

Введение в частную микробиологию.
Характеристика возбудителя инфекционного
заболевания

Характеристика возбудителей бактериальных инфекций

Таксономия возбудителя: отдел, семейство, род, виды

Краткая история открытия возбудителя

Морфологические и тинкториальные свойства (форма и расположение клеток, отношение к окраске по методу Грама, специфические методы окраски, применяемые для диагностики)

Культуральные и биохимические свойства (особенности дыхания и метаболизма, среды, применяемые для культивирования, характер роста на питательных средах, биохимические диагностические тесты)

Антигенные свойства (протективные антигены, сероварианты, классификация по антигенным свойствам, информативность серологического метода диагностики)

Факторы патогенности (факторы адгезии, ферменты агрессии, токсины, антифагоцитарные факторы)

Резистентность к факторам окружающей среды, распространенность в природе и человеческой популяции, наличие эндемических очагов инфекции и т.д.

Вызываемые заболевания - краткая эпидемиологическая характеристика (источники инфекции, механизм, пути и факторы передачи, восприимчивый коллектив)

Патогенез (длительность инкубационного периода, продромальный период, период разгара, возможные исходы инфекции – нахождение возбудителя в организме в каждый из периодов, патологическое воздействие на органы и ткани, основные клинические проявления, особенности иммунитета)

Микробиологическая диагностика: исследуемый материал, применяемые методы диагностики, результат

Этиотропное лечение (химиотерапия, иммунобиологические препараты – характеристика, получение, особенности применения)

Специфическая профилактика – заблаговременная и экстренная, активная и пассивная (характеристика препаратов, особенности применения, календарь прививок).

Характеристика возбудителей вирусных инфекций

Таксономическое положение (отдел, семейство, подсемейство, род)

Краткая история открытия возбудителя

Морфология вириона

Взаимодействие вируса с клеткой: особенности жизненного цикла и репликации генома

Биологические свойства возбудителя (чувствительность лабораторных животных, возможность культивирования в куриных эмбрионах и клеточных культурах)

Антигенные свойства (протективные антигены, сероварианты, классификация по антигенным свойствам, информативность серологического метода диагностики)

Резистентность к факторам окружающей среды, распространенность в природе и человеческой популяции, наличие эндемических очагов инфекции и т.д.

Особенности эпидемиологии вызываемых заболеваний: распространённость в природе, источник инфекции, механизм и факторы передачи.

Патогенез вызываемых заболеваний по периодам:

а) первичная репродукция – инкубационный период;

б) генерализация (распространение в организме) – продромальный период;

в) вторичная репродукция (поражение органов – «мишеней») – период разгара;

г) особенности иммунитета и исходы инфекционного процесса.

Лабораторная диагностика:

а) вирусоскопический метод и экспресс-диагностика;

б) вирусологический метод (модели культивирования, методы индикации и идентификации вируса);

в) серологический метод (современные методы диагностики)

Специфическая терапия и профилактика. Дать характеристику препаратов, сроки и способы введения, отразить особенности экстренной профилактики.

Выбор метода микробиологической диагностики

Выбор того или иного метода микробиологического исследования зависит от характера предполагаемого у больного патологического процесса, свойств возбудителя, места его максимальной концентрации и способов выделения из организма, а также интенсивности образования специфических антител против возбудителя в различные фазы заболевания.

В современной клиничко-лабораторной службе для постановки микробиологического диагноза в распоряжении врача имеется 5 методов диагностики:

Микроскопический (бактериоскопический, вирусоскопический);

Бактериологический (вирусологический);

Серологический;

Аллергический;

Молекулярно-генетический.

Микроскопические методы

применяют для обнаружения бактерий, грибов и простейших в патологическом материале, взятом от больного, с помощью обработки специальными красителями (или в нативном препарате) под микроскопом.

Ввиду того, что многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, а также грибы и простейшие имеют внешнее сходство, микроскопические методы диагностики в чистом виде являются в большинстве случаев лишь ориентировочными и не дают основания для постановки окончательного диагноза.

