МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

ЛЕНИНГРАДСКИЙ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕНИНГРАДСКАЯ ГОРОДСКАЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНЦИЯ

Лабораторный контроль противоэпидемического режима стационаров и методика бактериологических исследований при возникновении гнойно-септических инфекций (ГСИ)

(Методические рекомендации для врачей-стажеров)

ЛЕНИНГРАД
1985

gost.e-ecolog.ru

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР

ЛЕНИНГРАДСКИЙ САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕНИНГРАДСКАЯ ГОРОДСКАЯ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ СТАНЦИЯ

Лабораторный контроль противоэпидемического режима стационаров и методика бактериологических исследований при возникновении гнойно-септических инфекций (ГСИ)

(Методические рекомендации для врачей-стажеров)

ЛЕНИНГРАД
1985

Методические рекомендации составили:

Л. П. Зуева, Б. Г. Хайкина, М. Н. Дьякова. (Ленинградский санитарно-гигиенический медицинский институт)

В. И. Кочеровец (Военно-медицинская ордена Ленина академия им. С. М. Кирова)

В. В. Карцев, А. Г. Набокова, А. И. Герчикова, Т. Я. Шлыкова (Ленинградская городская санитарно-эпидемиологическая станция)

Г. Е. Афиногенов (Ленинградский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена)

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

1. Введение . . . . . .
2. Принципы и сущность лабораторного контроля противоэпидемического режима в стационарах 7
3. Условно-патогенные микроорганизмы — возбудители ГСИ 10
4. Микробиологические методы обнаружения условно-патогенных микроорганизмов 36
   4.1. Материал и методика отбора проб для микробиологических исследований 39
   4.2. Микробиологические методы исследования материала от персонала, больных и лиц, соприкасавшихся с ними 45
      4.2.1. Микроскопия материала 45
      4.2.2. Посев материала на питательные среды 45
         4.2.2.1. Посев при качественном исследовании 45
         4.2.2.2. Посев при количественных методах исследования . 48
      4.2.3. Выделение микроорганизмов, идентификация видов и дифференциация разновидностей 51
      4.2.4. Документация бактериологических исследований 58
   4.3. Санитарно-микробиологические методы исследования объектов окружающей среды в стационарах 60
5. Эпидемиологическая оценка результатов микробиологических исследований 70
6. Приложения 74

I. ВВЕДЕНИЕ

Проблема госпитальных инфекций стала одной из первоочередных проблем современной медицины и здравоохранения.

Под госпитальной инфекцией понимается любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, которое возникает у больного в результате пребывания в больнице или обращения в нее за лечебной помощью. В качестве синонимов этого термина нередко применяются понятия «внутрибольничная инфекция», «хирургическая инфекция», «раневая инфекция», «ятрогенная инфекция» и др.

Частота послеоперационных госпитальных инфекций в различных стационарах колеблется в широких пределах (от 2 до 30 %). Этот вид патологии сопровождается высокой летальностью и способностью к эпидемическому распространению. Возникновение таких заболеваний наносит заметный экономический ущерб, увеличивая в 2—3 раза средний койко-день.

В течение длительного времени медиков интересовали только такие инфекционные болезни, которые вызываются патогенными возбудителями. В настоящее время все большее значение приобретают заболевания, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами. Представлены они большим количеством видов, относящихся к различным родам и семействам.

Госпитальная инфекция, вызванная условно-патогенными микроорганизмами, проявляется в основном в виде нагноений и септических поражений.

Клиническими формами проявления гнойно-септических заболеваний являются: сепсис, менингит, отит, конъюнктивит, стоматит, абсцесс, флегмона, фурункулез, лимфаденит, мастит, пиодермия, панариций, остеомиелит, перитонит, цистит, уретрит, эндометрит, парапроктит и др.

Эти заболевания возникают в стационарах в тех случаях, когда создается комплекс условий, обеспечивающий реализацию механизма передачи возбудителя (экзогенная инфекция) или, приводящий к попаданию возбудителя из очагов инфекции или носительства самого больного (эндогенная инфекция). Возникновение и развитие инфекционной болезни определяется также и услови-

ями, формирующими патогенность возбудителя и определяющими восприимчивость макроорганизма.

