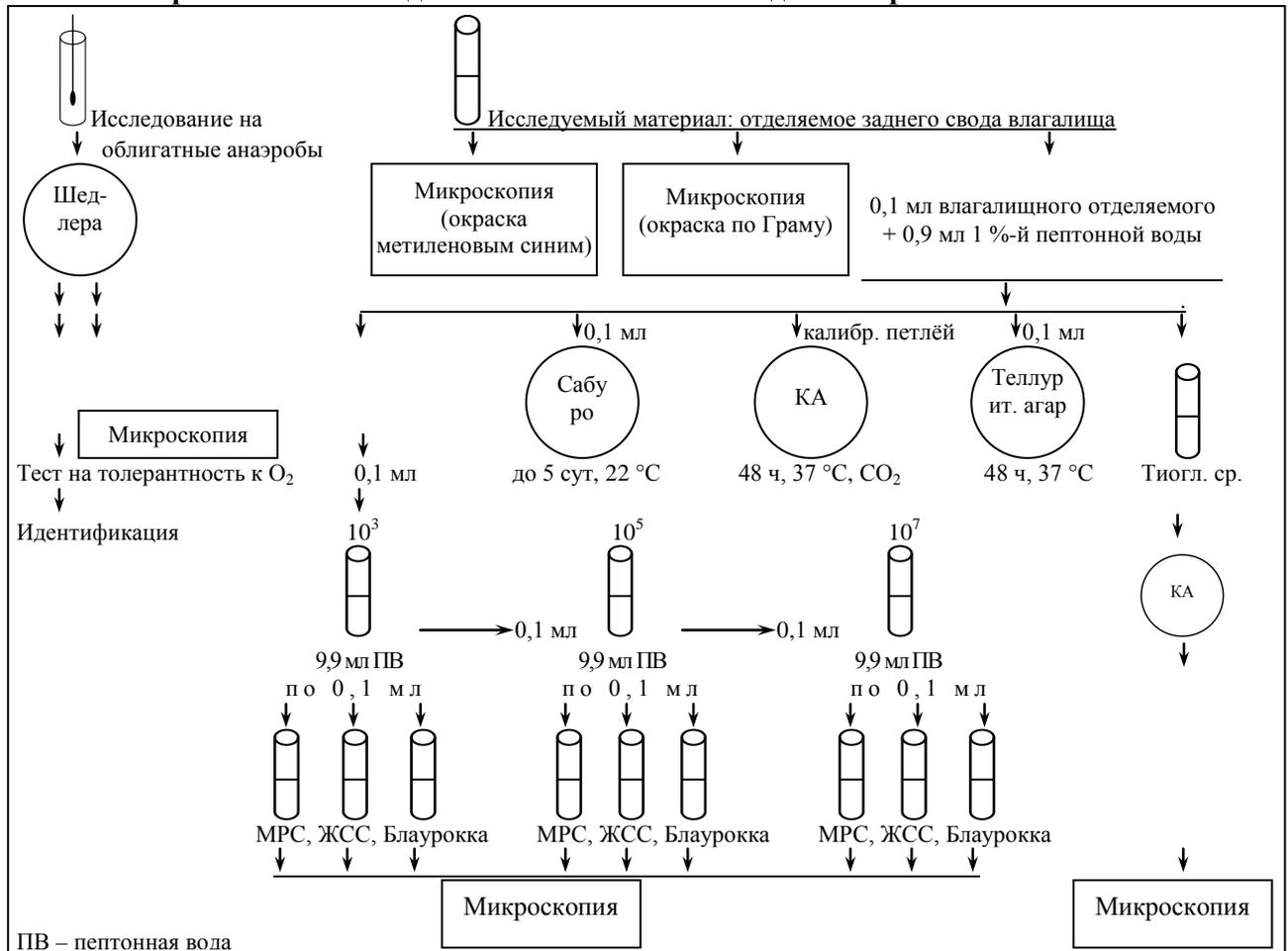


«Ключевая» клетка



«Ложноключевая» клетка

4.8. Схема микробиологической диагностики генитального дисбактериоза.



4.9. Неспецифический вагинит.

Воспалительное неспецифическое заболевание слизистой влагалища, вызванное аэробными и анаэробными УПМ, с острым и хроническим течением.

4.10. Предрасполагающие факторы вагинита:

- дисбиоз генитального тракта с преобладанием облигатных и факультативных анаэробов (*Bacteroides*, *Peptostreptococcus*, *Fusobacterium* spp., *Enterobacteriaceae*, особенно *E. coli*, стафилококки);
- первичные очаги инфекции в других органах;
- наличие простейших и гельминтов;
- вирусные заболевания (преимущественно ВПГ2 и ЦМВ);
- оральный и анальный секс (в гениталии заносятся микроорганизмы, нехарактерные для этих анатомических отделов: *Bacteroides*, *Prevotella*, *Fusobacterium* spp., *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus* spp.; *K. pneumoniae*, *Streptococcus A, B*, *Moraxella catarrhalis*, *Leptotrichia buccalis*).

4.11. Возможные возбудители неспецифических вагинитов.

Аэробы, микроаэрофилы		Строгие анаэробы			
<i>Staphylococcus</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Clostridium</i>	<i>Fusobacterium</i>	<i>Leptotrichia</i>	<i>Porphyromonas</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Peptococcus</i>	<i>Difteroides</i>	<i>Propionobacterium</i>	<i>Veilonella</i>
<i>Enterococcus</i>		<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Prevotella</i>	<i>Actinomyces</i>	<i>Bilophila</i> spp.
		<i>Bacteroides</i>			

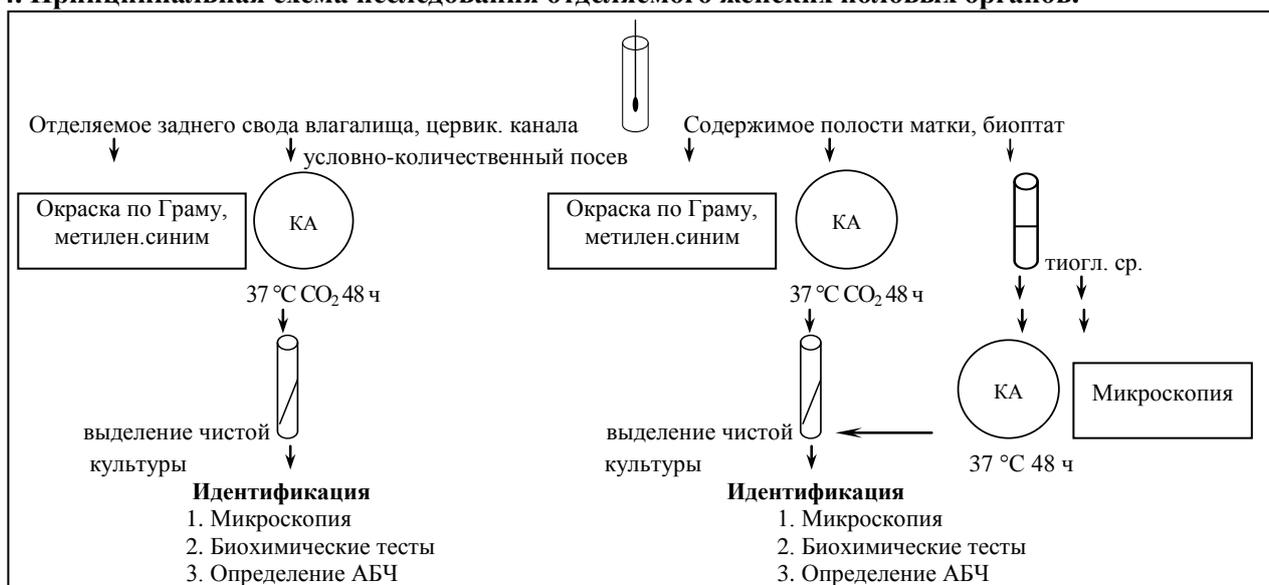
4.12. Материал для исследования:

- Содержимое заднего свода влагалища (забирается ватным тампоном).
- Содержимое цервикального канала (забирается ватным тампоном).

4.13. Этапы лабораторной диагностики:

- Исключение ЗППП.
- Микроскопия мазков, окрашенных по Граму (соотношение грам-/+ флоры, наличия лейкоцитов).
- Культуральные методы диагностики. Основным критерием определения вирулентности каждого микроорганизма является **степень обсеменённости**, которая клинически значима при концентрации $>10^5$ КОЕ/мл исследуемого материала.

4.14. Принципиальная схема исследования отделяемого женских половых органов.



4.15. Возможные возбудители инфекций МПС.

Бактерии	Передающиеся половым путём			Не передающиеся половым путём
	Вирусы	Простейшие	Эктопаразиты	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	ВИЧ (тип 1 и 2)	<i>Trichomonas vaginalis</i>	<i>Phthirus pubis</i> (лобковая вошь)	<i>Peptococcus</i> spp.
<i>Treponema pallidum</i>	ВПГ (тип 1 и 2)	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Sarcoptes</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp.
<i>Chlamydia trachomatis</i>	ВПЧ			<i>Bacteroides</i> spp.
<i>Haemophilus ducreyi</i>	Вирус гепатитов А,			<i>Fusobacterium</i> spp.

Передающиеся половым путём				Не передающиеся половым путём
Бактерии	Вирусы	Простейшие	Эктопаразиты	
Calymnabacterium granulatosum Ureaplasma urealyticum Mycoplasma hominis Mycoplasma genitalium Gardnerella vaginalis Salmonella spp. Shigella spp. Campylobacter spp. Streptococcus группы B Mobiluncus spp.	B, C, D Цитомегаловирус Вирус Эпштейна — Барр Вирус контагиозного моллюска Энтеровирусы	Giardia lamblia Другие простейшие, поражающие кишечник	scabiei (чесоточный клещ)	Diphtheroides spp. Prevotella spp. Leptotrichia spp. Actinomyces spp. Staphylococcus spp. Streptococcus spp. Enterococcus spp. Enterobacteriaceae Candida spp.

4.16. Материал для исследования при инфекциях МПС:

- Уретра (стерильным ватным тампоном или катетером): содержимое, соскоб, моча (первая порция).
- Вульва (ватным тампоном или пункция): содержимое бартолиновых желез.
- Влагалище (ватным тампоном): содержимое заднего свода или патологически изменённых участков.
- Цервикальный канал (ватным тампоном): содержимое или соскоб.
- Матка и придатки (при оперативном вмешательстве): экссудат, кусочки тканей.

4.17. Методы лабораторной диагностики инфекций УГТ.

Заболевание	Микроскопия	Культуральный метод	Метод культур клеток	Молекулярно-генетические методы	ИФА (поиск АГ)	РИФ	Серологические методы	Др. методы
Сифилис	+			+			+	
Гонорея	+	+		+				
Трихомониаз	+	+		+				
Хламидиоз			+	+	+	+	+	
Герпесвирусная инфекция			+	+	+	+	+	Цитоморфологический
Аногенитальные бородавки			+	+				
Микоплазмоз		+	+	+	+	+	+	
ЦМВ-инфекция			+	+		+	+	
Вагиноз	+	+		+				pH, амин. тест
Гарднереллезная инфекция	+	+		+		+	+	pH, амин. тест
Неспециф. вагинит	+	+						pH, амин. тест
ВЭБ-инфекция			+	+	+			
УГТ кандидоз	+	+		+			+	

4.18. Алгоритм лабораторной диагностики вульвовагинальной инфекции.

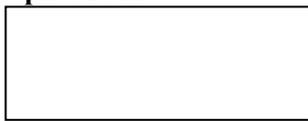
Характер картины при микроскопии	Возможный возбудитель	Метод	Заболевание
В тёмном поле: спиралевидные клетки	T. pallidum	Серологические реакции	Сифилис
Гр– стрептобациллы, короткие цепочки, много лейкоцитов	H. ducrey	Шоколадный агар	Шанкроид
Гр– диплококки, много лейкоцитов	N. gonorrhoeae	Обогащённые среды	Гонорея
Грушевидные, овальные клетки со жгутиками, много лейкоцитов	T. vaginalis	Ср. Джонсона — Тресселя	Трихомониаз
	T. vaginalis + Chlamydia spp. + N. gonorrhoeae + Mycoplasma, Ureaplasma spp. + ГВ, ЦМВ, ПВ	Культуральный, ПЦР, ИФА, РИФ	Смешанная с трихомониазом инфекция
Грамвариабельная флора, лейкоциты, макрофаги, эпителиоциты	Staphylococcus, Streptococcus spp., Enterobacteriaceae и др. УПИМ	Среды для аэробов	Неспецифический вагинит
	Chlamydia spp.	ПЦР, ИФА, РИФ	Хламидиоз
	Mycoplasma, Ureaplasma spp.	ПЦР, ИФА, РИФ	Микоплазмозы
	ВЭБ, ГВ, ЦМВ, ПВ	ПЦР, ИФА	Вирусная инфекция
КК, лунообразные, гр– палочки	G. vaginalis, анаэробы	Среды для анаэробов, КА	Вагиноз
Нормофлора, бластоспоры, нити мицелия, нет КК	Candida spp.	Ср. Сабуро	УГТ кандидоз

5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть нативные мазки содержимого генитального тракта, окрашенных метиленовым синим и по Граму. Зарисовать.



Лактобактерии



«Ключевые» клетки

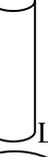
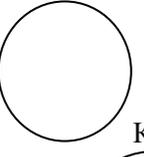
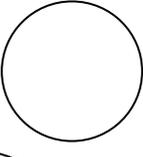
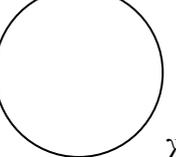
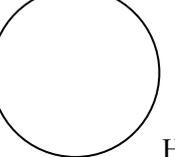


Лейкоциты и *N.gonorrhoeae*

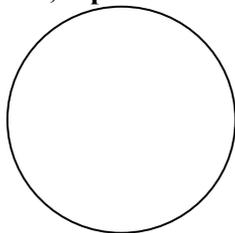


Лейкоциты и *T.vaginalis*

5.2. Просмотреть биохимические ряды наиболее значимых возбудителей вагинитов. Зарисовать.

<i>K. oxytoca</i>		Олькеницкий		Подвижность		Индол		Симмонс		Хью
<i>E. faecalis</i>		МПБ желчн.		Молоко с синькой		Солевой МПБ		Маннит		Сорбит
<i>S. agalactia</i>		МПБ желчн.		Метилен.молоко		Щелочн.		КА		Оптох/бацитр
<i>S. aureus</i>		Плазма		Маннит		ЖСА		Новобиоцин		

5.3. Просмотреть, зарисовать макроскопический рост *G. vaginalis*.



Лабораторное занятие 9

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ ВДП И ГЛАЗ

1. Цель. Ознакомиться с методикой лабораторной диагностики ВДП и глаз.

2. Задачи:

- 2.1. Освоить краткие сведения по теме занятия:
 - показания к проведению бактериологического исследования ВДП, глаз;
 - поражение горла: материал, методика взятия, транспортировка;
 - поражение ушей: материал, методика взятия, транспортировка;
 - поражение глаз: материал, методика взятия, транспортировка;
 - выбор питательных сред, техника посева, схема культурального исследования.
- 2.2. Освоить этапы выделения и идентификации возможных возбудителей инфекций ВДП (*S. xerosis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *H. influenzae*).

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Возможные возбудители заболеваний ВДП, глаз.
- 3.2. Общие требования к взятию материала и его доставке в лабораторию. Особенности взятия материала из носоглотки, уха, зева, глаз, закрытых полостей. Предварительная обработка.
- 3.3. Методы посева материала (количественный, условно-количественный) при заболеваниях ВДП, глаз.
- 3.4. Среды, используемые для выделения наиболее значимых микроорганизмов в диагностике заболеваний ВДП, глаз.

4. Справочные материалы.

4.1. Микроорганизмы, вызывающие инфекционные поражения ЛОР-органов.

Нозологическая форма	Ведущие возбудители	Возможные возбудители
Острый риносинусит	Вирусы, <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. catarrhalis</i>	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp., <i>S. pyogenes</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>C. pneumoniae</i> , анаэробы
Хронический синусит	<i>K. pneumoniae</i> , <i>Enterobacter</i> spp., <i>P. vulgaris</i> , <i>P. aeruginosa</i> , ассоциации микроорганизмов	<i>Streptococcus</i> spp., <i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>S. aureus</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., грибы, анаэробы
Наружный локализованный отит	<i>S. aureus</i>	
Диффузный наружный отит	<i>S. aureus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , грибы	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus</i> spp.
Острый средний отит	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>	<i>S. pyogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> (у новорождённых), <i>M. catarrhalis</i>
Хронический средний отит	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>	Грибы
Фарингит, тонзиллит	Вирусы, <i>S. pyogenes</i>	<i>Streptococcus</i> A, G, <i>Corynebacterium</i> spp., <i>N. gonorrhoeae</i> , анаэробы, <i>M. pneumoniae</i> , <i>C. pneumoniae</i>
Эпиглотит	<i>H. influenzae</i>	<i>Streptococcus</i> spp., <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>

4.2. Показания к бактериологическому исследованию при инфекционных поражениях ЛОР-органов:

- Отсутствие эффекта от проводимой терапии.
- Хронический процесс и его обострение.
- Возникновение нозокомиального процесса на фоне инструментальных манипуляций.
- Пункция закрытых полостей.
- Исследования по эпидемическим показаниям (дифтерия, менингококковая инфекция).

4.3. Микробная колонизация глаз.

Края век и в меньшей мере поверхность конъюнктивы колонизированы различными микроорганизмами:

- *Staphylococcus* — 60 % (в основном *S. epidermidis*);
- *Propionibacterium* spp.;
- *Corynebacterium* spp.