Вместе с тем они имеют бесспорное преимущество перед другими лабораторными диагностическими методами, так как позволяют быстро обнаруживать возбудителей в патологическом материале, пригодны для раннего распознавания патогенов (**экспресс диагностики**). Комбинация микроскопического и серологического методов в виде реакции иммунофлюоресценции (**РИФ**) позволяет успешно решать эту задачу.

На основании данных микроскопии проводят выбор питательных сред на выделение микробов, обнаруженных в мазке. Иногда методом микроскопии выявляются микроорганизмы, плохо растущие на обычных питательных средах.

Бактериологический метод

включает в себя выделение чистой культуры возбудителя с последующей идентификацией его по культуральным, биохимическим, антигенным и ряду других свойств. При этом возможно установить чувствительность выделенного агента к тем или иным химиотерапевтическим препаратам и бактериофагам.

Бактериологический метод является основным для постановки этиологического диагноза при большинстве инфекционных заболеваний, внутрибольничных инфекций, бактериальных осложнений.

Вирусологический метод

1. Заражение биологического объекта (модели)

- куриные эмбрионы

- чувствительные животные (редко)

- культуры клеток (первичные, перевиваемые, полуперевиваемые)

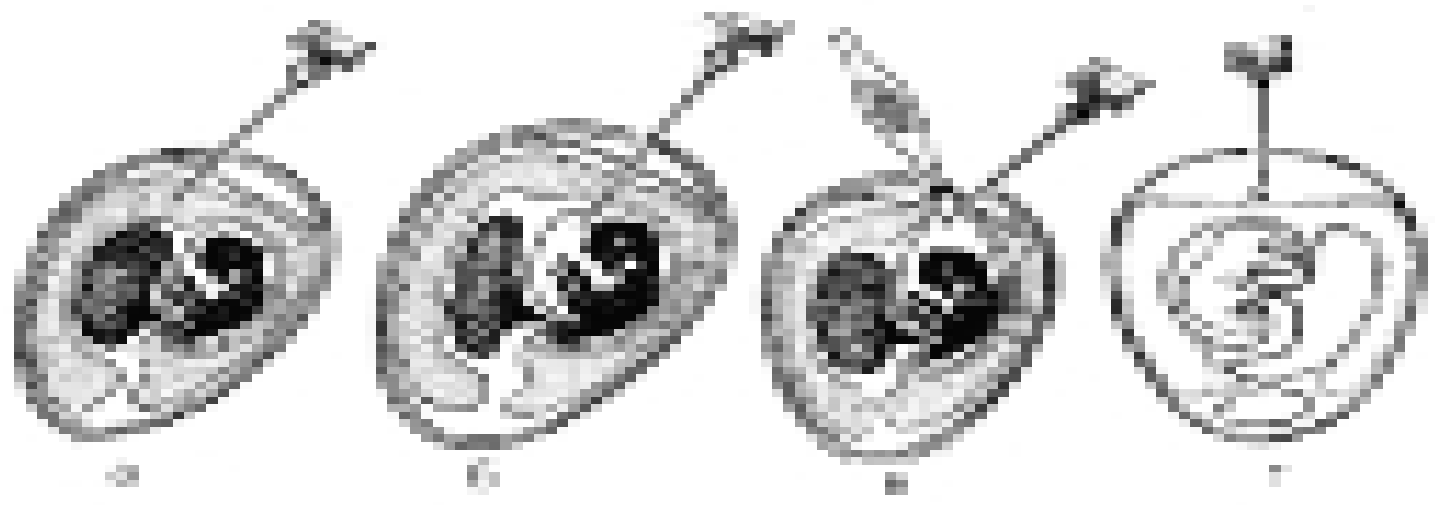
2. Индикация вируса

3. Идентификация

Индикация вируса в КЭ – РГА, в КК – ЦПД, РГАдс, цветная проба (ЦП), образование бляшек