Успех борьбы с госпитальными гнойно-септическими заболеваниями зависит от решения ряда эпидемиологических и микробиологических задач, в частности системы и оперативности лабораторных исследований.

В задачу настоящих методических рекомендаций входит:

1. Унификация бактериологических методов исследования материала от больных гнойно-септическими заболеваниями и лиц, соприкасавшихся с ними.

2. Унификация санитарно-микробиологических методов исследования объектов внешней среды в стационарах.

3. Эпидемиологическая оценка результатов микробиологических исследований.

Настоящие методические рекомендации в значительной степени отражают работу кафедр эпидемиологии ЛСГМИ, микробиологии ВМедА им. С. М. Кирова, НИИ травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена, санитарно-эпидемиологических и лечебно-профилактических учреждений г. Ленинграда; по разделу санитарной микробиологии частично использованы рекомендации Московского НИИ гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана.

Методические рекомендации предназначены для стажеров-бактериологов лабораторий лечебно-профилактических учреждений, для стажеров-бактериологов и эпидемиологов санитарно-эпидемиологических станций.

2. ПРИНЦИПЫ И СУЩНОСТЬ ЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКОГО РЕЖИМА В СТАЦИОНАРАХ

Понятие лабораторный контроль стационаров включает микробиологическое обследование больных, персонала, различных объектов окружающей среды. Принято различать плановый лабораторный контроль, который проводится при отсутствии заболеваний, и лабораторный контроль по эпидемическим показаниям, который осуществляется при возникновении инфекционных заболеваний.

Техника исследований при проведении бактериологического контроля во многом однотипна, однако, задачи, объем, содержание исследований при плановом контроле и по эпидемическим показаниям существенно различаются.

Бактериологические исследования при отсутствии заболеваний проводятся с целью контроля противоэпидемического режима и подтверждения эффективности проводимых мероприятий по борьбе с инфекционными заболеваниями.

Исследования при возникновении гнойно-септических заболеваний проводятся с целью установления этиологии, выявления источников инфекции и факторов передачи.

Плановый бактериологический контроль базируется в основном на косвенных приемах: количественном учете общего уровня микробного обсеменения и определении санитарно-показательных микроорганизмов (стафилококки, бактерии группы кишечной палочки и др.). При проведении прямого выявления условно-патогенных микроорганизмов определяются те из них, которые являются наиболее частыми возбудителями ГСИ (стафилококки, синегнойная палочка, протей и др.).

Выявление общего содержания микроорганизмов в концентрациях, превышающих предельно допустимые, или прямая индикация потенциальных возбудителей свидетельствуют о том, что противоэпидемический режим в этом учреждении не выполняется должным образом. Результаты этих лабораторных исследований являются важным источником информации для эпидемиолога и должны вноситься в санитарный паспорт стационара (приложение № 5).

При плановых бактериологических исследованиях набор помещений, в которых производится отбор проб, и перечень предметов окружающей среды, подвергающихся обследованию, ограничен и четко определен (приказ МЗ СССР № 720 от 31/VII—1978 г., приказ МЗ СССР № 1230 от 6/XII—1979 г., методические указания МЗ СССР № 1201—74 от 4/XII — 74 г.).

Осуществляют плановый контроль бактериологические лаборатории санитарно-эпидемиологических станций, дезинфекционных станций и лечебно-профилактических учреждений. Отбор материала для исследования проводится персоналом лабораторий, стационаров и оперативных групп СЭС. Содержание, частота контроля и объекты исследования представлены в таблице № 29.

По эпидемическим показаниям лабораторные исследования базируются на выявлении определенного штамма микроорганизма, послужившего возбудителем патологического процесса и циркулирующего в данном стационаре.

Для доказательства этиологической значимости микроорганизма необходимо располагать данными о динамике, а в некоторых случаях (при исследовании мочи, мокроты, слизи носа и носоглотки) и о массивности его выделения от больного. Этим определяется необходимость повторного взятия и исследования материала от больного и применения количественных методов исследования.