4.4. Факторы риска развития инфекций глаз.

Травмы, инородные тела, инфекции слёзных протоков, кожные заболевания.

Наиболее частой клинической формой является конъюнктивит, одним из осложнений — кератит.

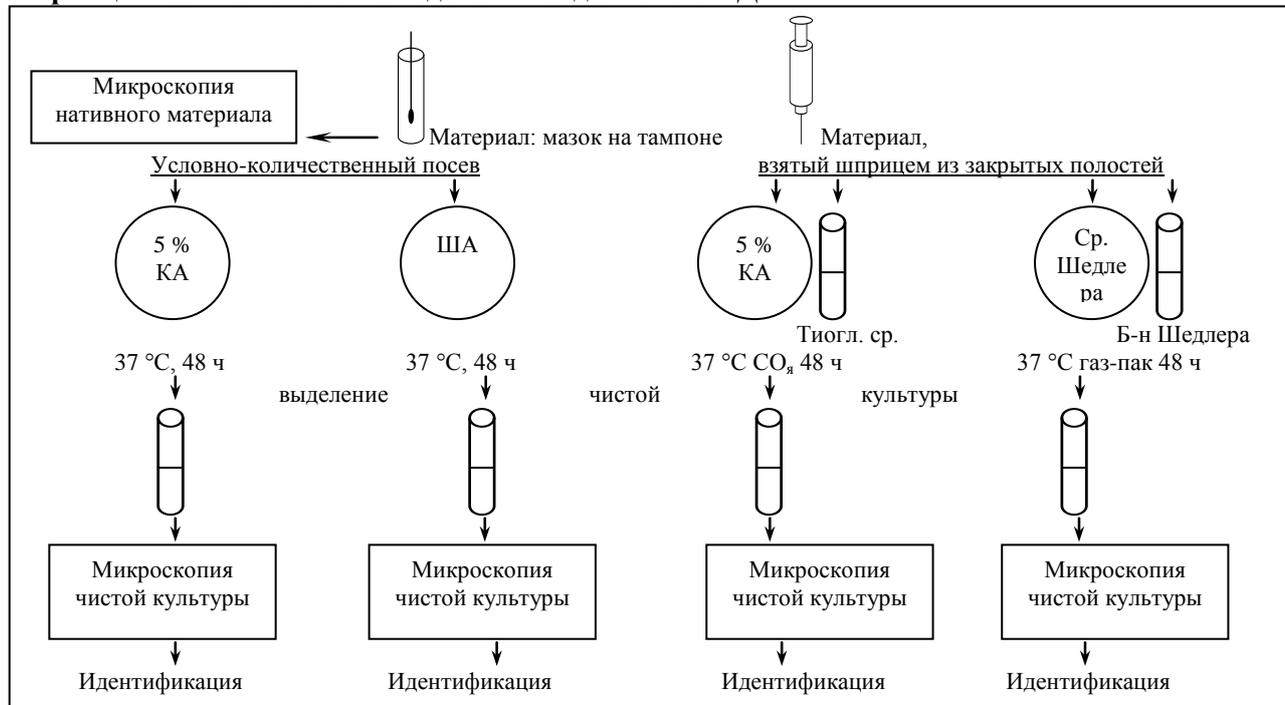
4.5. Факторы риска развития кератита.

Линзы, травматические повреждения эпителия роговицы.

4.6. Этиология бактериальных конъюнктивитов.

Молниеносная форма	Острый бактериальный конъюнктивит		
	Взрослые	Дети	Новорождённые
<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>N. meningitidis</i>	<i>S. aureus</i> , <i>S. pneumoniae</i> , гр- анаэробные кокки, <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>H. influenzae</i> (биотип <i>aegyptius</i>), <i>S. pyogenes</i> , гр- кокки (редко <i>Moraxella</i> spp.)	<i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Peptococcus</i> , <i>Peptostreptococcus</i> spp.	<i>C. trachomatis</i> , <i>N. gonorrhoeae</i>

4.7. Принципиальная схема исследования отделяемого ВДП.



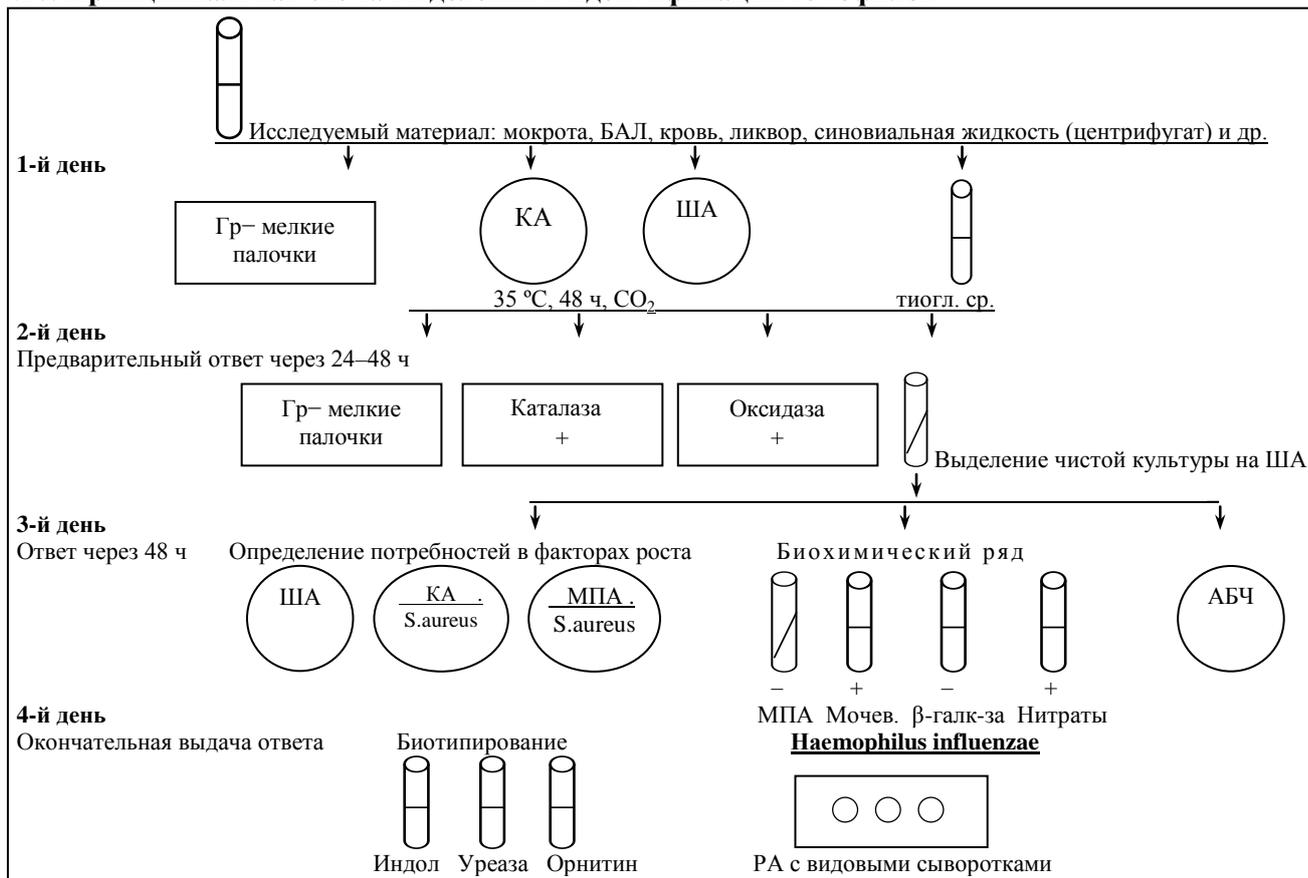
4.8. Биологические свойства видов бактерий рода *Haemophilus*.

Признак	<i>H. influenzae</i>	<i>H. parainfluenzae</i>	<i>H. aegyptius</i>	<i>H. haemolyticus</i>	<i>H. parahaemolyticus</i>	<i>H. aphrophilus</i>
Морфология клеток	Палочки, мелкие скопления	Палочки, заострённые концы	Палочки, коккобациллы	Палочки, стрептобациллы	Крупные толстые палочки	Коккобациллы
Капсула	+	-	-	-	-	-
X-фактор	+	-	+	+	-	+
V-фактор	+	+	+	+	+	-
Гемолиз	-	-	-	β+	αβ+	-
Оксидаза	+	+	-	+	+	-
Глюкоза	+	+	+	+	+	+
Лактоза	-	-	-	+	-	+
Сахароза	+	+	-	-	+	-
Мальтоза	+	+	+	+	+	+
Индол	±	-	-	-	-	-
β-галактозидаза	-	+	+	+	+	+
Редукция нитратов	+	+	+	+	+	+
Уреаза	+	-	+	+	+	-

4.9. Дифференциальные признаки отдельных видов *Corynebacterium* spp.

Вид коринебактерий	Токсигенность	Цистиназа	Глюкоза	Сахароза	Мальтоза	Крахмал	Мочевина	Редукция нитратов
<i>C. diphtheriae</i> вариант <i>gravis</i>	+/-	+	+	-	+	+	-	+
<i>C. diphtheriae</i> вариант <i>mitis</i>	+/-	+	+	-	+	-	-	+/-
<i>C. ulcerans</i> (маститы коров; дифтериеподобное заболевание человека)	+/-	+	+	-	+	+	+	-
<i>C. pseudotuberculosis</i>	+/-	+	+	-	+	-	+	+/-
<i>C. pseudodiphthericum</i> (постоянный обитатель зева, носа, может вызывать трахеобронхиты)	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>C. xerosis</i> (сапрофит глаз, носа; может вызывать конъюнктивиты)	-	-	+	+	+	-	-	+

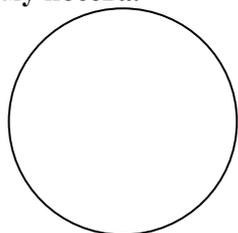
4.10. Принципиальная схема выделения и идентификации гемофилов



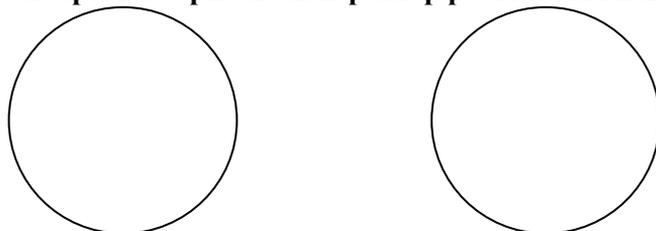
5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть и зарисовать инструменты для взятия материала из ВДП.

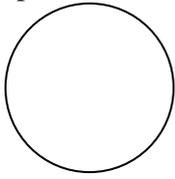
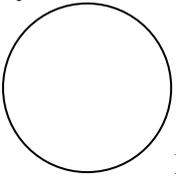
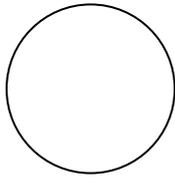
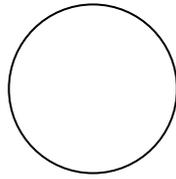
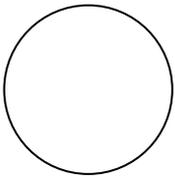
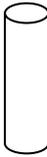
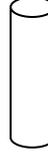
5.2. Посеять мазок из зева, взятый тампоном, на КА условно-количественным методом. Зарисовать схему посева.



5.3. Просмотреть и зарисовать характер роста на КА и ША при посеве мазка из зева.



5.4. Просмотреть и зарисовать биохимические ряды отдельных возбудителей инфекций ВДП.

<i>S. aureus</i>		Плазма		Маннит		ЖСА		Новобиоцин		
<i>S. pyogenes</i>		Гемолиз		Каталаза		Оптохин, бацитрацин				
<i>S. xerosis</i>		Гемолиз		Проба Пизу		Сахароза		Мочевина		
<i>N. meningitidis</i>		Каталаза		Глюкоза		Лактоза		Сахароза		Мальтоза

5.5. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов, записать результат.

№ штам-ма	Вид микроорга-низма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска, интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>S. pneumoniae</i>						
	<i>S. aureus</i>						

Лабораторное занятие 10

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ НИЖНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ

1. Цель. Ознакомиться с методами лабораторной диагностики инфекций НДП.

2. Задачи:

2.1. Освоить краткие сведения по теме занятия:

- способы заноса возбудителя в НДП;
- типы инфекций НДП по характеру приоритетных возбудителей;
- возбудители внебольничных пневмоний;
- возбудители госпитальных пневмоний;
- алгоритм обследования больных при внебольничных пневмониях;
- исследуемый материал, правила забора и транспортировки;
- подготовка мокроты к исследованию;
- выделение и идентификация возбудителя, определение АБЧ.

2.2. Освоить этапы выделения и идентификации возможных возбудителей инфекций НДП.

2.3. Оценить АБЧ изучаемых штаммов возбудителей.

3. Контрольные вопросы:

3.1. Возможные возбудители заболеваний НДП.

3.2. Общие требования к взятию материала и его доставке в лабораторию.

3.3. Оценка качества мокроты. Предварительная обработка материала.

3.4. Методы посева материала и среды для выделения значимых возбудителей заболеваний НДП.

4. Справочные материалы.

4.1. Типы инфекций НДП по характеру приоритетных возбудителей:

- внебольничные пневмонии;
- госпитальные (нозокомиальные) пневмонии;
- пневмонии у лиц с тяжёлым дефектом иммунитета.

4.2. Возбудители инфекций нижних дыхательных путей (данные ВОЗ).

Высокий уровень приоритетности (кроме <i>M. tuberculosis</i>)	Средний уровень приоритетности	Низкий уровень приоритетности
<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> (на фоне ОРВИ, алкоголизма, травм, сахарного диабета), <i>K. pneumoniae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Candida spp.</i> , <i>M. catarrhalis</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Legionella spp.</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>Chlamydia spp.</i>

4.3. Этиология инфекций нижних дыхательных путей (внебольничных).

Аспирационный бронхит	Обострение хронического бронхита	Пневмонии	Пневмонии при иммунодефицитах
Вирусы	<i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , гр– бактерии	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. pneumoniae</i> , <i>C. pneumophila</i> , гр– бактерии, <i>Legionella spp.</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Moraxella spp.</i> , анаэробы (при аспирации)	Пневмоцисты, грибы

4.4. Этиология инфекций нижних дыхательных путей (госпитальных).

«Поздние» госпитальные пневмонии у лиц, принимавших АБ	Вентилятор-ассоциированные госпитальные пневмонии, связанные с искусственной вентиляцией лёгких	Аспирационные пневмонии
<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus spp.</i>	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Acinetobacter spp.</i> , <i>S. aureus</i>	Неспорообразующие анаэробы и их сочетание с гр– бактериями

4.5. Эпидемиология и факторы риска развития внебольничных пневмоний известной этиологии.

Условия возникновения	Вероятные возбудители
Алкоголизм	<i>S. pneumoniae</i> , анаэробы, гр– бактерии
Хр. обструкция лёгких/табакокурение	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. catarrhalis</i> , <i>Legionella spp.</i>
Пребывание в домах престарелых	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. aureus</i> , анаэробы, <i>C. pneumoniae</i>
Несанированная полость рта	Анаэробы
Эпидемическая вспышка «болезни легионеров»	<i>Legionella spp.</i>
Контакт с птицами	<i>C. psittaci</i>
Контакт с кроликами	<i>Fracisella tularensis</i>
ВИЧ-инфекция (ранняя стадия)	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Путешествие по юго-западным штатам США	<i>Coccidioides immitis</i>
Контакт с сельскохозяйственными животными	<i>Coxiella burnetii</i>
Эпидемия гриппа	Вирус гриппа, <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>H. influenzae</i>
Структурные заболевания лёгких	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. cepacia</i> , <i>S. aureus</i>
Внутривенная наркомания	<i>S. aureus</i> , анаэробы, <i>M. tuberculosis</i>
Локальная бронхиальная обструкция	Анаэробы

4.6. Атипичные возбудители инфекций НДП и методы их индикации.

Возбудитель	Значимость в заболеваемости	Культуральный	ИФА		РИФ, РНИФ		ПЦР	Другие методы
			АГ	АТ	АГ	АТ		
<i>M. pneumoniae</i>	Поражает лиц моложе 35 лет, уд. вес 8–30 % , вспышечная заболеваемость	+		+	+		+	
<i>C. pneumoniae</i>	2–8 %, нетяжёлое течение, вспышечная заболеваемость			+			+	
<i>L. pneumophila</i>	Контакт с кондиционерами, увлажнителями воздуха, системами охлаждения воды, тяжёлое течение	+	+	+	+	+	+	Определение растворимого АГ в моче
<i>P. carinii</i>	Поражает больных с выраженным иммунодефицитом	–		+	+	+	+	Окраска

4.7. Исследуемый материал при инфекции НДП:

- неконтаминированный (не требуют дополнительного подтверждения этиологической значимости): кровь, плевральная жидкость, транстрахеальный (трансторакальный) аспират из метастатических очагов инфекции (ликвор, гной и т. д.);
- материал, контаминированный «путевой» микрофлорой (требует дополнительных критериев этиологической значимости): мокрота; БАЛ, взятый «защищёнными» щётками.

4.8. Оценка качества мокроты (по Murray/Washington).

Группа	Число клеток		Пригодность к посеву
	Эпителиальные клетки	Лейкоциты	
1	25	10	Непригодна
2	25	10–25	Пригодна
3	25	25	Возможна
4	10–25	25	Возможна
5	<10	25	Обязательна

4.9. Оценка количества бактерий при микроскопии мокроты.