Идентификация – в КЭ - – РТГА,, в КК – в реакциях биологической нейтрализации

Универсальный метод - РИФ



Преаналитический этап

Формулировка задачи и цели исследования, оформление направления (клиницисты)

Сбор биоматериала и транспортировка биоматериала (средний медперсонал)

Прием, регистрация, обработка и первичный посев биоматериала (лаборанты –микробиологи)



Аналитический этап

Работа с чистой культурой



Постаналитический этап

Анализ результата, полученного в лаборатории:

В исследуемом материале выявлен _____(с указанием вида и рода)

Типичный по свойствам

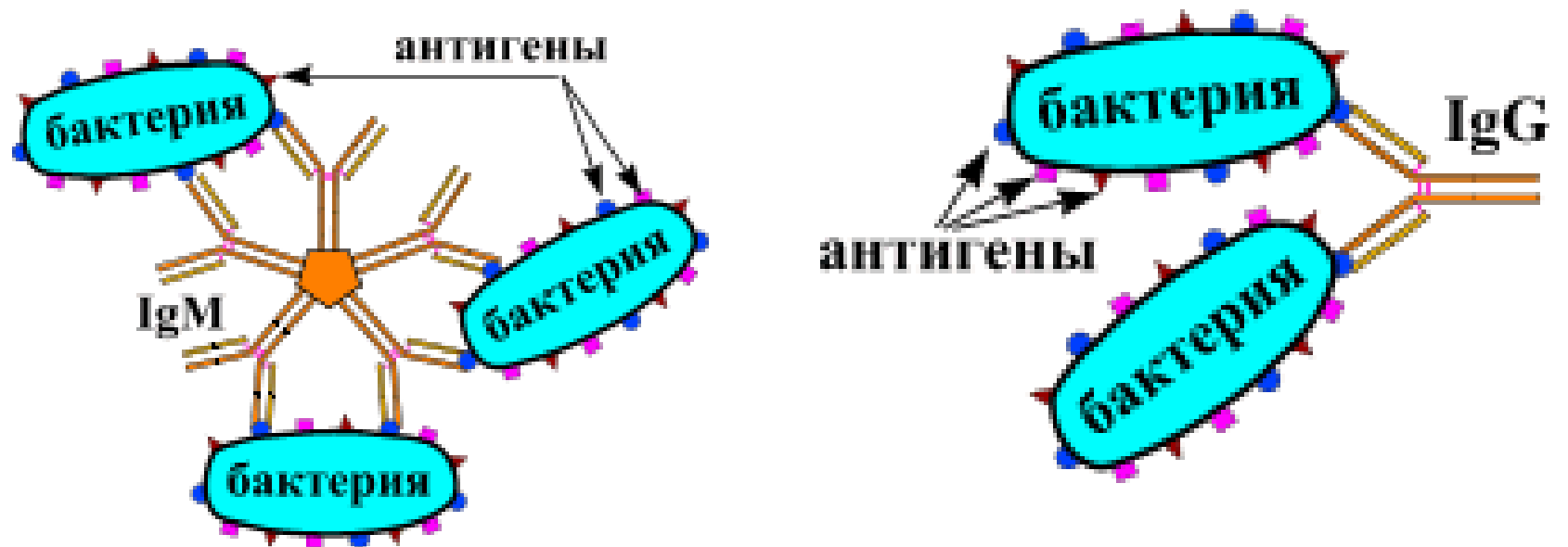
В количестве _____КОЕ\мл(г)

Чувствительный к бактериофагу _____

Чувствительный к антибиотикам _____

Серологические методы

по своей диагностической ценности приближаются к бактериологическим, т.к. позволяют точно установить этиологию заболевания. Сущность их состоит в определении роста антител в сыворотке крови по отношению к известному возбудителю, который вводится в серологическую реакцию



Серологический метод

Serum – сыворотка.