При проведении эпидемиологического обследования важно знать не только вид выделенного микроорганизма, но и его тип, разновидность, биовар, т. е. особую метку госпитального штамма. Из этого следует, что микробные культуры, полученные от больных, персонала и из окружающей среды стационара, должны быть доступны для проведения дополнительной дифференциации. В связи с этим лаборатория должна располагать возможностями для хранения выделенных культур. В целях выявления госпитального штамма соответствующая группа культур подвергается дополнительному исследованию в этой же лаборатории или специально выделенном центре.

Выявление микробных штаммов единого серо-, фаго-, бактериоцино- и антибиотико- вара из организма больного или персонала, а также на объектах окружающей среды позволяет путем сопоставления микробиологических и эпидемиологических данных обосновать этиологическую значимость данного микроорганизма в возникновении заболеваний, принадлежность выделенного микроорганизма к госпитальному штамму, выявить вероятный источник инфекции и факторы передачи.

Одним из важных условий успеха эпидемиологической диагностики является одномоментность забора материала от больных и из объектов окружающей среды. Это тем более необходимо, так как различные объекты окружающей среды являются чрезвычайно динамичными. Набор помещений и перечень объектов, подвергающихся лабораторному изучению при возникновении заболеваний, определяется в процессе эпидемиологического обследования. При

этом обследуются не только чистые предметы, но и бывшие в употреблении.

Лабораторные исследования по эпидемическим показаниям организует эпидемиолог СЭС, осуществляет их персонал бактериологических лабораторий СЭС или ЛПУ. Содержание, объем и частота исследований определяются результатами эпидемиологического обследования. Лабораторные исследования должны выполняться оперативно, четко и в полном объеме.

3. УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ — ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Гнойно-септические инфекции вызываются условно-патогенными микроорганизмами, среди которых основную роль играют некоторые виды факультативно-анаэробных грамположительных кокков и грамотрицательных палочек. Имеются данные об этиологической значимости грамотрицательных неспорообразующих анаэробных бактерий и грибов.

Основные виды условно-патогенных микроорганизмов, способных вызывать гнойно-септические инфекции, систематизированы по «Определителю бактерий Берджи», 1974 г. и представлены в таблице № 1.

Таблица № 1

ВОЗБУДИТЕЛИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

1. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ КОККИ

Семейство	Род	Вид
Micrococcaceae	Staphylococcus	Staph. aureus
		Staph. epidermidis
		Staph. saprophyticus
Streptococcaceae	Streptococcus	Str. pyogenes
		Str. faecalis
		Str. pneumoniae
	Aerococcus	Aer. viridans

2. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ КОККИ И КОККОБАКТЕРИИ

Семейство	Род	Вид	
Neisseriaceae	Neisseria	N. sicca	
		N. subflava	
		N. mucosa	
		N. flavescens	
	Branhamella	Br. catarrhalis	
	Moraxella	M. lacunata	
	Acinetobacter	Ac. calcoaceticus	var. Lwoffi
			var. anitratus

3. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ

Семейство	Триб	Род	Вид
Enterobacteriaceae	Escherichieae	Escherichia	E. coli
		Citrobacter	C. freundii
			C. intermedius
	Klebsielleae	Klebsiella	Kl. pneumoniae
		Enterobacter	Ent. cloacea
			Ent. aerogenes
		Hafnia	H. alvei
		Serratia	S. marcescens
	Proteae	Proteus	Pr. vulgaris
			Pr. mirabilis
			Pr. morganii
			Pr. rettgeri
			Pr. inconstans
Vibrionaceae	—	Aeromonas	Acr. hydrophila (var. anaerogenes)

Роды с неясным систематическим положением

	Род	Вид
—	Haemophillus	H. influenzae
—	Flavobacterium	Fl. meningosepticum
—	Chromobacterium	Chr. violaceum

4. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ И КОККИ

Семейство	Род	Вид
Pseudomonadaceae	Pseudomonas	Ps. aeruginosa
		Ps. fluorescenes
		Ps. maltophilia
		Ps. putida
		Ps. cepacia

Род с неясным систематическим положением

	Род	Вид
—	Alcaligenes	Al. faecalis

5. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ

Семейство	Род	Вид
Bacteroidaceae	Bacteroides	B. fragilis и его группа
		B. melaninogenicus
		B. ureolyticus (B. corrodens) и его группа
	Fusobacterium	F. nucleatum и его группа

6. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ НЕСПОРООБРАЗЯЮЩИЕ КОККИ

Семейство	Род	Вид
Peptococcaceae	Peptococcus	P. asaccharolyticus
	Peptostreptococcus	Pstr. anaerobius

7. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ

Семейство	Род	Вид
Bacillaceae	Clostridium	Cl. perfringens

8. ГРИБЫ

Семейство	Род	Вид
Torulopsidaceae	Candida	C. albicans

Удельный вес различных видов возбудителей в развитии ГСИ различен, наиболее частые возбудители — Staph. aureus, Esch. coli, Ps. aeruginosa, Pr. mirabilis, Pr. vugaris, Str. pneumoniae, Kl. pneumoniae, Bact. fragilis. Имеются данные о значении в патологии человека микроорганизмов семейства Legionellaceae (приложение № 7).

Частота обнаружения различных видов возбудителей варьирует в зависимости от локализации патологического процесса.

Краткая характеристика и дифференциальные признаки представителей различных групп микробов представлены в таблицах.

Условные обозначения в таблицах:

\+ = наличие признака,
— = отсутствие признака,
$\pm$ = чаще наличие,
$\mp$ = чаще отсутствие,
(+) = замедленная реакция,
$\times$ = варианты,
· = не изучен,
щ = щелочеобразование,
к = кислота,
г = газ.
$\frac{O}{F}$ = тест (среда Хью-Лейфсона):
$\frac{к}{-}$ = окисление глюкозы в аэробных условиях и отсутствие ферментации в анаэробных;

$\frac{к}{к}$ = окисление глюкозы в аэробных условиях и ферментация в анаэробных;

$\frac{-}{-}$ = отсутствие окисления и ферментации.

Среда Олькеницкого (3-х сахарный агар) — шифр среды:

глюкоза	газообразование	сахароза и лактоза	сероводород
1	2	3	4

КА — кровяной агар,
МПБ — мясо — пептонный бульон,
МПА — мясо — пептонный агар,
ЖСА — желточно-солевой агар,
СКС — среда для контроля стерильности,
ТС — тиогликолевая среда,
К — Т — Китт — Тароцци среда,
ГПС — глюкозо-пептонная среда,
ЦХО — цитохромоксидаза,
ТТХ — трифенилтетразолий хлорид,
БГКП — бактерии группы кишечной палочки.

1. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ КОККИ.

Семейство **микрококков** (Micrococcaceae) включает 3 рода:

1. Staphylococcus
2. Micrococcus
3. Planococcus

Наиболее частыми возбудителями ГСИ (фурункулы, пиодермии, пневмонии, эмпиемы, сепсис и др.) являются стафилококки. Представители двух других родов являются обычными обитателями почвы и воды. Дифференциация родов семейства микрококков представлена в таблице № 2.

Таблица № 2

Дифференциация родов семейства Micrococcaceae

Роды	Тесты						
	Расположение клеток	Характер колоний	Подвижность	Анаэробная ферментация глюкозы на среде Хью-Лейфсона	Глицерин	Аргинин	Реакция Фогеса-Проскауера /ацетоин/
Staphylococcus	гроздьями, одиночно, парами, редко тетрадами	оранжевые, кремовые, белые, желтые, слегка выпуклые	—	+ (Staph. saprophyticus ±)	+	±	+ (Staph. epidermidis-2 биовар —)

Продолжение

Роды	Тесты						
	Расположение клеток	Характер колоний	Подвижность	Анаэробная ферментация глюкозы на среде Хью-Лейфсона	Глицерин	Аргинин	Реакция Фогеса-Проскауера /ацетоин/
Micrococcus	неправильными кучками, парами, тетрадами, пакетами	желтые, редко кремовые, розовые, выпуклые	∓	—	∓	∓	—
Planococcus	тетрадами, пакетами	желтые, желто-коричневые, кремовые, слегка выпуклые	+	—	·	—	·

Основным тестом, позволяющим дифференцировать стафилококки от других кокков семейства Micrococcaceae, является способность ферментировать глюкозу в анаэробных условиях.