Класс	Оценка	Число в поле зрения
1+	Редко	<1
2+	Несколько	1–5
3+	Умеренно	5–10
4+	Много	Покрывает поле зрения <10

Оценка микроскопии при $\times 100$ увеличении мазка, окрашенного по Граму, при просмотре не менее 10 полей зрения.

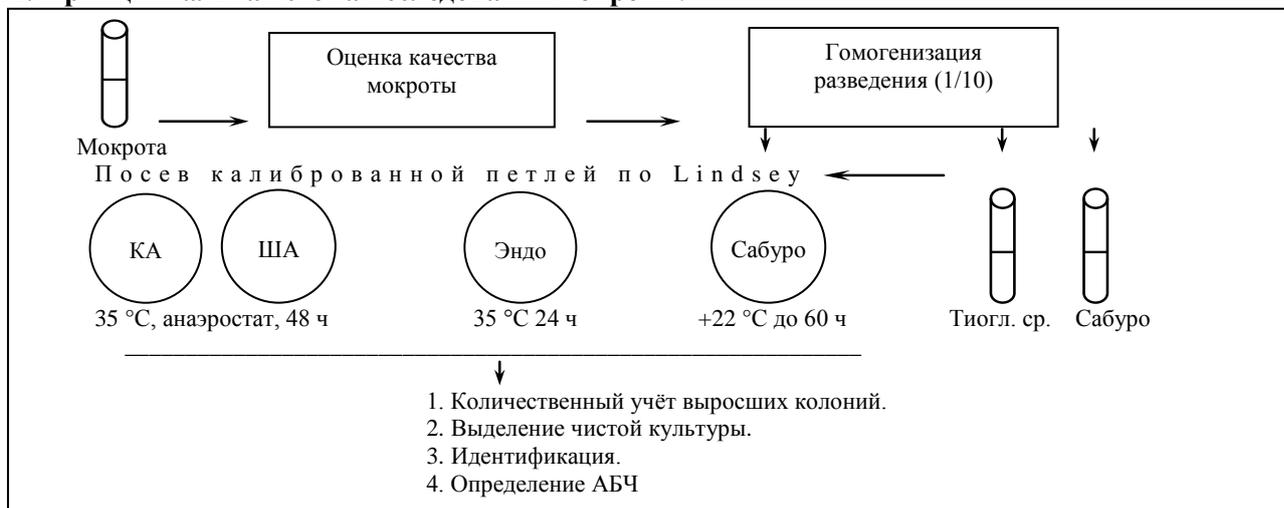
4.10. Дифференцирующие признаки наиболее частых возбудителей инфекций НДП.

Возбудитель	Морфология колоний	Морфология клеток	Характер гемолиза	Лизис оптохином	Лизис бацитрацином	Лизис желчи	Сапонин	Соагглютинация	РА со специфическими сыворотками	Примечание
<i>S. pneumoniae</i>	Плоские с уплощённым центром	Гр+ диплококки, возможна капсула	α	+	–	+			+	
<i>S. pyogenes</i>	Мелкие колонии с зоной гемолиза	Гр+ стрептококки	β	–	+	–		+		
<i>H. influenzae</i>	Мелкие колонии вокруг колонии-«кормилки»	Мелкие гр-палочки, иногда скопления	γ				+		+	Требует дополнительных тестов
<i>M. catarrhalis</i>		Гр- кокки, диплококки								

4.11. Биохимические свойства некоторых видов *Moraxella* и *Neisseria*

Признак	<i>M. catarrhalis</i>	<i>M. lacunata</i>	<i>N. gonorrhoeae</i>	<i>N. meningitidis</i>	<i>N. mucosae</i>	<i>N. lactamica</i>	<i>N. subflava</i>	<i>N. flavescens</i>
Морфология клеток	Кокки, диплококки	Коккобациллы, палочки	Бобовидные диплококки					
Подвижность	-	-	-	-	-	-	-	-
Каталаза	+	+	+	+	+	+	±	+
Оксидаза	+	+	+	+	+	+	+	+
Глюкоза	-	-	+	+	+	+	вар.	-
Лактоза	-	-	-	-	-	+	-	+
Сахароза	-	-	-	-	+	-	вар.	-
Мальтоза	-	-	-	+	+	+	+	-
Среда Мак-Конки	-	-	-	-	+	-	+	+
Пигмент	± (желт.)	-	-	-	±	-	+	+
Нитраты	+	+	-	-	+ газ	-	-	-
Нитриты	-	-	-	±	+	+	+	+
Рост при 35/25 °С	+/- ±	±/±	-/-	-/-	+/+	±/±	+/+	+/- вар.
OF-тест	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+/+	-/-
Рост при CO ₂	-	-	+	+	-	+	-	-

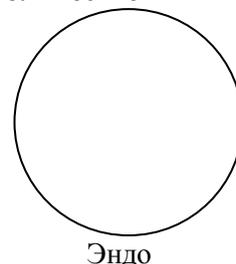
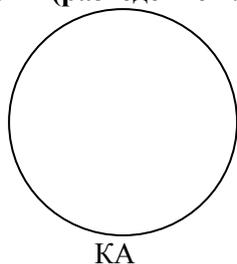
4.12. Принципиальная схема исследования мокроты.



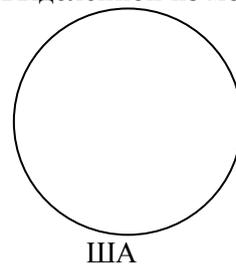
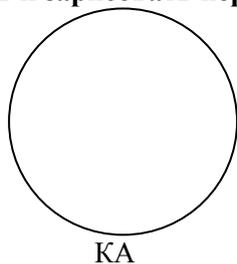
5. Практическая работа.

5.1. Оценка качества мокроты.

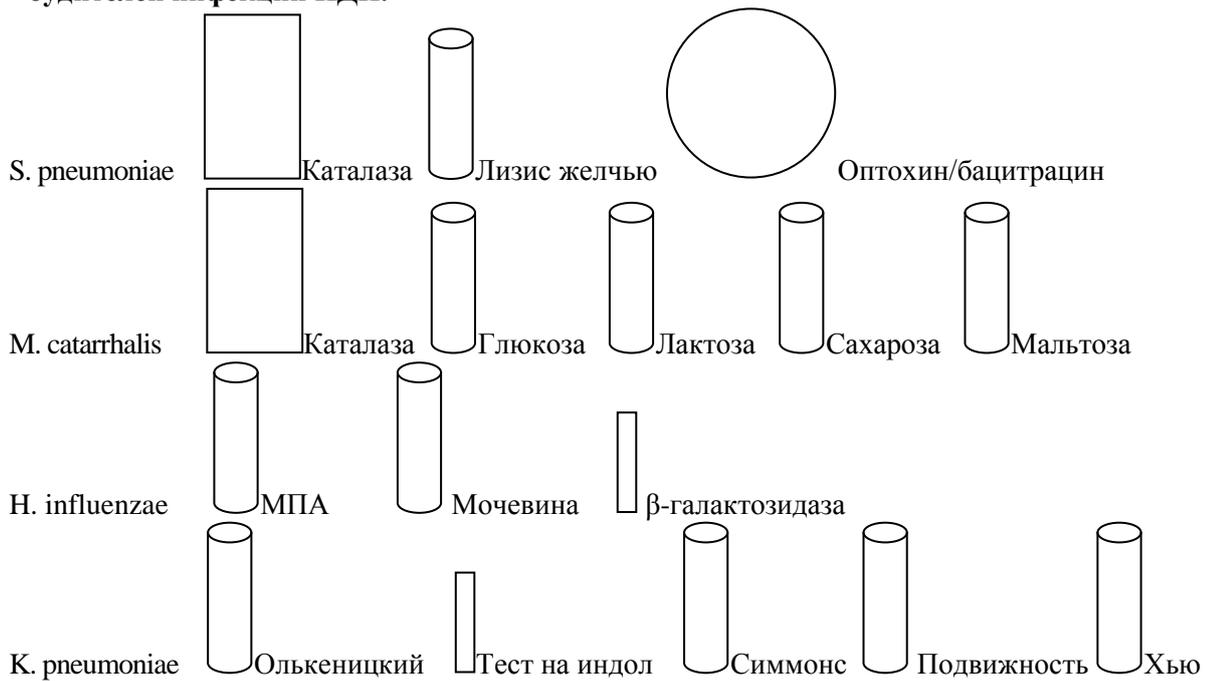
5.2. Посев мокроты (разведение 1:10) на питательные среды количественным методом Lindsey.



5.3. Просмотреть и зарисовать первичный рост микрофлоры, выделенной из мокроты.



5.4. Просмотреть и зарисовать биохимические ряды для идентификации наиболее значимых возбудителей инфекций НДП.



5.5. Идентифицировать анаэробную культуру с помощью тест-системы.

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○	○	○	○	○

Вид _____

5.6. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов, записать результат.

№ штамма	Вид микроорганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска, интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>S. pneumoniae</i>						
	<i>S. aureus</i>						
	<i>K. pneumoniae</i>						

Лабораторное занятие 11 МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА РАНЕВОЙ ИНФЕКЦИИ

1. Цель. Ознакомиться с методами лабораторной диагностики раневой инфекции.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:
 - характеристика ран;
 - возбудители и нозологические формы раневой инфекции;
 - правила взятия материала и транспортировки;
 - выбор питательных сред, техника посева;
 - критерии этиологической значимости выделенного возбудителя.
- 2.2. Освоить этапы выделения и идентификации возбудителей раневой инфекции.
- 2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты. Обсудить результаты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Причины возникновения раневой инфекции.
- 3.2. Классификация ран с точки зрения микробиологической характеристики.
- 3.3. Возможные возбудители чистых и гнойных операционных ран. Возбудители «случайных ран».
- 3.4. Значение изучения глубинной и поверхностной флоры ран.
- 3.5. Патогенез развития раневой инфекции.
- 3.6. Характер исследуемого материала при раневой инфекции, общие требования к взятию, доставке.
- 3.7. Методы микробиологической диагностики раневого процесса; выбор сред, техника и методы посева.
- 3.8. Критерии этиологической значимости выделенных микроорганизмов.
- 3.9. Роль исследований в выборе антибиотиков для профилактики и лечения раневой инфекции.

4. Справочные материалы.

4.1. Наборы для забора клинического материала при раневой инфекции.



4.2. Этиологическая значимость микроорганизмов, вызывающих инфицирование ран.

Высокий уровень приоритетности	Средний уровень приоритетности	Низкий уровень приоритетности
<i>S. pyogenes</i> (гр. А), <i>S. aureus</i>	Enterobacteriaceae, <i>Pseudomonas</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacteroides</i> spp., др. НАБ, <i>Streptococcus</i> spp.	<i>B. anthracis</i> , <i>M. tuberculosis</i> , др. микроорганизмы

4.3. Критерии этиологической значимости:

- В выделенных ассоциациях ведущее значение отводится видам, количественно преобладающим.
- Уровень обсеменённости в ране $\geq 10^5$ КОЕ/г является критическим (при уровне $>10^5$ КОЕ нагноение развивается даже в жизнеспособных тканях и возрастает риск генерализации инфекционного процесса).
- $<10^5$ КОЕ/г при наличии в ране некротизированных тканей, гематом, инородных тел.
- Подозрение на анаэробную инфекцию: расхождение между результатами бактериоскопического (обнаружение микроорганизмов) и бактериологического (отсутствие роста) исследования; наличие нарастающего отёка тканей (подозрение на клостридиальную инфекцию).

4.4. Грамотрицательные неферментирующие бактерии, вызывающие заболевания человека

Поражения	Микроорганизм	Материал для исследования
Кожные поражения, абсцессы	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>X. maltophilia</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Ожоговые	<i>P. aeruginosa</i>	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Кератиты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты ткани роговицы
Конъюнктивиты	<i>Moraxella</i> spp.	Биоптаты ткани конъюнктивы

Поражения	Микроорганизм	Материал для исследования
Отиты	<i>P. aeruginosa</i>	Мазки-отпечатки отделяемого
Менингиты	<i>P. aeruginosa</i> , <i>F. meningosepticum</i> , <i>Acinetobacter</i> spp., <i>X. maltophila</i>	Ликвор
Бактериемия	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>X. maltophila</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Flavobacterium</i> spp.	Кровь
Эндокардиты	<i>P. aeruginosa</i> , <i>X. maltophila</i>	Кровь, биоптаты клапанов, протезы
Энтериты	<i>P. aeruginosa</i>	Фекалии, биоптаты слизистой кишечника
Пневмонии	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. cepacia</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Мокрота, промывные воды из бронхов и трахеи, биоптаты лёгких, кровь, плевральная жидкость (при плевритах)
Инфекции МВП	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> spp.	Моча
Остеомиелиты, артриты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты костной ткани из очагов поражения и суставная жидкость

4.5. Биохимические свойства бактерий рода *Pseudomonas*.

Тест	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. fluorescens</i>	<i>P. putida</i>	<i>P. alcaligenes</i>	<i>P. cepacia</i>	<i>P. pickettii</i>		<i>P. mendocina</i>	<i>P. stutzeri</i>
						1-й биовар	2-й биовар		
Оксидаза	+	+	+	+	+(86%)	+	+	+	+
Подвижность	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Гемолиз	-/+	+/-	-/+	-	-/+	+	-	+	-
OF-тест	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
Рост при 42 °C	+	-	-	-	+/-	+	+	+	+(70%)
Рост при 5 °C	-	+	*	*	*	*	*	-	*
Цитр. Симмонса	+	+	+	+(60%)	+	+	+	+	+
Кинг А (пиоц.)	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Кинг В (флюор.)	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Лизин	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Мочевина	-/+	-	-	-	+(60%)	+	+	+(50%)	-

4.6. Культуральные и биохимические свойства бактерий рода *Acinetobacter*.

Вид	<i>A. baumannii</i>	<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. haemolyticus</i>	<i>A. johnsonii</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. lwoffii</i>
Морфология	Грам(-) коккобаци.					
Гемолиз	-	-	+(β-гем.)	-	-	-
Подвижность	-	-	-	-	-	-
Рост при: 44/37 °C	+/+	-/+	-/+	-/-	-/+	-/+
OF-тест	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-
Глюкоза	+	+	+	-	-	-
Цитрат Симмонса	+	+	+(71%)	+	+(82%)	±
Мочевина	±	+(25%)	-	-	-	-
Утилизация: цитрата	+	+	±	+	±	±
DL-лактата	+	+	-	+	+	+
L-фенилаланина	+(98%)	+	-	-	-	-
малоната	+(98%)	+	-	+/-	-	-
ацетата	+(90%)	+	-	-	-	+
L-аспартата	+	+	+(64%)	+(60%)	±	-
В-аланина	+(95%)	+	-	-	-	-
L-аргинина	+(98%)	+	+(96%)	±(35%)	+	-

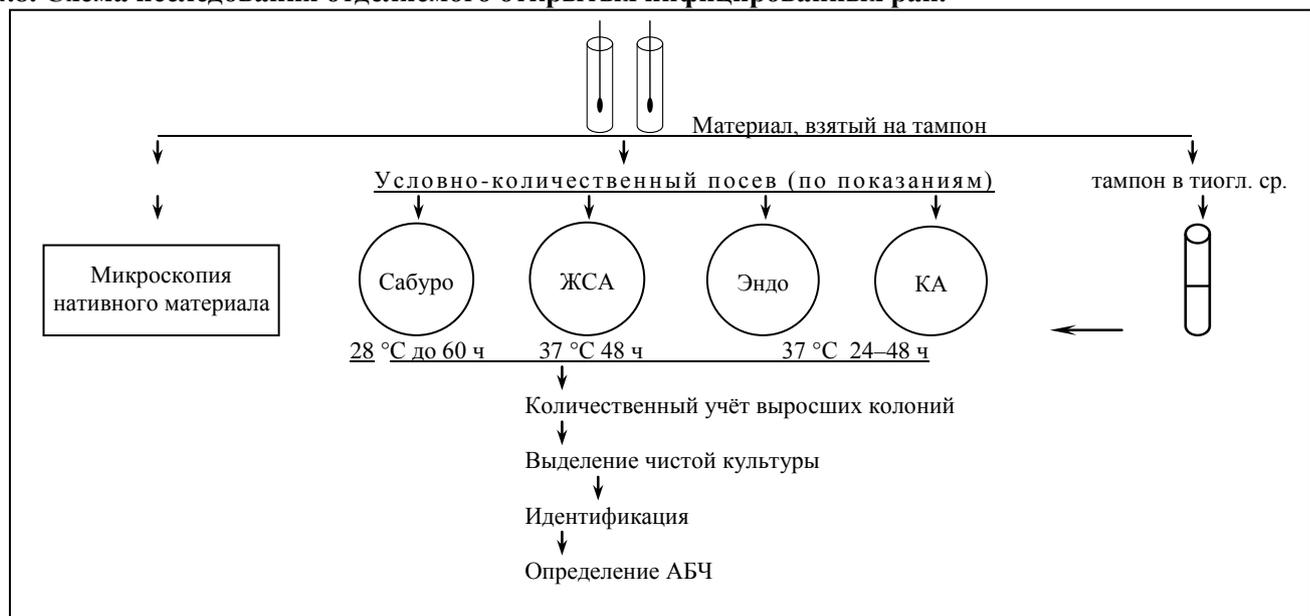
4.7. Свойства некоторых неферментирующих бактерий.