В этих реакциях участвуют два специфических комплементарных по отношению друг к другу компонента: АГ и соответствующее ему АТ.

Они составляют одну систему по типу «ключ-замок»

Серологические реакции протекают в 2 фазы

Обязательное условие – присутствие электролитов

Фазы серологических реакций

1 фаза. Специфическая.

Происходит взаимодействие АГ-нных детерминантных групп с активными центрами специфических иммуноглобулинов, сформировавшихся под влиянием этого АГ. Последние образуются в ответ на поступление в организм этого АГ. Видимых изменений не происходит.

2 фаза. Неспецифическая.

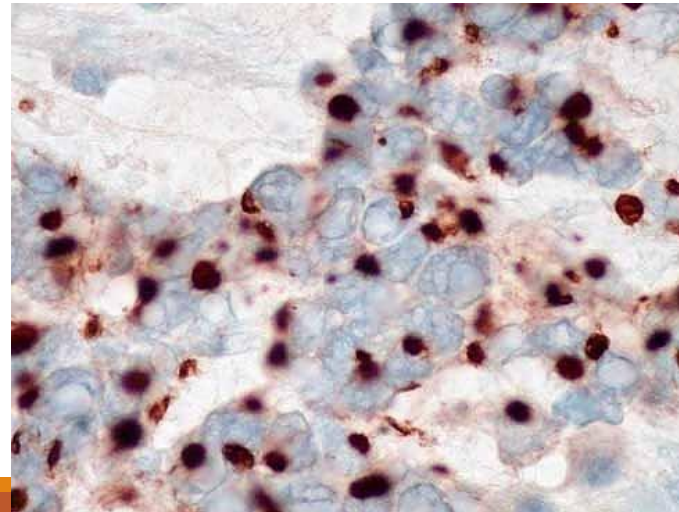
Комплекс АГ+АТ взаимодействует с неспецифическими факторами среды, в которой происходит укрупнение частиц в результате чего реакция становится видимой. Видимые изменения могут быть разными

Задачи серологического метода

Поиск неизвестного АГ по известному АТ

Поиск неизвестного АТ по известному АГ

Широко используется в лабораторной диагностике инфекционных заболеваний



При взятии и транспортировке материала для проведения микробиологического исследования необходимо соблюдать ряд общих правил:

-
- Вид материала определяется клинической картиной заболевания, т.е. он должен соответствовать локализации предполагаемого возбудителя на данном этапе патогенеза болезни. Например, при бронхолегочных заболеваниях для исследования берут мокроту, при заболеваниях мочевыделительной системы – мочу. В случае отсутствия или неясности локальных очагов для исследования берут кровь.
 - Брать материал до начала антибактериальной терапии или не ранее, чем через 10-12 часов после отмены препарата, т.к. под воздействием химиотерапевтических препаратов микробы изменяются и теряют способность к росту на искусственных питательных средах, что затрудняет их выделение в чистой культуре. Либо (при неправильно подобранном антибиотике) меняется микробный пейзаж с преобладанием устойчивых штаммов.

- Брать материал непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной из фистулы, мокроту при пневмонии, мазки с миндалин при ангине и т.д.).
- Брать материал во время наибольшего содержания в нём возбудителей заболевания.

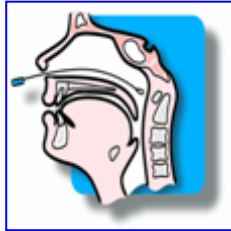
Например, кровь для выделения гемокультуры при подозрении на сепсис необходимо брать в начале озноба, при повышении температуры. На высоте лихорадки при септических состояниях брать кровь нецелесообразно, т.к. за счёт бактерицидности крови большая часть возбудителей к тому времени лизируется.

- Соблюдать строжайшую асептику во избежание загрязнения пробы микрофлорой окружающей среды. Посуда для сбора материала должна быть стерильной, плотно закрывающейся и не содержащей даже следов дезинфицирующих средств. Лучше всего, если посуда для забора материала будет одноразового использования в индивидуальной упаковке.