Вид	Оксидаза	Подвижность	Гемолиз	OF-тест	Рост 42 °C	Цитрат	Кинг А (пиоц.)	Кинг В (флюор.)	Нитрат	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Аргинин	Лизин	Мальтоза	Маннитол	Мочевина	Эскулин	Орнитин
<i>P. aeruginosa</i>	+	+	◇	+/-	+	+	+	+	газ	+	-	-	+	-	-	+	◇	-	-
<i>P. fluorescens</i>	+	+	±	+/-	-	+	-	+	-	+	-	◇	+	-	-	+	-	-	-
<i>P. putida</i>	+	+	◇	+/-	-	+	-	+	-	+	◇	-	+	-	◇	◇	-	-	-
<i>P. mendocina</i>	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	±	-	-
<i>V. cepacia</i>	±	+	◇	+/-	±	+	-	-	±	+	+	+	-	+	+	+	±	±	◇
<i>P. pickettii</i> : биовар 1	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-
<i>P. pickettii</i> : биовар 2	+	+	+	+/-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>P. stutzeri</i>	+	+	-	+/-	±	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-

Вид	Оксидаза	Подвижность	Гемолиз	OF-тест	Рост 42 °С	Цитрат	Кинг А (пиоц.)	Кинг В (флооор.)	Нитрат	Глюкоза	Лактоза	Сахароза	Аргинин	Лизин	Мальтоза	Маннитол	Мочевина	Эскулин	Орнитин
<i>P. alcaligenes</i>	+	+	-	-/-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>X. maltophilia</i>	-	+	+	+/-	◊	-	-	-	-	+	±	±	-	+	+	-	-	-	-
<i>C. luteola</i>	-	+		+/-	+	+	-	-	±	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
<i>F. oryzihabitans</i>	-	+	◊	+/-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
<i>F. meningosepticum</i>	+	-	+	+/-	+	-	-	-	-	+	+	-			+	+	-	+	
<i>A. faecalis</i>	+	+	◊	-/-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

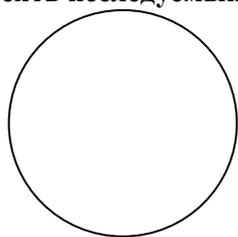
«+» — положительная реакция; «-» — отрицательная реакция; «±» — >50 % штаммов дают положительную реакцию; «◊» — <50 % штаммов дают положительную реакцию.

4.8. Схема исследования отделяемого открытых инфицированных ран.

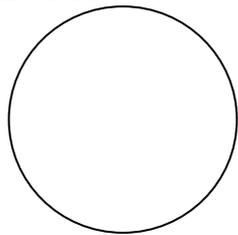


5. Практическая работа.

5.1. Посеять исследуемый материал условно-количественным методом. Зарисовать схему посева.



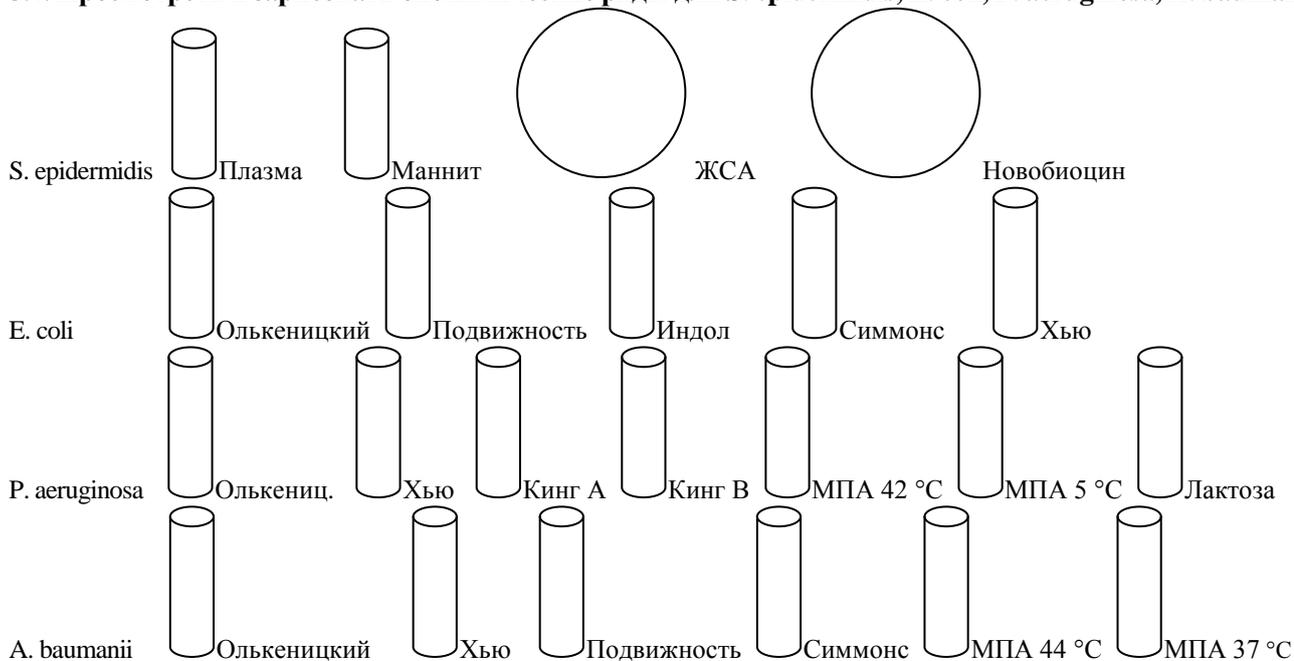
5.2. Просмотреть и зарисовать характер роста микрофлоры, выделяемой при посеве раневого отделяемого.



5.3. Оценить этиологическую значимость возбудителей на демонстрационной чашке с КА.

Чашка с посевом	Кол-во колоний в секторах				Количество бактерий в клиническом материале
	1-й	2-й	3-й	4-й	

5.4. Просмотреть и зарисовать биохимические ряды для *S. epidermidis*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*.



5.5. Идентифицировать изучаемую культуру с помощью тест-системы.

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

5.6. Оценка АБЧ изучаемых культур методом диско-диффузии.

№ штамма	Вид микроорганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска, интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>S. epidermidis</i>						
	<i>E. coli</i>						
	<i>P. aeruginosa</i>						
	<i>A. baumannii</i>						

Лабораторное занятие 12 МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СЕПСИСА

1. Цель. Ознакомиться с микробиологической диагностикой септических состояний.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:
 - характеристика сепсиса, возбудители;
 - микробиологическая диагностика сепсиса;
 - выявление бактериемии;
 - выявление микрофлоры возможного первичного очага;
 - выявление микрофлоры инвазирующих объектов.
- 2.2. Освоить этапы выделения и идентификации возможных возбудителей.
- 2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты. Обсудить результаты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Определение понятия «сепсис». Пути проникновения микробов в кровяное русло.
- 3.2. Возможные возбудители инфекций кровяного русла.
- 3.3. Условия для возникновения сепсиса.
- 3.4. Методика исследования крови. Оценка результата посева крови.
- 3.5. Схема посева крови при использовании «ручных» и автоматизированных систем.
- 3.6. Алгоритм микробиологического обследования больного при сепсисе.

4. Справочные материалы.

4.1. Этиологические агенты инфекций кровяного русла.

Грамотрицательные	Грамположительные
<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Klebsiella</i> spp.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Enterobacter</i> spp.	α -гемолитические стрептококки
<i>Proteus</i> spp.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Salmonella typhi</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Clostridium perfringens</i> (анаэроб)
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Peptostreptococcus</i> spp. (анаэробы)
<i>Bacteroides fragilis</i> (анаэроб)	<i>Peptococcus</i> spp. (анаэробы)
<i>Brucella</i> spp.	<i>Candida albicans</i> и др. <i>Candida</i> spp.
<i>Pseudomonas pseudomallei</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>

4.2. Предположительная этиология сепсиса в зависимости от локализации первичного очага.

Локализация первичного очага	Наиболее вероятные возбудители
Лёгкие	<i>S. pneumoniae</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> и <i>Acinetobacter</i> spp. (ИВЛ)
Брюшная полость	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Bacteroides</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.
Почки	<i>E. coli</i> и др. грамотрицательные бактерии, <i>Enterococcus</i> spp.
Ротоглотка	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., анаэробы
После спленэктомии	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>
Внутривенный катетер	<i>S. epidermidis</i> , <i>S. aureus</i>

4.3. Метод гемокультур. Правила взятия материала для исследования.

- Кровь для посева берут с соблюдением правил асептики и мер индивидуальной защиты, предусмотренных при работе с материалами, потенциально опасными для заражения инфекциями, передающимися через кровь (например, использование медперсоналом резиновых перчаток).
- Нельзя брать кровь из внутрисосудистых катетеров, кроме случаев, когда её получение непосредственно из вены затруднено или предполагается сепсис катетерного происхождения.
- При остром сепсисе исследуют 2–3 образца, взятых отдельными венопункциями с интервалом 30 мин до назначения антибиотиков (лучше во время подъёма температуры).
- При подостром эндокардите кровь берут трехкратно с интервалом 15–20 мин, а при отрицательных результатах через 24 ч. Если в предшествующие 1–2 недели больному проводилась антимикробная терапия, кровь исследуют по 2 раза в течение трёх дней.
- При лихорадке неясного происхождения кровь исследуют 2 раза в течение 1 ч, при отрицательных результатах — по той же схеме через 24 и 36 ч.
- У взрослых обычно требуется 10–30 мл крови на каждую венопункцию, у детей 15 мл крови.
- Для взятия крови используют стерильные шприцы или системы для одноразового пользования. Кожу тщательно обрабатывают 70 %-м этиловым спиртом, затем 1–2 %-й настойкой йода 30 с

(начиная от центра прокола к периферии). Дают высохнуть, производят венепункцию, после вновь обрабатывают 70 %-м этиловым спиртом.

- Посев осуществляют во флаконы с питательными средами для аэробного и анаэробного культивирования. При использовании коммерческих сред резиновую пробку флакона дезинфицируют 70 %-м спиртом и настойкой йода, давая подсохнуть. Затем прокалывают пробку флакона иглой шприца и производят посев крови. Рекомендуемое соотношение объемов крови и среды 1:10.

4.4. Среда для выделения гемокультур.

Для выделения аэробов: – среда для контроля на стерильность;
– двухфазная (агаровый «косяк»/б-н) среда;
– бульон на сердечно-мозговом переваре;
– триптиказо-соевый бульон;
– колумбийский б-н.

Для выделения анаэробов: – б-н Шэдлера;
– Колумбийский бульон с добавлением 0,05 %-го цистеина;
– тиогликолевая среда.

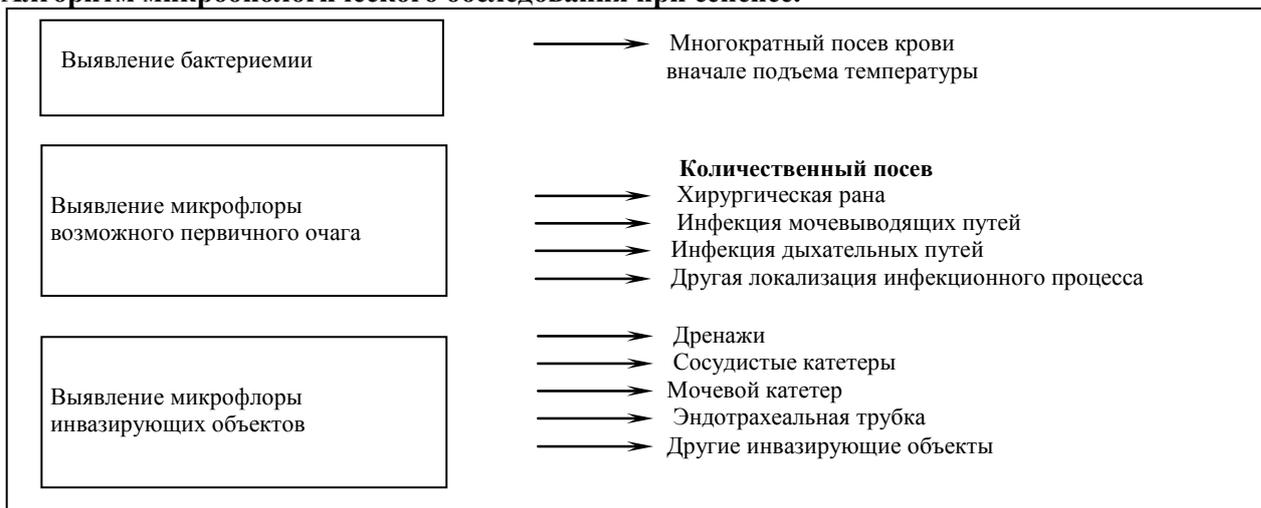
4.5. Проведение исследования.

- Флаконы с посевами крови инкубируют при 35–37 °С не менее 7 дней, ежедневно просматривая.
- Флаконы, предназначенные для выделения аэробов, встряхивают в первые 24 ч для улучшения аэрации среды. Длительная инкубация до 28 дней проводится при подозрении на бруцеллёз.
- Флаконы ежедневно просматривают на обнаружение видимого роста. Из анаэробного флакона в отсутствие видимого роста делают высев на традиционные среды в сроки 6–18 ч (раннее субкультивирование вслепую) или через 72 ч на шоколадный агар; посеvy инкубируют при 35 °С СО₂ 48 ч.
- Инкубация чашек в анаэробных условиях при раннем субкультивировании не показана.
- Заключительное субкультивирование (высев на питательные среды) проводят между 5-м и 7-м днём, хотя клинически оно приносит мало пользы. (Однако существует точка зрения о необходимости проведения анализа до 10 дней, осуществляя субкультивирование на 3, 6, 9-й дни.)
- При использовании двухфазной среды (агар с бульоном) аккуратно покачивают флакон, обеспечивая смачивание поверхности агара жидкой средой дважды в день в течение двух дней, а в оставшиеся 5 дней однократно; контрольные высевы не проводят. Субкультивирование флаконов, используемых в автоматизированных системах типа ВАСТЕС, также не производится.
- При подозрении на наличие роста готовят мазки в окраске по Граму и в соответствии с результатами микроскопии производят высевы гемокультуры на соответствующие среды с последующей идентификацией выделенных субкультур.

4.6. Схема посева материала из очага поражения при гнойно-септических инфекциях.

Материал	Микроскопия	Используемые среды	Метод посева	Инкубация
Раневое отделяемое (2 тампона)	по Граму	КА	Тампон–петля	37 °С 48 ч
		Сабуро (по показаниям)		22 °С 5 сут
		Тиогл. ср.		1:5 высев + микроскопия
Материал в шприце	по Граму	КА	0,1 мл растереть шпателем, калиб. петля	37 °С 48 ч
		Сабуро (по показаниям)		22 °С 5 сут
		Тиогл. ср.		1:5 высев + микроскопия
Отделяемое уха (на тампоне)	–	КА, Сабуро ША(новорождённые)	Тампон–петля	37 °С 48 ч
		Тиогл. ср.		Высев + микроскопия
Мазки из зева (миндалин)		КА, ША	Тампон–петля	37 °С 48 ч СО ₂
		Сабуро	Тампон–петля	22 °С 5 сут
Отделяемое глаз	на стекле	КА	Тампон – петля	37 °С 48 ч
		Тиогл. ср.	Высев + микроскопия	37 °С 48 ч
Грудное молоко	–	ЖСА, Эндо	КАЛИБ. петля 2 мм	37 °С 48, 24 ч
Кожа новорождённого		КА	Тампон–петля	37 °С 48 ч
Ликвор	по Граму, синькой	КА, МПА, ША, сыворот. агар	0,1 мл шпателем	37 °С 48 ч
		Полужидк. сыворот. б-н Тиогл. ср.	1:5 высев + микроскопия	37 °С 48 ч
Желчь		КА, Эндо, тиогл. ср.	Калиб. петля 2 мм	37 °С 48 ч
		Селенит. б-н	Высев на ВСА	37 °С 3, 5, 7 дн.
Выпот, суставная жидкость	по Граму	КА	0,1 мл растереть шпателем	37 °С 48 ч
		Сабуро (по показаниям)		22 °С до 5 сут
		Тиогл. среда		высев + микроскопия
Секрет простаты	по Граму	КА, тиогл. ср.	0,1 шпателем	37 °С 48 ч

4.7. Алгоритм микробиологического обследования при сепсисе.



5. Практическая работа.

5.1. Идентифицировать культуры с помощью тест-систем.

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

5.2. Просмотреть и определить АБЧ у исследуемых штаммов, записать результат.

№ штамма	Вид микроорганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм) вокруг диска, интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>S. pneumoniae</i>						
	<i>S. aureus</i>						
	<i>K. pneumoniae</i>						

Лабораторное занятие 13

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ

1. **Цель.** Ознакомиться с методами микробиологической диагностики НИ.

2. **Задачи:**

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- характеристика НИ, эпидемиология;
- возможные возбудители и особенности АБЧ;
- диагностика НИ;
- выявление микрофлоры инвазирующих объектов;
- схема посева эндотрахеальных трубок, катетеров, дренажных трубок, крови, мочи.

2.2. Освоить методы выделения и идентификации возбудителей НИ.

2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. **Контрольные вопросы:**

3.1. Определение НИ. Отличительные особенности.

3.2. Возбудители НИ.

3.3. Особенности эпидемиологии процессов, вызванных УПМ.

3.4. Что такое госпитальный штамм, условия его формирования, пути попадания к больному.

3.5. Факторы, способствующие развитию НИ. Клинические проявления.

4. **Справочные материалы.**

4.1. **Возможные возбудители госпитальных пневмоний**

Тяжесть заболевания	Факторы риска	Время начала заболевания	Возбудитель
От лёгкой до средней тяжести	Нет	В любое время после поступления в стационар	«Основные» микроорганизмы: <i>Enterobacter</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>Proteus</i> spp., <i>S. marcescens</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>
	Да	В любое время после поступления в стационар	«Основные» микроорганизмы: анаэробы (хирургические вмешательства на органах брюшной полости); <i>S. aureus</i> (травма головы, сахарный диабет); <i>Legionella</i> spp. (лечение гормонами); <i>P. aeruginosa</i> (длительное пребывание в ОРИТ, стероиды, антибиотики)
Тяжёлая форма	Нет	Раннее начало	«Основные» микроорганизмы
		Позднее начало	«Основные» микроорганизмы + <i>Acinetobacter</i> spp., <i>S. aureus</i> (MRSA)
	Да	В любое время после поступления в стационар	«Основные» микроорганизмы + <i>Acinetobacter</i> spp., <i>S. aureus</i> (MRSA)

4.2. **Техника взятия инвазирующих объектов при подозрении на нозокомиальные инфекции.**

4.2.1. **Исследование сосудистых катетеров.**

- Исследуемый материал: периферические и центральные венозные и артериальные катетеры.
- Взятие материала проводится врачом или медицинской сестрой.
- Условия: область вокруг катетера обрабатывают тампоном с 70 %-м спиртом. Асептически катетер извлекают, стерильным инструментом отсекают 5 см дистального конца катетера (находящегося в сосуде) и помещают его в стерильную пробирку. Доставка в лабораторию немедленно.

4.2.2. **Исследование мочевых катетеров.**

- Исследуемый материал: мочевые катетеры. Взятие проводит врач или медицинская сестра.
- Условия: катетер извлекают с остатками мочи; с соблюдением асептики мочу или отсечённую дистальную часть катетера вносят в стерильную пробирку. Доставка в лабораторию немедленно.

4.2.3. **Исследование интубационных трубок.**

- Исследуемый материал: интубационные трубки. Взятие проводит врач или медицинская сестра.
- Условия: извлечённая эндотрахеальная трубка укладывается на стерильный лоток. От её дистального отдела с соблюдением правил асептики отсекается кольцо шириной 3–5 мм и помещается в стерильную посуду. Доставка в лабораторию немедленно.

4.2.4. **Исследование дренажных трубок, зондов из операционных ран.**

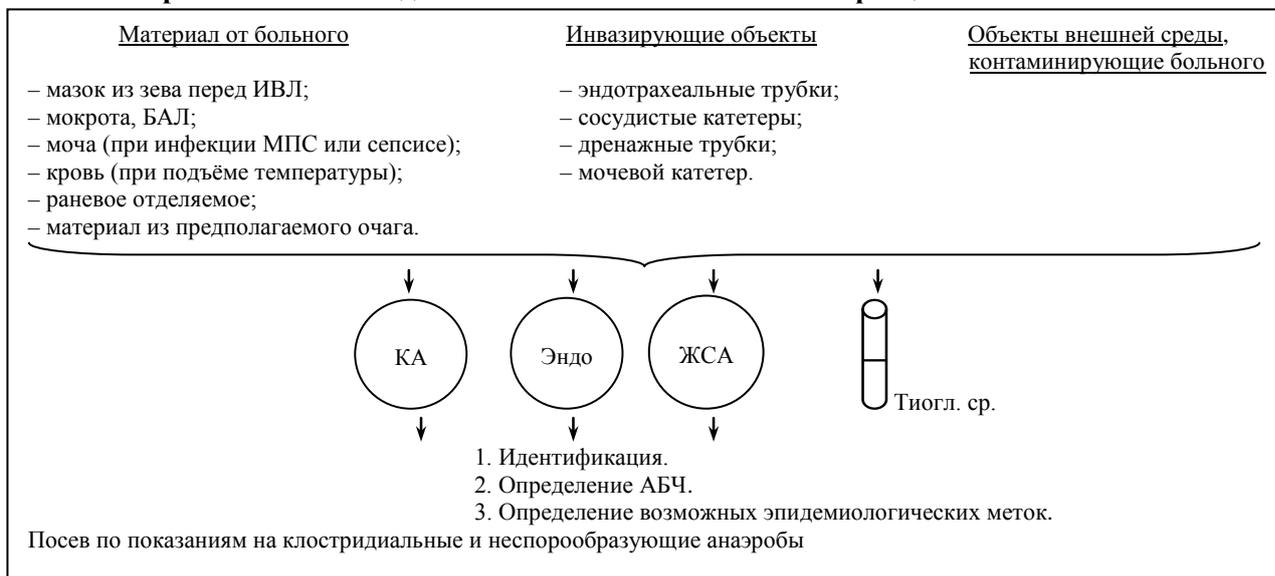
- Взятие проводит врач или медицинская сестра.
- Условия: с соблюдением асептики отсекают приблизительно 3 см дистальной части извлечённого зонда (дренажной трубки) и помещают в стерильную посуду. Доставка в лабораторию немедленно.

4.3. **Выбор питательных сред в зависимости от клинического материала.**

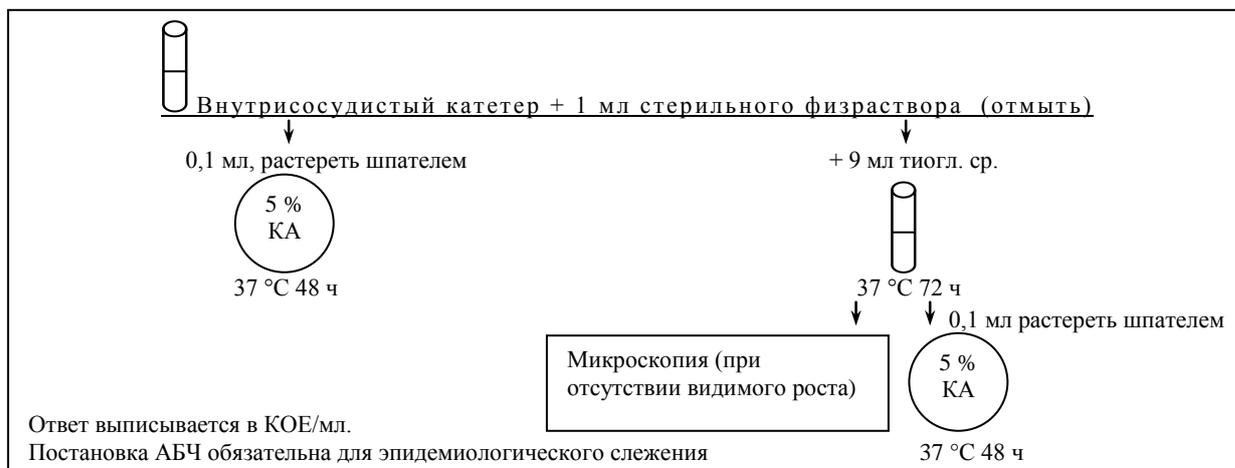
Материал для исследования	Среды для посева	Цель исследования
Раневое отделяемое (гр. ткани)	КА, Эндо, тиогл. ср.	Потенциальный источник гематогенного заноса инфекции

Кровь	Сахарный б-н, тиогл. ср., Сабуро	Возможная причина гематогенного заноса
Мазок из зева (перед подключением ИВЛ)	КА, Эндо, Сабуро	Выделение этиологически значимого возбудителя
БАЛ (отделяемое трубки)	КА, ША, Сабуро	Выделение возбудителя
Моча	КА, Сабуро	Возможная причина поражения МВП, септического состояния

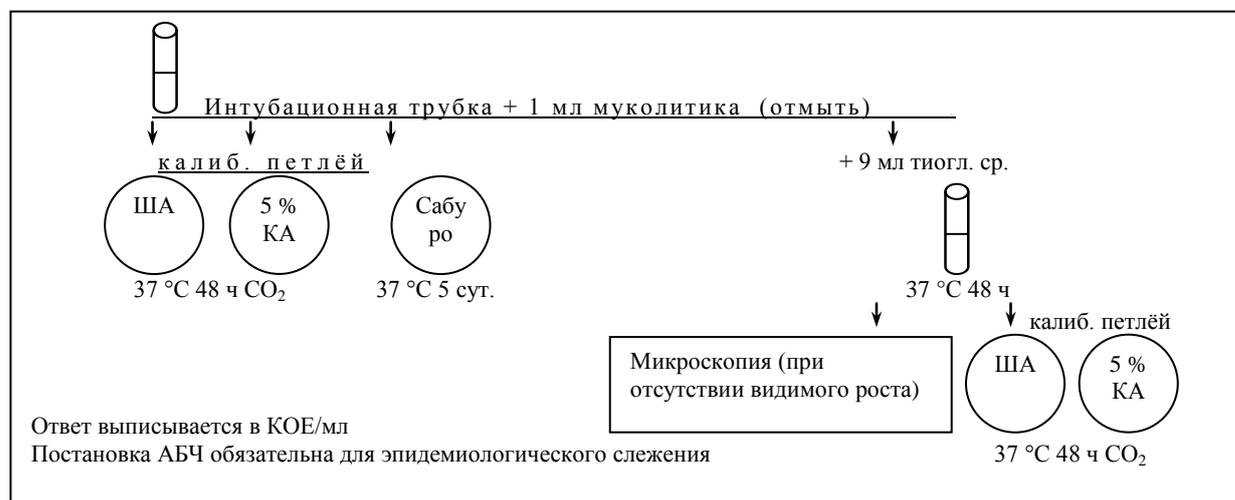
4.4. Схема микробиологической диагностики нозокомиальных инфекций



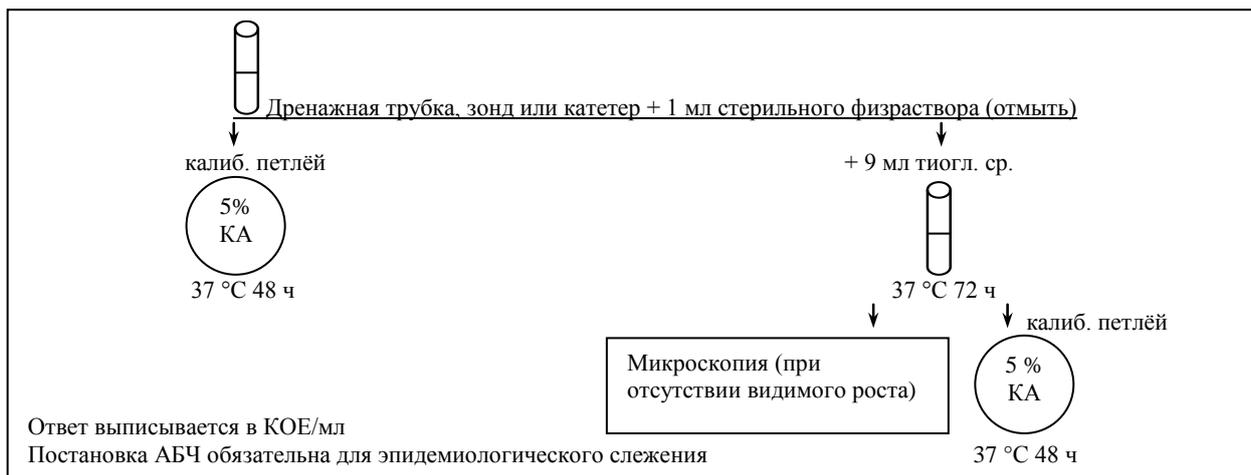
4.5. Схема исследования внутрисосудистых катетеров.



4.6. Схема исследования интубационных трубок.



4.7. Схема исследования дренажных трубок, зондов, мочевых катетеров.

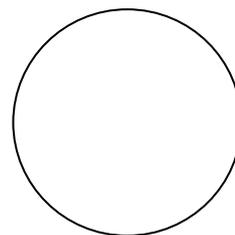


4.8. Алгоритм микробиологического обследования при подозрении на госпитальную пневмонию.

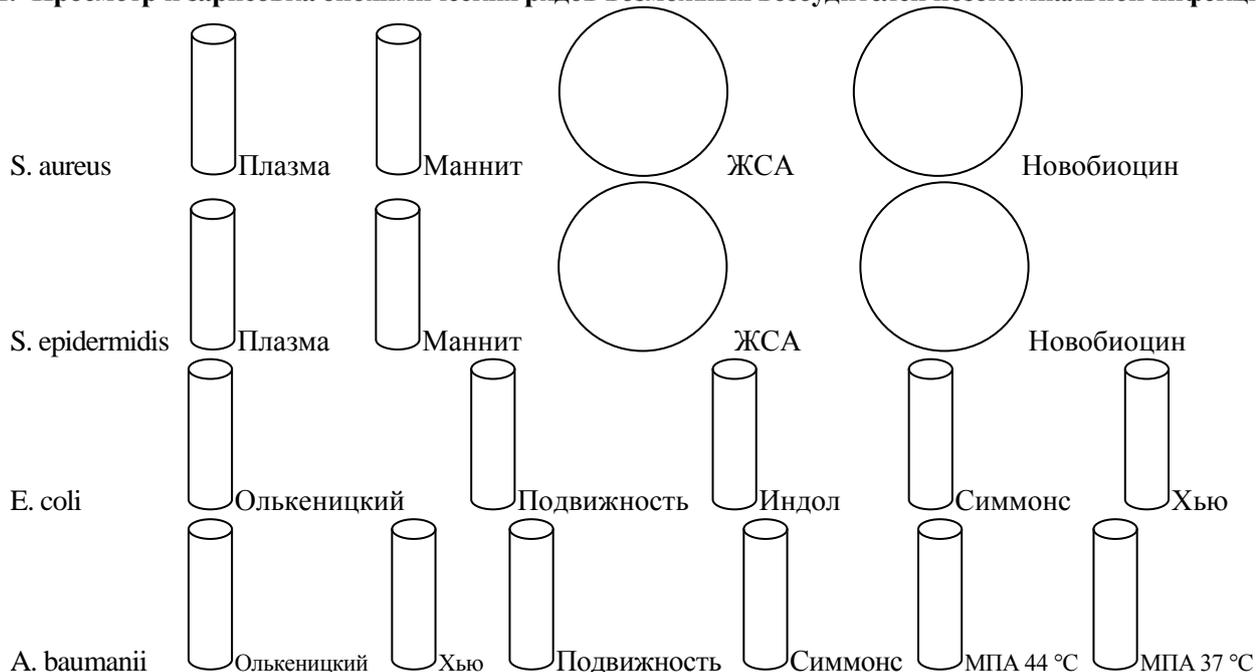
Мазок из зева	→	Перед подключением ИВЛ
Мокрота	→	Этиологическая значимость 10^6-10^5 КОЕ/мл
БАЛ	→	Этиологическая значимость 10^4 КОЕ/мл
Эндотрахеальный секрет	→	Этиологическая значимость 10^4 КОЕ/мл
Защищённые щётки	→	Этиологическая значимость 10^3 КОЕ/мл
Посев крови	→	В 4-8 флаконах из разных вен с интервалом 20 мин
Материал из очага поражения	→	Этиологическая значимость 10^6-10^5 КОЕ/мл
Инвазирующие объекты	→	Сосудистые катетеры, эндотрах. трубки, мочевые катетеры

5. Практическая работа.

5.1. Посев материала (кусочек эндотрахеальной трубки) на питательную среду. Зарисовка схемы посева.



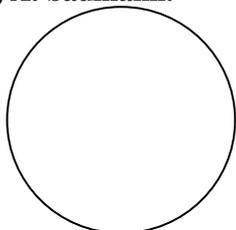
5.2. Просмотр и зарисовка биохимических рядов возможных возбудителей нозокомиальной инфекции.



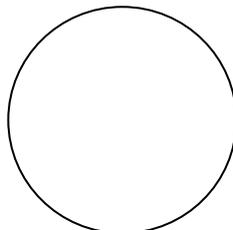
5.3. Определить АБЧ S. aureus, S. epidermidis, E. coli, A. baumannii.

№ штамма	Вид микроорганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм), интерпретация (Ч / У / Р)					
	S. aureus						
	E. coli						
	A. baumannii						

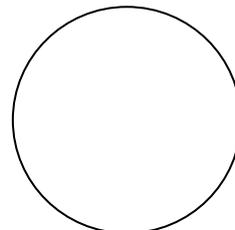
5.4. Просмотреть и зарисовать характер роста культуры при наличии признаков АБР у S. aureus, E. coli, A. baumannii.



Синтез индуцибельных метилаз S. aureus



Синтез БЛРС E.coli



Синтез МБЛ A. baumannii

Лабораторное занятие 14

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ИНФЕКЦИЙ НОВОРОЖДЁННЫХ

1. Цель. Ознакомиться с методами микробиологической диагностики инфекций новорождённых.

2. Задачи:

2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:

- этиология инфекций новорождённых, эпидемиология, патогенез и клиника;
- показания для микробиологического исследования и сроки проведения;
- правила забора материала для исследования и транспортировка;
- схема исследования; непрямые методы микробиологической диагностики.

2.2. Освоить методы выделения и идентификации возбудителей инфекций новорождённых.

2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. Контрольные вопросы:

3.1. Понятие TORCH-инфекций. Возможные возбудители инфекций новорождённых. Эпидемиология.

3.2. Госпитальные инфекции новорождённых: причины; роль бакисследований в профилактике.

3.3. Клиника инфекций новорождённых. Методы микробиологической диагностики.

3.4. Инфекции новорождённых: материал, требования к взятию, доставке, лабораторная диагностика.

4. Справочные материалы.

4.1. Алгоритм обследования новорождённых при подозрении на ВУИ, вызванные возбудителями, которые трудно/невозможно выделить культуральным методом.