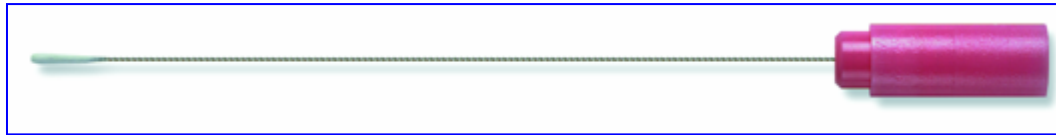
Эволюция систем для взятия биоматериала



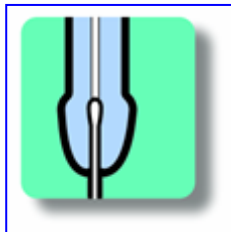
Виды аппликаторов



Витой проволочный аппликатор



Пластиковый аппликатор



Алюминиевый аппликатор



Бумажный аппликатор





UriSWAB product format



THE SPONGE (1)



**SUPER Hydrophilic
Foam Sponge**

Quick absorption

2 ml



Foam Sponge incorporates Stabilizers



Материал для выделения аэробов и факультативных анаэробов берут стерильными ватными тампонами (отделяемое из раны, мазки со слизистых оболочек, из глаз, носа, зева), шприцем (кровь, гной, экссудат), непосредственно в стерильную посуду.

Материал для выделения строгих анаэробов получают из патологического очага путём пункции шприцем, из которого предварительно удаляют воздух; при исследовании кусочков тканей их берут из глубины очага и моментально погружают в транспортную среду. При необходимости использования тампонов, их сразу же после взятия материала также погружают в транспортную среду.

Кроме того, пути, через которые выделяется или берется материал, должны быть максимально освобождены от нормальной микрофлоры, например, тщательным прополаскиванием ротовой полости и глотки при взятии мокроты, промыванием входа в уретру при заборе мочи, удалением поверхностных масс язвы, гнойной раны и др.

- Количество должно быть достаточным для проведения исследования и для его повторения в случае необходимости.

Например, во время операции на бактериологическое исследование лучше посылать кусочки резецируемых тканей, а не мазки из операционной раны на тампоне.

- Транспортировку нативного клинического образца в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки (не позднее, чем через 2 часа от момента взятия пробы, если материал доставляется не в транспортной среде), т.к. это определяет эффективность микробиологического исследования. При использовании транспортных сред материал может храниться при комнатной температуре до 72, а в некоторых случаях и до 120 часов.

Любой клинический материал должен рассматриваться как потенциально опасный для человека. Поэтому при его заборе, хранении, доставке, обработке во избежание заражения должны соблюдаться такие же меры техники безопасности, как в бактериологической лаборатории.

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

Недопустимо транспортировать пробирки, шприцы и флаконы с патологическим материалом, взятым от больного, прямо в руках. Всю посуду, содержащую материал для микробиологического исследования транспортируют в специально предназначенных для этого биксах, пеналах и т.д.

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

Образец

НАПРАВЛЕНИЕ НА ИССЛЕДОВАНИЕ В ЛАБОРАТОРИИ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ФИО больного

Возраст

Отделение, № истории болезни, Диагноз

Материал и задачи исследования, Дата и время взятия материала

При наличии иммуно - и/или антибиотикотерапии указать препарат и сроки назначения
ФИО врача, направляющего материал (разборчиво)

КЛАССИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ

Выделение чистой культуры

- Идентификация
- Определение чувствительности к АМП

Детекция АГ (РИФ, ИФА, ПЦР)

Детекция АТ (серологические реакции, ИФА)

«НОВАЯ» МИКРОБИОЛОГИЯ

Выделение чистой культуры

- Идентификация автоматизированная или MS
- Автоматизированное определение чувствительности к АМП

Детекция генов 16s рРНК

Детекция генов резистентности