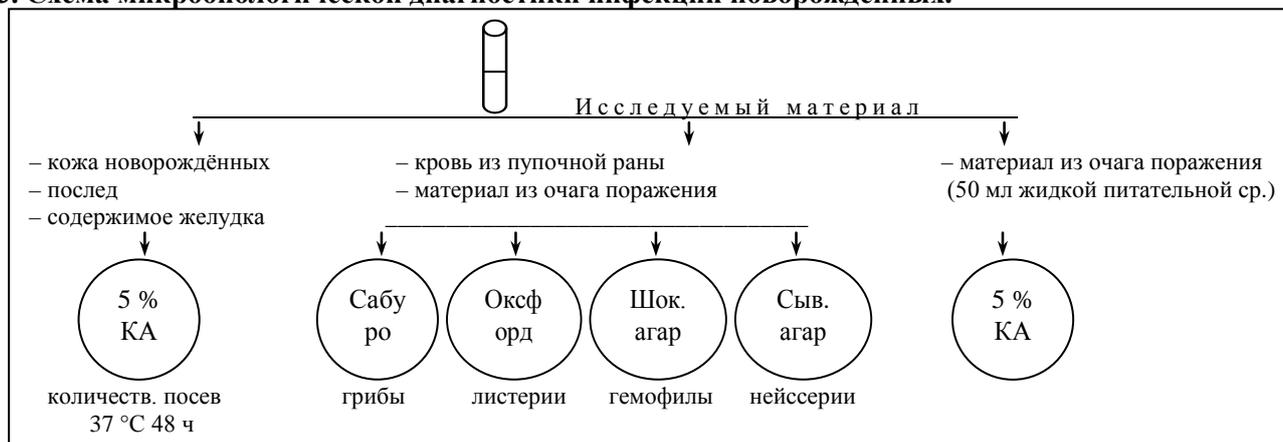
Возбудитель	Материал	Метод исследования
Хламидии	Соскобы с глаз, половых органов, задней стенки глотки, «грязная моча» и др. материал	ПЦР, РИФ, ИФА (обнар. АТ), культуральный метод
Цитомегаловирусы	Соскобы с половых органов, задней стенки глотки, «грязная моча» и др. материал	ПЦР, РИФ, ИФА (обнар. АТ), ИФА (обнар. АГ)
Вирус простого герпеса	Соскобы с глаз, половых органов, задней стенки глотки, «грязная моча» и др. материал	ПЦР, РИФ, ИФА (обнар. АТ), ИФА (обнар. АГ)
Микоплазмы (<i>M. hominis</i> , <i>U. urealyticus</i>)	Соскобы с глаз, половых органов, задней стенки глотки, «грязная моча» и др. материал	ПЦР, РИФ, ИФА (обнар. АГ), культуральный метод
<i>M. pneumoniae</i>	Соскобы из носа, задней стенки глотки, БАЛ	ПЦР, РИФ, культуральный метод
Пневмоцисты	Мокрота, БАЛ	РНИФ, окраска анилиновыми красителями
Токсоплазмы	Ликвор, кровь, отделяемое глаз, др. материал	ПЦР, РИФ, ИФА (обнар. АТ)

4.2. Дифференцирующие признаки видов рода *Listeria*.

Признак	<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. Ivanovii</i>	<i>L. seeligeri</i>	<i>L. innocua</i>	<i>L. wel-shimeri</i>	<i>L. grayi</i>
β-гемолиз	+	+	+	–	–	–
САМР-тест (<i>S. aureus</i>)	+	–	+	–	–	–
САМР-тест (<i>R. equi</i>)	–	+	–	–	–	–
Кислота из: маннита	–	–	–	–	–	+
L-рамнозы	+	–	–	d	d	+
крахмала	–	–	–	–	–	+
D-ксилозы	–	+	+	–	+	–
Гидролиз гиппурата	+	+	–	+	–	–
Восстановление нитрата	–	–	–	–	–	+
Патогенность для человека	Высокая	Нет	Нет	Низкая	Нет	Низкая

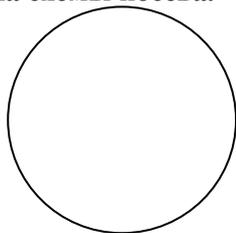
«+» — >90 % штаммов положительные, «–» — >90 % штаммов отрицательные, d — 11–89 % штаммов положительные.

4.3. Схема микробиологической диагностики инфекций новорождённых.



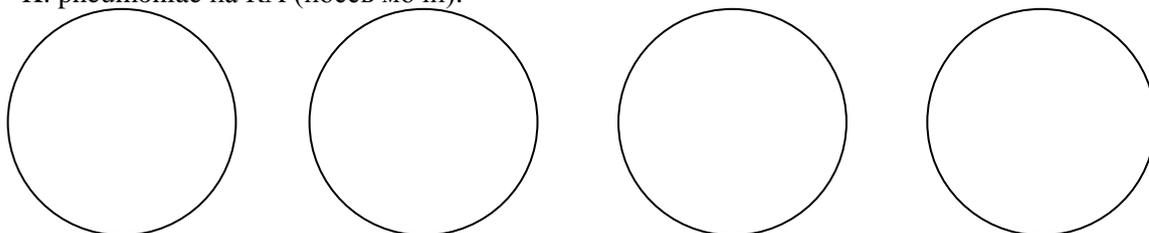
5. Практическая работа.

5.1. Посев материала, взятого с пупочной ранки новорождённого, на КА методом «тампон–петля».
Зарисовка схемы посева.



5.2. Просмотреть и зарисовать характер роста возможных возбудителей инфекций новорождённых:

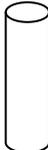
- *L. monocytogenes* на Оксфорд-агаре (посев ликвора);
- *S. agalactiae* на КА (посев крови);
- *C. albicans* на агаре Сабуро (посев с кожи);
- *K. pneumoniae* на КА (посев мочи).



5.3. Просмотреть и зарисовать биохимические ряды отдельных возбудителей.

L. monocytogenes  Каталаза  Маннит  Рамноза  Ксилоза

S. agalactiae  МПБ pH 9,6  МПБ солев.  МПБ желчн.  Метилен. молоко

K. pneumoniae  Олькеницкий  Индол  Симмонс  Подвижность  Хью

C. albicans

C. Neg	Glu. Mal. Sac.	Gal. Lac. Raf.	Ino. Cel. Tre.	Ado. Mel. Xyl.	Ara. Hex. Pox/Pro
○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○	○ ○ ○
	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4	1 2 4
	○	○	○	○	○

Вид _____

Лабораторное занятие 15
ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ УПБ
ДИСКО-ДИФФУЗИОННЫМ МЕТОДОМ

1. Цель. Ознакомиться с диско-диффузионным методом определения АБЧ УПБ.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия:
- показания для определения АБЧ диско-диффузионным методом;
 - требования к бактериальной культуре;
 - этапы теста на АБЧ;
 - условия инкубации инокулированных чашек;
 - учёт результатов и интерпретация.
- 2.2. Освоить этапы диско-диффузионного метода определения АБЧ.
- 2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Понятие об антибиотикограмме.
- 3.2. Методы определения чувствительности к АБ.
- 3.3. Возможные причины несовпадения АБЧ и клинической эффективности антибиотика.
- 3.4. Диско-диффузионный метод определения чувствительности к АБ. Этапы анализа, возможные причины получения недостоверного результата на каждом этапе.
- 3.5. Принципы подбора дисков при определении АБЧ по группам микроорганизмов.
- 3.6. Понятие микробиологического мониторинга. Роль бактериолога в проведении мониторингования.

4. справочные материалы.

4.1. Варианты формирования набора антибиотиков для определения АБЧ.

Группа	Основные препараты (1-й ряд)	Дополнительные препараты (2-й ряд)	Примечание
Enterobacteriaceae (внекишечные инфекции)	Ампициллин (= амоксициллин) Амоксициллин/клавуланат (= ампициллин/сульбактам) Цефтриаксон Цефтазидим Гентамицин (≠ другие АГ) Левифлоксацин	Эртапенем Цефепим Цефокситин Амикацин	Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Morganella, Providencia spp. могут в ходе монотерапии ЦФ 3 развить У
Enterobacteriaceae (кишечные инфекции)	Цефотаксим или цефтриаксон Хлорамфеникол Тетрациклины		
Enterobacteriaceae (инфекции МВП внегоспитальные)	Ампициллин Амоксициллин/клавуланат Ко-тримоксазол Левифлоксацин	Фосфомицин Нитрофурантоин Цефуроксим Цефотаксим или цефтриаксон Амикацин	
Pseudomonas spp.	Цефтазидим Цефепим Гентамицин и амикацин Ципрофлоксацин Меропенем и имипенем	Азтреонам и цефоперазон	Редкие виды НГОБ: индивидуальный подход
Acinetobacter spp.	Цефепим Гентамицин и амикацин Ципрофлоксацин Меропенем и имипенем		
Staphylococcus spp.	Цефокситин (скрининг на все β-лактамы) Гентамицин (≠ другие АГ) Эритромицин Клиндамицин Норфлоксацин (скрининг ФХ)	Линезолид (для MRS, vanR) Ко-тримоксазол Рифампицин Фузидиевая кислота Хлорамфеникол Тетрациклины	
Enterococcus spp.	Ампициллин Гентамицин Ванкомицин Линезолид Норфлоксацин (скрининг ФХ)	Тетрациклины Хлорамфеникол Эритромицин Рифампицин для vanR	При инфекциях МВП: ампициллин; ФХ; ТЕТ; нитрофурантоины; фосфомицин

4.6. Зоны задержки роста для некоторых УПМ в отношении отдельных АБ.

Вид или группа УПМ	АБ и интервалы ЗЗР для интерпретации					
	Ампициллин	Цефотаксим	Цефтазидим	Амоксицилин	Левифлоксацин	Амикацин
Enterobacteriaceae	Ч ≥ 14 Р < 14	Ч ≥ 20 Р < 17	Ч ≥ 23 Р < 23	Ч ≥ 19 Р < 19	Ч ≥ 22 Р < 19	Ч ≥ 16 Р < 13
Pseudomonas spp.	Цефтазидим Ч ≥ 16 Р < 16	Цефепим Ч ≥ 19 Р < 19	Имипенем Ч ≥ 20 Р < 17	Меропенем Ч ≥ 24 Р < 18	Левифлоксацин Ч ≥ 20 Р < 17	Амикацин Ч ≥ 18 Р < 15
Acinetobacter spp.	Цефепим Ч > 18 Р < 15	Имипенем Ч ≥ 23 Р < 17	Меропенем Ч ≥ 21 Р < 15	Левифлоксацин Ч ≥ 21 Р < 18		
S. aureus	Цефокситин Ч ≥ 22 Р < 22	Норфлоксацин Ч ≥ 22 Р < 19	Амикацин Ч ≥ 18 Р < 16	Эритромицин Ч ≥ 21 Р < 18	Клиндамицин Ч ≥ 22 Р < 19	
Enterococcus spp.	Ампициллин Ч ≥ 10 Р < 8	Гентамицин Ч ≥ 8 Р < 8	Норфлоксацин Ч ≥ 12 Р < 12	Ванкомицин Ч ≥ 12 Р < 12	Линезолид Ч > 19 Р > 19	
S. pyogenes	Бензилпенициллин Ч ≥ 18 Р < 18	Эритромицин Ч ≥ 21 Р < 18	Клиндамицин Ч ≥ 17 Р < 17			
Candida spp.	Амфотерицин В Ч > 10 Р < 10	Нистатин Ч > 10 Р < 10	Имидазолы Ч > 20 > 10			

4.7. Этапы контроля качества среды для определения АБЧ микроорганизмов.

- Контроль качества референс-штаммов: контроль чистоты тест-культуры; проверка свойств культуры после хранения.
- Контроль питательной среды: стерильность среды; ростовые качества; концентрация тимицина, тимидина; уровень двухвалентных ионов.
- Контроль качества дисков: «входной» контроль; проверка качества дисков после хранения.
- Контроль проведения исследования: соответствие концентрации по 0,5 McFarland; интегральный контроль качества.

4.8. Примеры референс-штаммов, используемые для контроля качества ДДМ:

- Escherichia coli ATCC 25922;
- Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853;
- Staphylococcus aureus ATCC 29213;
- Enterococcus faecalis ATCC 29212;
- Streptococcus pneumoniae ATCC 49619;
- Haemophilus influenzae NCT 8468;
- Campylobacter jejuni ATCC 33560.

4.9. Схема исследования ростовых свойств питательных сред для определения АБЧ



4.10. Причины получения неправильных результатов при тестировании контрольных штаммов.

Причина	Меньшие зоны задержки роста	Большие зоны подавления роста
Инокулюм	Избыточная плотность	Недостаточная плотность
Диски с антибиотиками	Недостаточное содержание антибиотика в диске вследствие исходно плохого качества или разрушения антибиотика при неправильном хранении и использовании дисков	Избыточное содержание антибиотика в диске

Причина	Меньшие зоны задержки роста	Большие зоны подавления роста
Возраст культур		«Старая» культура, содержащая мало жизнеспособных бактериальных клеток
Плотность агара		Агар недостаточно плотный
Влажность агара	Агар пересушен	Слишком влажный агар
Толщина агара	>6 мм	< 3 мм
Кислая среда (pH<7,0)	Аминогликозиды, макролиды, линкомицин	Тетрациклин, метициллин, клоксациллин, фузидин
Щелочная среда (pH>7,0)	Тетрациклин, метициллин, клоксациллин, фузидин	Аминогликозиды, макролиды, линкомицин
Избыточное содержание Ca ²⁺ , Mg ²⁺	Аминогликозиды, тетрациклины, особенно при тестировании <i>P. aeruginosa</i> и <i>Pseudomonas</i> spp.	
Избыточное содержание Zn ²⁺ , Ni ²⁺	Карбапенемы	
Избыточное содержание тимина и тимидина	Сульфаниламиды и триметоприм	
Инкубация в CO ₂ -инкубаторе	Аминогликозиды, макролиды, линкомицин при тестировании некапнофильных микроорганизмов	Тетрациклин, метициллин, клоксациллин, фузидин при тестировании некапнофильных микроорганизмов
Обогащение агара кровью	При тестировании нетребовательных бактерий	
Использование цитратной крови		При тестировании стрептококков

5. Практическая работа.

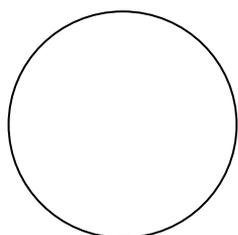
5.1. Приготовление суспензии суточной культуры микроорганизма в концентрации 0,5 McFarland.

5.2. Нанесение на поверхность агара инокулята, затем дисков с антибиотиками.

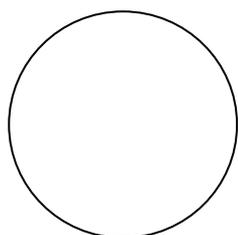
5.3. Учёт результатов диско-диффузионного метода и интерпретация АБЧ.

№ штамма	Вид микроорганизма	Название АБ, диаметр ЗЗР (мм), интерпретация (Ч / У / Р)					
	<i>S. aureus</i>						
	<i>E. faecalis</i>						
	<i>E. coli</i>						
	<i>P. aeruginosa</i>						

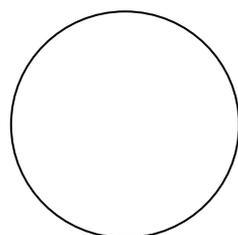
5.4. Просмотр и зарисовка характера роста отдельных видов УПБ при постановке теста на АБЧ.



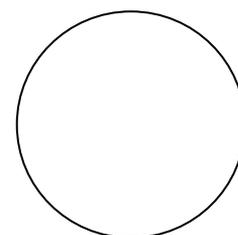
S. aureus



E. faecalis



E. coli



P. aeruginosa

Лабораторное занятие 16
ДЕТЕКЦИЯ БЛРС У ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И МБЛ У НГОБ

1. Цель. Ознакомиться с методами детекции устойчивости к β-лактамам у энтеробактерий и НГОБ.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения об АБР энтеробактерий:
 - формы устойчивости к β-лактамам у энтеробактерий;
 - причины необходимости использования дополнительных методов определения АБР у энтеробактерий;
 - показания для постановки теста на БЛРС;
 - методы определения БЛРС.
- 2.2. Освоить фенотипические методы детекции БЛРС у энтеробактерий.
- 2.3. Усвоить краткие сведения об АБР НГОБ:
 - формы устойчивости к β-лактамам у НГОБ;
 - значение методов выявления АБР у НГОБ;
 - показания для постановки теста на МБЛ;
 - методы определения МБЛ.
- 2.4. Освоить фенотипические методы детекции МБЛ у НГОБ.
- 2.5. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

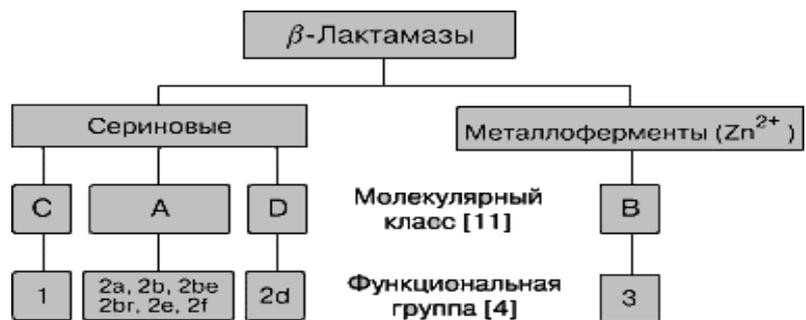
3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Понятие антибиотикорезистентности микроорганизмов.
- 3.2. Формы АБР у бактерий по генетическому признаку.
- 3.3. Формы АБР по времени проявления, специфичности, числу механизмов.
- 3.4. Механизм устойчивости, связанный с синтезом β-лактамаз. Общая характеристика β-лактамаз.
- 3.5. Характеристика природных и приобретённых β-лактамаз энтеробактерий.
- 3.6. Характеристика природных и приобретённых β-лактамаз НГОБ.
- 3.7. β-лактамазы остальных УПМ.
- 3.8. Устойчивость к β-лактамам, обусловленная изменением проницаемости внешних структур микробной клетки, эфлюксом.
- 3.9. Резистентность, связанная с изменением структуры «мишени».

4. Справочные материалы.

4.1. Свойства β-лактамаз:

- Молекулярная структура (класс А, В, С, D).
- Субстратная специфичность (группа 1, 2a, 2b, 2be, 2br, 2e, 2f, 2d, 3).
- Чувствительность к ингибиторам (клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам, ЭДТА).
- Локализация кодирующих генов (хромосома, плазмида, транспозон).
- Тип экспрессии (конститутивный, индуцибельный).
- Генетический механизм (природный, приобретённый).



4.2. Природные β-лактамазы энтеробактерий.

Вид	β-лактамаза	Мол. класс	Функ. группа	Типичная экспрессия	Резистентность при различных режимах продукции	
					Типичная	Гиперпродукция
Salmonella spp., P. mirabilis	–	–	–	–	–	–
E. coli, Shigella spp.	AmpC	C	1	Нет или ↓	–	АминоПЕН±ИНГ, ЦС 1-3, цефокситин
Enterobacter spp.	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН ±ИНГ, ЦС 1, цефокситин	Амино, уреидо, карбокси ПЕН ±ИНГ, ЦС 1-3, цефокситин
Citrobacter freundii	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН ±ИНГ, ЦС 1, цефокситин	Амино, уреидо, карбокси ПЕН ±ИНГ, ЦС 1-3, цефокситин
Morganella morganii	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН ±ИНГ, ЦС 1	Амино, карбокси ПЕН±ИНГ, ЦС 1-3, цефокситин

Вид	β-лактамаза	Мол. класс	Функ. группа	Типичная экспрессия	Резистентность при различных режимах продукции	
					Типичная	Гиперпродукция
<i>Providencia</i> spp.	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН ±ИНГ, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН ±ИНГ, ЦС 1-3
<i>Serratia</i> spp.	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН ±ИНГ, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН ±ИНГ, ЦС 1-3
<i>Citrobacter diversus</i>	CITDI	A	2e	Инд	АминоПЕН, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН, ЦС 1, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон
<i>Proteus vulgaris</i>	CumA	A	2e	Инд	АминоПЕН, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН, ЦС 1, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон
<i>Proteus penneri</i>	HugA	A	2e	Инд	АминоПЕН, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН, ЦС 1, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон
<i>Klebsiella oxytoca</i>	OXY	A	2be	Конс	Амино, карбоксиПЕН, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН±ИНГ, ЦС 1, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон, МОН
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV-1, ОКР, LEN	A	2b	Конс	Амино, карбоксиПЕН, ЦС 1	Амино, уреидо, карбокси ПЕН, ЦС

4.3. Приобретённые β-лактамазы энтеробактерий.

Вид	β-лактамаза	Общее название	Класс/ группа	Ч к ИНГ	Ч к ЭДТА	Субстрат
Энтеробактерии	AmpC	β-лактамазы широкого спектра	C/ 1	–	–	АминоПЕН, ИНГ, ЦС 1-3, цефокситин
	TEM-1, TEM-2, SHV-1	БЛРС	A/ 2be	+	–	ПЕН, ЦС 1-4, МОН
	CTX-M		A/ 2be			

4.4. Показания для исследования антибиотикорезистентности:

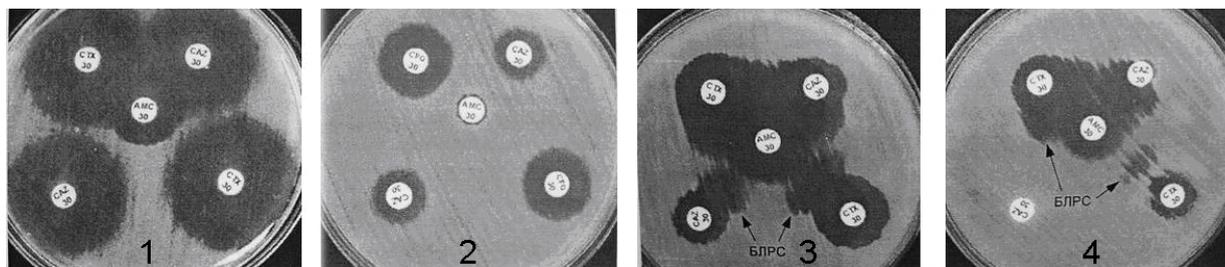
- все нозокомиальные штаммы *Klebsiella* spp. и *E. coli*;
- любые штаммы энтеробактерий, которые по данным предварительного тестирования проявляют пониженную чувствительность к одному из цефалоспоринов III поколения;
- неэффективность антибиотикотерапии.

4.5. Метод двойных дисков (МУК, 2004).

- Контроль качества: отрицательный *E. coli* ATCC 25922, положительный *K. pneumoniae* ATCC 700603.
- Диски: амоксициллин/клавуланат и один из ЦС III (цефтазидим, цефотаксим):
 - *Enterobacter*, *Serratia* spp., *S. freundii*, *M. morgani*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*: диск с цефепимом или цефпиромом;
 - *P. vulgaris*, *P. penneri*, *C. diversus*: диски с цефтазидимом и азтреонамом;
 - *K. oxytoca*: диск с цефтазидимом;
 - *E. cloacae*: для высокорезистентных штаммов расстояние между дисками уменьшают до 15 мм;
 - *P. mirabilis*: для «чувствительных» штаммов расстояние между дисками увеличивают до 35 мм.
- По центру — диск с амоксиклавом, вокруг на расстоянии 20 и 30 мм — диски с цефтазидимом и цефотаксимом.
- Инкубация: 35 °С, аэробно, 18–20 ч.



- Интерпретация: исследуемый штамм синтезирует БЛРС, если ЗЗР вокруг диска с цефалоспорином «вытянута» в сторону диска с амоксициллином/клавуланатом.



Возможные варианты результатов детекции МБЛ
(1 — отрицательный — нет продукции β -лактамаз; 2 — гиперпродукция AmpC; 3 и 4 — положительный)

4.6. Природные β -лактамазы неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов.

Вид	β -лактамаза	Мол. класс	Функ. Группа	Типичная экспрессия	Резистентность при различных режимах продукции	
					Типичная	Гиперпродукция
<i>P. aeruginosa</i>	AmpC	C	1	Инд	АминоПЕН±ИНГ, ЦС 1	Карбокси, уреидоПЕН ± ИНГ, ЦС 1-3
	OXA-50	D	2d	Конс	КАРБ	
<i>Acinetobacter</i> spp.	ABA-1			Инд		
	OXA-51, OXA-69	D				КАРБ
<i>S. maltophilia</i>	L-1	B	3		β -лактамы, кроме тикарциллина, азтреонама	
	L-2	A	2e		ПЕН, ЦС 1-3, азтр	
<i>S. maltophilia</i> , <i>Chryseobacterium meningosepticum</i>	VIM, IMP, SPM, GIM, SIM	B	3		ПЕН, ЦС 1-4, КАРБ	

4.7. Приобретённые β -лактамазы неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов.

Вид	β -лактамаза	Общее название	Класс/ группа	Чув-ть к ИНГ	Чув-ть к ЭДТА	Субстрат
<i>P. aeruginosa</i>	PSE2	БЛРС	D/ 2d	+/-	-	ПЕН, клоксациллин
<i>P. aeruginosa</i> , реже у других НГОБ	VIM, IMP, SPM, GIM, SIM	МБЛ	B/ 3	-	+	ПЕН, ЦС, КАРБ

4.8. Показания для исследования антибиотикорезистентности:

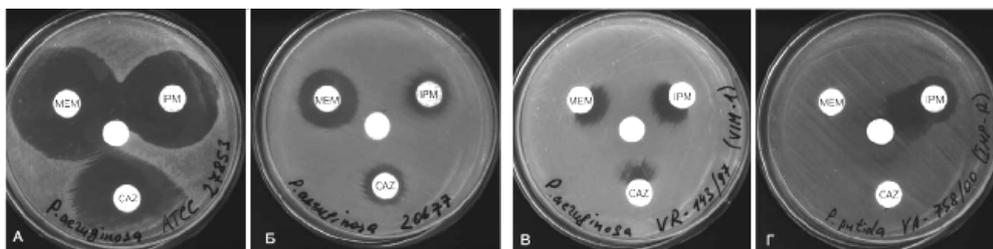
- все нозокомиальные штаммы *Pseudomonas* и *Acinetobacter* spp.;
- штаммы НГОБ, которые по данным предварительного тестирования проявляют пониженную чувствительность к одному из цефалоспоринов III поколения;
- неэффективность антибиотикотерапии.

4.9. Метод «двойных дисков с ЭДТА».

- Контроль качества: отрицательный *P. aeruginosa* ATCC 27853; положительный *P. aeruginosa* VR-143/97 (VIM 1), *P. aeruginosa* 565 (VIM-2), *P. aeruginosa* 010 (VIM 10) и др.
- Диски — имипенем, меропенем, цефтазидим, ЭДТА (5 мкл 0,5 М р-ра с рН 8,0).
- По центру — диск с ЭДТА, вокруг него на расстоянии 15 мм — диски с антибиотиками.



- Инкубация: 35 °С, аэриобиоз, 16–18 ч.
- Интерпретация: наличие расширения зоны задержки роста между диском с ЭДТА и диском с имипенемом/меропенемом свидетельствует о продукции МБЛ.



Возможные варианты результатов детекции МБЛ
(А, Б — отрицательный результат; В, Г — положительный — продукция МБЛ)

4.10. Приобретённые β-лактамазы других грамотрицательных бактерий.

Род	Название β-лактамазы	Чувствительность к ИНГ	Чувствительность к ЭДТА	Субстрат	Метод обнаружения
<i>Neisseria</i> spp.	TEM-1	+	–	ПЕН	Нитрицифиновый тест
<i>Haemophilus</i> spp.	TEM-1, реже ROB-1	+	–	ПЕН	Нитрицифиновый тест

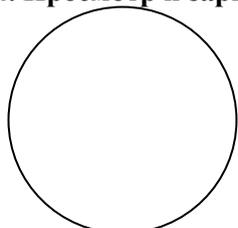
5. Практическая работа.

5.1. Постановка теста на детекцию БЛРС у *E. coli* методом «двойных дисков».

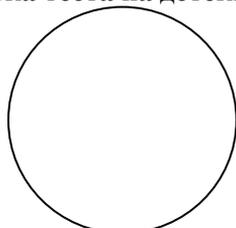
5.2. Постановка теста на детекцию МБЛ у *P. aeruginosa* на агаре.

5.3. Учёт результатов теста на детекцию БЛРС и МБЛ на предложенных чашках.

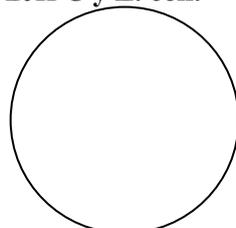
5.4. Просмотр и зарисовка теста на детекцию БЛРС у *E. coli*.



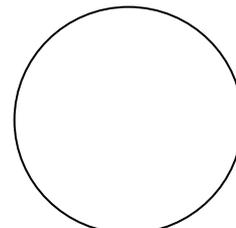
E. coli (БЛРС +)



E. coli (AmpC +)

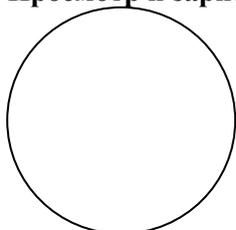


E. coli ATCC 2522 (K –)

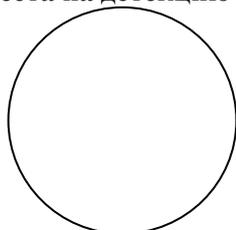


K. pneumonia ATCC 700603 (K +)

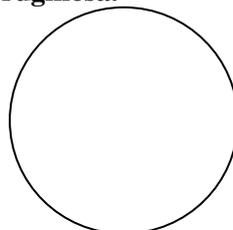
5.5. Просмотр и зарисовка теста на детекцию МБЛ у *P. aeruginosa*.



P. aeruginosa (МБЛ +)



P. aeruginosa ATCC 27853 (K –)



P. aeruginosa VR-143/97 (K +)

Лабораторное занятие 17
ДЕТЕКЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К β -ЛАКТАМАМ, МАКРОЛИДАМ
И ЛИНКОЗАМИДАМ У ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ КОККОВ

1. Цель. Ознакомиться с методами детекции резистентности к β -лактамам, макролидам и линкозамидам у стафилококков и стрептококков.

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения об АБР стафило-, стрепто-, энтерококков:
- природные и приобретённые механизмы устойчивости к антибиотикам;
 - резистентность к β -лактамам у стафилококков, обусловленная синтезом β -лактамаз и ПСБ2а;
 - фенотипические методы детекции резистентности к β -лактамам у стафилококков;
 - механизмы резистентности к β -лактамам у стрептококков, энтерококков;
 - механизмы резистентности к макролидам и линкозамидам стафилококков;
 - механизмы резистентности к макролидам и линкозамидам у стрептококков и энтерококков.
- 2.2. Освоить метод детекции синтеза индуцибельных метилаз у стафилококков.
- 2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Понятие и типы антибиотикорезистентности микроорганизмов.
- 3.2. АБ активные в отношении грамположительных кокков.
- 3.3. Природная резистентность к антибиотикам у грамположительных кокков.
- 3.4. Механизмы приобретённой устойчивости к β -лактамам у стафилококков, стрептококков.
- 3.5. Механизмы приобретённой резистентности к макролидам и линкозамидам у грамположительных кокков.

4. Справочные материалы.

4.1. Типы АБР микроорганизмов:

- по наличию/отсутствию генов резистентности: негенетически, генетически обусловленная;
- по генетическому признаку: природная, приобретённая;
- по биохимическому механизму: изменение проницаемости внешних структур микробной клетки; активное выведение антибиотика из клетки (эффлюкс); ферментативная инактивация антибиотика; изменение структуры мишени; формирование метаболического «шунта»;
- по времени проявления: первичная; вторичная;
- по специфичности: специфическая; перекрёстная (полная; частичная);
- по числу механизмов: единичная; множественная.

4.2. Природная чувствительность и устойчивость к АБ у грамположительных кокков.

Микроорганизмы	АБ, к которым микроорганизм природно чувствителен	АБ, к которым микроорганизм природно устойчив	
		АБ	Механизм
Staphylococcus spp.	Пенициллин, оксациллин, КАРБ, АГ, ФХ, МАК, ЛИН, ТЕТ, ГП, линезолид, ко-тримоксазол, фузидин, рифампицин, хлорамфеникол	–	
Enterococcus faecalis	ПЕН, аминок-ПЕН, уреидо-ПЕН, карб-ПЕН, КАРБ, АГ, МАК, ФХ, ГП, линезолид, хлорамфеникол, рифампицин, ко-тримоксазол, нитрофурантоин	ЦС	Синтез цефалоспориноз
Enterococcus faecium	ГП, линезолид	ЦС	Синтез цефалоспориноз
		АГ	1 — факульт.-анаэроб. тип дыхания, 2 — низкая проницаемость внешних структур
Streptococcus spp.	ПЕН, ЦС 1-4, КАРБ, ФХ, ТЕТ, МАК, ГП, линезолид, ЛИН, хлорамфеникол, рифампицин, ко-тримоксазол, фузидин, нитрофурантоин	АГ	1 — факульт.-анаэроб. тип дыхания, 2 — низкая проницаемость внешних структур
Streptococcus pneumoniae	Пенициллин, аминок-ПЕН, КАРБ, ЦС, ФХ, МАК, ЛИН, ГП, линезолид, ко-тримоксазол	АГ	1 — факульт.-анаэроб. тип дыхания, 2 — низкая проницаемость внешних структур

4.3. Приобретённая устойчивость к β -лактамам у грамположительных кокков.

Микроорганизм	Группа АБ	Механизм	Кодирующий ген/продукт	Тип экспрессии ферментов	АБ, к которым проявляется У	АБ, к которым проявляется Ч
Staphylococcus spp. (S. aureus, S. epidermidis)	β -лактамы	Ферментативная инактивация		Индук.	ПЕН, кроме оксациллина	Остальные β -лактамы +ИНГ
		Модификация мишени	Комплекс SCCmec IV типа/ ПСБ		β -лактамы	–
			Комплекс SCCmec I–III типа/ ПСБ2а		β -лактамы + АГ, МАК, ТЕТ или ФХ	–

Микроорганизм	Группа АБ	Механизм	Кодирующий ген/ продукт	Тип экспрессии ферментов	АБ, к которым проявляется У	АБ, к которым проявляется Ч
<i>Streptococcus</i> spp. (<i>S. pneumoniae</i>)	β-лактамы	Модификация мишени	/ ПСБ		ПЕН, ЦС 1-2	ЦС 3-4, КАРБ
<i>Enterococcus</i> spp. (<i>E. faecium</i>)	β-лактамы	Ферментативная инактивация	β-лактамазы		ПЕН	Защищённые ПЕН
		Модификация мишени	/Увеличение синтеза ПСБ5		β-лактамы	–

SCCmec— staphylococcal cassette chromosome (стафилококковая хромосомная кассета mec), в состав которой входит mecA — структурный ген, кодирующий синтез дополнительного ПСБ2а; mecI и mecR1 — регуляторные элементы, контролирующие транскрипцию mecA; mec-ассоциированная ДНК.

4.4. Методы детекции β-лактамаз у стафилококков.

- Фенотипические методы: ДДМ с использованием дисков с пенициллином и оксациллином.
- Другие методы: тест с нитроцефином (изменение цвета с жёлтого на ярко-красный).

4.5. Методы детекции метициллинрезистентности у стафилококков.

- Фенотипические методы: тест с использованием диска с цефокситином.
- Молекулярно-генетические методы:
 - ПЦР (детекция mecA, чувствительность 93 %, специфичность 90 %);
 - анализ плазмидного профиля;
 - анализ хромосомной ДНК с использованием Саузерн-блоттинга;
 - анализ хромосомной ДНК методом гель-электрофореза в пульсирующем электрическом поле;
 - амплификация произвольных участков генома в условиях нестрогого связывания праймеров;
 - ПЦР повторяющихся палиндромных межгенных последовательностей;
 - мультилокусное секвенирование.

4.6. Методы детекции индуцибельных метилаз.

ДДМ с дисками эритромицина и клиндамицина, расположенных на расстоянии 20 мм.

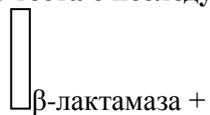
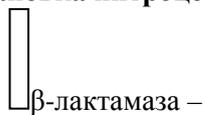
4.7. Приобретённая АБР к β-лактамам, макролидам и линкозамидам у грамположительных кокков.

Микроорганизм	Группа АБ	Механизм	Кодирующий ген/ продукт	Тип экспрессии ферментов	АБ, к которым проявляется резистентность	АБ, к которым проявляется чувствительность	Примечание
<i>Staphylococcus</i> spp.	β-лактамы	Ферментативная инактивация		Индук.	ПЕН, кроме оксациллина и ИНГ	Остальные β-лактамы	
		Модификация мишени	Комплекс SCC-mec IV типа/ ПСБ		β-лактамы	–	
			Комплекс SCC-mec I–III типа/ ПСБ2а		β-лактамы и др. группы АБ	–	Др. группы: АГ, МАК, ТЕТ, ФХ
	МАК, ЛИН	Модификация мишени	erm/ метилаза	Констит. Индук.	МАК, ЛИН	–	
		Эффлюкс	mef		14, 15 МАК	16 МАК, ЛИН	P in vivo МАК и ЛИН
	msr			МАК	ЛИН	P in vivo к 14, 15 МАК	
<i>Streptococcus</i> spp.	МАК, ЛИН	Модификация мишени	erm/ метилаза	Констит. Индук.	МАК, ЛИН	–	
		Эффлюкс	mef		14-, 15 МАК	16 МАК, ЛИН	in vivo P к 14, 15 МАК
<i>Enterococcus</i> spp.	β-лактамы	Ферментативная инактивация	β-лактамазы		ПЕН	Защищённые ПЕН	
		Модификация мишени	/Увеличение синтеза ПСБ5		β-лактамы	–	
	МАК, ЛИН		erm/ метилаза	Констит. Индук.	МАК, ЛИН	–	
		Эффлюкс	mef		14-, 15 МАК	16 МАК, ЛИН	
	msr			МАК	ЛИН		

SCCmec — staphylococcal cassette chromosome (стафилококковая хромосомная кассета mec), в состав которой входит mecA — структурный ген, кодирующий синтез дополнительного ПСБ2а; mecI и mecR1 — регуляторные элементы, контролирующие транскрипцию mecA; mec-ассоциированная ДНК.

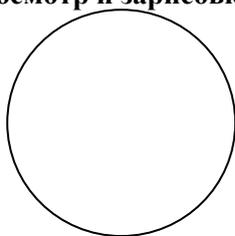
5. Практическая работа.

5.1. Постановка нитроцефинового теста с исследуемой культурой стафилококка.

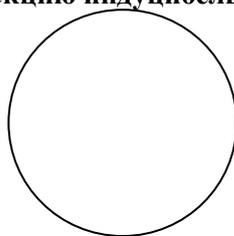


5.2. Постановка теста на детекцию индуцибельных метилаз у стафилококков.

5.3. Просмотр и зарисовка теста на детекцию индуцибельных метилаз у стафилококков.



S. aureus (метилаза +)



S. aureus (метилаза –)

Лабораторное занятие 18

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА СПИД-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ

1. Цель. Ознакомиться с методами микробиологической диагностики СПИД-ассоциированных инфекций (токсоплазмоз, легионеллёз, криптоспоридиоз, криптококкоз, пневмоцистоз).

2. Задачи:

- 2.1. Усвоить краткие сведения по теме занятия: характеристика возможных возбудителей; характер исследуемого материала; алгоритм обследования.
- 2.2. Освоить методы выделения и идентификации возбудителей.
- 2.3. Просмотреть, зарисовать демонстрационные препараты.

3. Контрольные вопросы:

- 3.1. Причины развития оппортунистических инфекций у ВИЧ-инфицированных.
- 3.2. Лабораторная диагностика оппортунистических и СПИД-ассоциированных заболеваний.
- 3.3. Алгоритм бакобследования ВИЧ-инфицированных при различных клинических синдромах.
- 3.4. Значение токсоплазм у ВИЧ-инфицированных. Методы диагностики.
- 3.5. Легионеллёз: эпидемиология, патогенез, клиника; диагностика.
- 3.6. Криптоспоридиоз: классификация возбудителя; пути проникновения, цикл развития. Механизм самозаражения. Клиника. Материал для исследования, лабораторная диагностика.
- 3.7. Пневмоцистоз: морфология возбудителя, цикл развития. Эпидемиология; патогенез; распространённость у ВИЧ-инфицированных. Методы лабораторной диагностики.
- 3.8. Криптококки: классификация, морфология, культуральные особенности; экология. Клиника. Материал для исследования, лабораторная диагностика.

4. Справочный материал.

4.1. Классификация возбудителей СПИД-индикаторных инфекций.

Простейшие	Грибы	Бактерии	Вирусы
Toxoplasma gondii Isospora belli Cryptosporidium spp. Pneumocystis carinii	Candida albicans Cryptococcus neoformans Histoplasma capsulatum Coccidioides immitis	Salmonella spp. Mycobacterium avium complex Mycobacterium tuberculosis	Herpes simplex Cytomegalovirus

4.2. Возбудители наиболее типичных поражений у больных ВИЧ-инфекцией.

Поражение	Простейшие	Вирусы	Бактерии	Грибы
Лёгкие	Пневмоцисты	ЦМВ, ВПГ	Микобактерии, грам+ стрептококки, гемофилы	Кандиды, криптококки
ЦНС	Токсоплазмы	ЦМВ, ВПГ	Микобактерии	Кандиды, криптококки
Пищевод		ЦМВ, ВПГ	Микобактерии	Кандиды
Желудок, кишечник	Криптоспоридии, изоспоры	ЦМВ, ВПГ	Микобактерии, сальмонеллы, шигеллы	Кандиды

4.3. Алгоритм лабораторного обследования ВИЧ-инфицированных при различных синдромах.

Клинический материал	Исследуемый материал	Возможный возбудитель	Метод исследования								
			Обнаружение АГ					Обнаружение АТ			
			Скопия	Выделение	ЛЮМ	ИФА	ПЦР	Др.	ИФА	ЛЮМ	
Бронхо-лёгочный	Мокрота, БАЛ, задне-глоточная слизь, кровь	Гр+ стрептококки, гемофилы, ЭБ		Количествен. посев							
		Микобактерии	+		+				+		
		Пневмоцисты	+		+				+	+	
		ЦМВ, ВПГ I-II			+		+		+		
		Кандиды	+	+			+	+	+		
		Криптококки	+	+			+	+	+		
Поражения ЦНС	Ликвор, кровь	Токсоплазма				+	+	+	+		
		ЦМВ и др. вирусы			+	+	+		+	+	
		Микобактерии	+	+	+			+		+	
		Кандиды	+	+			+	+	+		
		Криптококки	+	+			+	+			
Поражение пищевода	Биоптат, эндоскопический материал	Токсоплазма									
		ЦМВ, ВПГ			+	+	+		+	+	
		Микобактерии	+	+	+		+		+	+	
		Кандиды	+	+			+	+	+		
		Криптококки					+	+	+		

4.4. Методы лабораторной диагностики токсоплазмоза.

Серологические исследования. Диагноз подтверждается достоверно нарастающей динамикой показателей этих тестов либо их высоким уровнем:

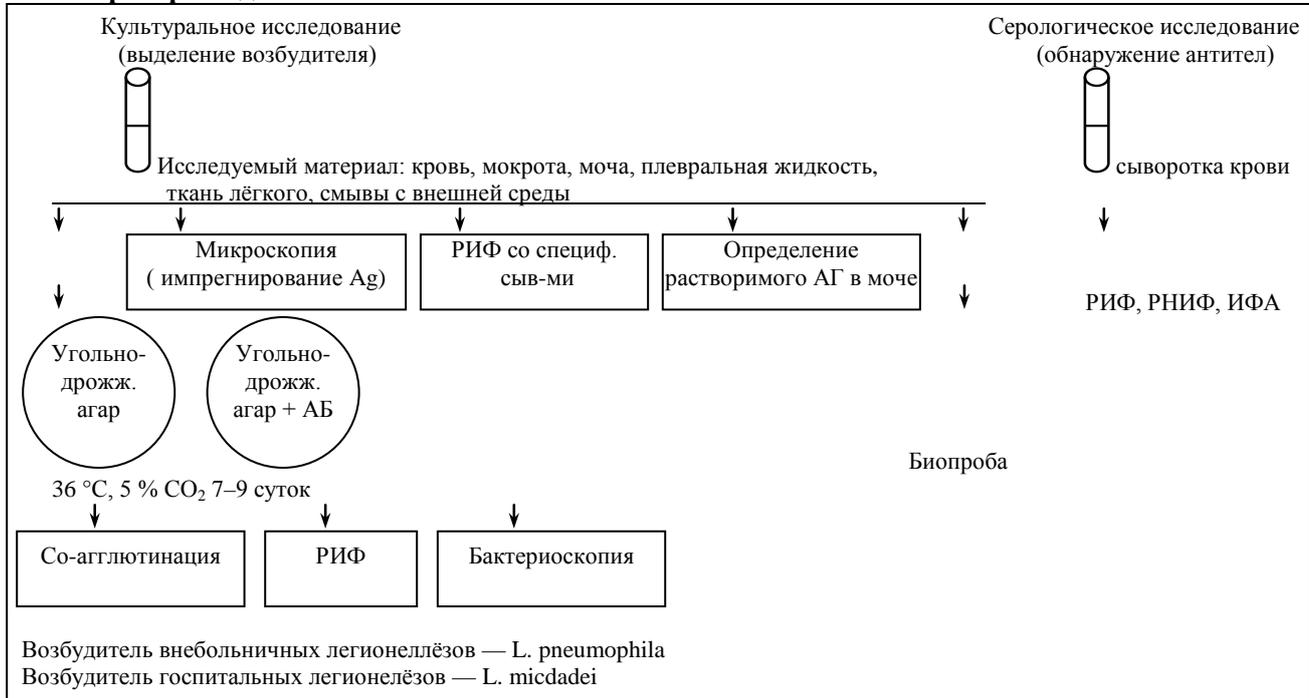
- РСК (реакция связывания комплемента): становится «+» со второй недели заболевания, максимальное значение (1:60–1:30) достигается ко 2–4 месяцу болезни, через 1–3 года может стать отрицательной (даже без этиотропной терапии) или сохраняется в низких титрах (1:5–1:10), не имеющих самостоятельного диагностического значения;
- РИФ (реакция непрямой иммунофлуоресценции): реакция становится «+» с первой недели заболевания, максимальные значения (1:1 280–1:5 000) достигаются к 2–4 месяцу болезни и в низких титрах (1:10–1:40) может сохраняться длительное время (10–15 лет и более);
- ИФА (иммуноферментный анализ): интерпретация результатов ИФА более объективна, поскольку ориентируется на Международный стандарт ВОЗ;
- РПГА (реакция пассивной гемагглютинации).

Микроскопия. Возбудитель обнаруживается в мазках при окраске по Романовскому — Гимзе.

4.5. Дифференциальные признаки представителей рода *Legionella*.

Признак	<i>L. pneumophila</i>	<i>L. bozemanii</i>	<i>L. micdadei</i>	<i>L. dumoffii</i>	<i>L. gormanii</i>
Гидролиз гипсурата натрия	+	–	–	–	–
Оксидаза	+	–	+	–	–
Каталаза	+	+	+	+	+
Уреаза	–	–	–	–	–
Разжижение желатина	+	+	+	+	+
β-лактамаза	+	+	–	+	+
Редукция нитрата	–	–	–	–	?
Утилизация крахмала	+	+	+	+	?
Ферментация углеводов с образованием кислоты	–	–	–	–	–
Окраска колоний на среде с бромтимол. красным и бромкрезол. синим	Бледно-зелёная	Ярко-зелёная	Голубоватая	Ярко-зелёная	Ярко-зелёная

4.6. Лабораторная диагностика легионеллёза.



4.7. Контигент, обследуемый на криптоспоридиоз:

- пациенты детских и взрослых отделений кишечных инфекций;
- лица, страдающие длительно текущими диареями;
- ВИЧ-инфицированные с кишечной дисфункцией и без неё.

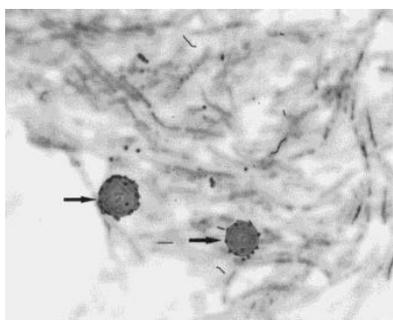
4.8. Исследуемый материал при подозрении на криптоспоридиоз:

- фекалии, рвотные массы;
- мокрота, лаважная жидкость (при подозрении на криптоспоридиоз органов дыхания);
- биоптаты.

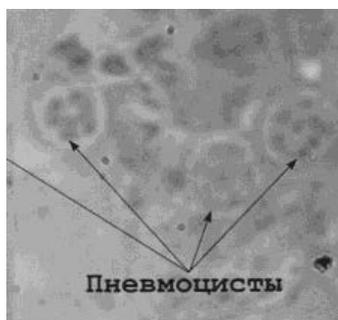
4.9. Этапы окраски мазка для выявления криптоспоридий.

1. Нанести тонкий мазок на предметное стекло.
2. Высушить мазок на воздухе.
3. Зафиксировать мазок в спирте.
4. Окрасить карбол-фуксином по методу Циля — Нильсена:
 - нанести карбол-фуксин на мазок, выдержать 10 мин;
 - промыть водой;
 - нанести 5 %-й раствор серной кислоты, выдержать 1 мин;
 - промыть водой;
 - нанести 0,2 %-й раствор метиленового синего, выдержать 5 мин;
 - промыть водой, высушить.

4.10. Отдельные возбудители СПИД-ассоциированных инфекций в микроскопических мазках.



Криптоспоридии в фекалиях
(окраска по Цилю — Нильсену)



Пневмоцисты в препаратах
из лёгких



Пневмоцисты в препаратах
из лёгких (РИФ)

5. Практическая работа.

5.1. Просмотреть и зарисовать рост культуры *C. albicans*, выделенной из ликвора.

5.2. Освоить этапы приготовления мазка для индикации криптоспоридий.

5.3. Просмотреть и зарисовать мазки криптоспоридий.

5.4. Просмотреть и зарисовать мазки пневмоцист (ЛЮМ).

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. Емцев, В. Т. Микробиология : учеб. для бакалавров / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. 8-е изд., испр. и доп. М. : Юрайт, 2014. 444 с.
2. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология : учеб. для вузов : в 2 т. / [А. С. Быков и др.] ; под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014.
3. Микробиология : учеб. для вузов / [А. С. Быков и др.] ; под ред. В. В. Зверева, М. Н. Бойченко. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. 607 с.
4. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. / под ред. Дж. Хоулта и др. 9-е изд. М. : Мир, 1997.
5. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований / под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. М. : Медицина, 2014.

Дополнительная

6. Микробиология : учеб. пособие для вузов / Р. Г. Госманов [и др.]. СПб. : Лань, 2011. 494 с.
 7. Коротяев, А. И. Медицинская микробиология, иммунология и вирусология : учеб. для мед. вузов / А. И. Коротяев, С. А. Бабичев. 5-е изд., испр. и доп. СПб. : СпецЛит, 2012. 759 с.
 8. Приказ Министерства здравоохранения и медицинской промышленности РФ от 19.01.1995 г. № 8 «О развитии и совершенствовании деятельности лабораторий клинической микробиологии (бактериологии) лечебно-профилактических учреждений».
 9. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 22.04.1985 г. № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».
 10. Приказ Министерства здравоохранения СССР от 01.12.1988 г. № 858 «О мерах по совершенствованию лечебно-диагностических и профилактических мероприятий по борьбе с менингококковой инфекцией и внедрению эпидемиологического надзора».
 11. Методические рекомендации к приказу Департамента здравоохранения Москвы и Центра ГСЭН в г. Москве от 19.06.1996 г. № 377/99 «О совершенствовании лабораторной диагностики стрептококковой инфекции “Микробиологическая диагностика стрептококковых инфекций”».
 12. Методические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Версия 2014.01.
 13. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2008 г. № 4 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08».
 14. МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории» : метод. рекомендации. М., 2006.
- Научные обзоры в журналах «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии», «Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия», «Генетика», «Успехи современной биологии».

**РАБОЧАЯ ТЕТРАДЬ
ПО ДИСЦИПЛИНЕ «КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ»**

Составители:
Бурмистрова Александра Леонидовна
Бахарева Лариса Израильевна
Хайдаршина Наиля Эмильевна

Редактор М. В. Трифонова
Подписано в печать 02.12.16. Формат 60×84 ¹/₈.
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 8,1. Уч.-изд. л. 6,2.
Тираж 70 экз. Заказ 96.
Бесплатно

Челябинский государственный университет
454001 Челябинск, ул. Братьев Кашириных, 129

Издательство Челябинского государственного университета
454021 Челябинск, ул. Молодогвардейцев, 57б