Род стафилококков (Staphylococcus) включает 3 вида: Staph. aureus, Staph. epidermidis, Staph. saprophyticus. Основное значение в патологии человека, имеет Staph. aureus, реже Staph. epidermis, исключительно редко Staph. saprophyticus. Дифференциация видов рода Staphylococcus представлена в таблице № 3.

Таблица № 3

Дифференциация видов рода Staphylococcus

Виды	Тесты											
	плазмокоагулаза**	ДНК — аза	лизоцим	лецитовителлаза	фибринолизин	фосфатаза*	гемолиз	маннит в анаэробных условиях	аэробные условия: маннит	аэробные условия: манноза галактоза	аэробные условия: трегалоза*	устойчивость к новобиоцину
Staph. aureus	+ —	+	+	+ —	+	+	+ —	+	+	+	+	S
Staph. epidermidis	— +	—	—	— +	—	+	— +	—	—	+	—	S
Staph. saprophyticus	—	—	—	—	—	—	— +	—	+ —	—	+	R

Условные обозначения:

* — свойства, рекомендованные международным субкомитетом по таксономии в 1976 г.,

** — свойства, рекомендованные международным субкомитетом по таксономии в 1965 г.,

R (резистентность) — м/с>2,0 мкг/мл или диаметр зоны задержки роста >17 мм,

S (чувствительность) — м/с<0,6 мкг/мл или диаметр зоны задержки роста <17 мм.

По приказу МЗ СССР № 1230 от 6/XII. 79 г. обязательными являются тесты на плазмокоагулазу, фосфатазу, аэробную ферментацию маннита, отношение к новобиоцину.

Для наиболее точной идентификации штаммов, отклоняющихся от признаков, указанных в приказе № 1230, рекомендуется использовать полную схему дифференциации (таблица № 3).

Для характеристики значимости источников инфекции используют определение массивности обсеменения верхних дыхательных путей Staph. aureus (приказ № 720 МЗ СССР от 31/УII—1978 г.). Обсеменение, выражающееся показателем 10^3 и более микробных клеток на тампоне, указывает на высокую обсемененность, при которой происходит выделение микроба во внешнюю среду.

Для эпидемиологических целей целесообразно дифференцировать золотистый стафилококк на варианты. Возможно разделение на 8 биоваров по сочетанию признаков: продукция лецитовителлазы, наличие дельта — гемолизина и чувствительности к лечебному поливалентному стафилофагу (Акатов А. К., Зуева В. С., 1983 г.).

Наиболее целесообразной является дифференцировка стафилококков по чувствительности к фагам на фаговары. Для фаготипирования пользуются международным набором диагностических типовых стафилококковых бактериофагов (выпускаются НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР). Набор включает 4 группы фагов:

1 группа — 29, 52, 52А, 79, 80;

2 группа — 3А, 3С, 55, 71;

3 группа — 6, 42Е, 47, 53, 54, 75, 77, 83А, 84, 85;

4 группа — 42Д

вне групп — 81 и 187.

Методика и учет результатов фаготипирования представлены в наставлении к набору бактериофагов. Целесообразно наносить фаги репликатором на незасеянную чашку и после подсыхания капель фага засевать испытуемую культуру.

Изменение фагочувствительности циркулирующих штаммов стафилококка делает необходимым приготовление и использование набора местных фагов. С помощью полного набора фагов удается типировать 60—90 % стафилококков.

Определение биоваров Staph. epidermidis возможно по схеме Baird — Parker (таблица № 4).

Таблица № 4

Биологические варианты Staph. epidermidis по Baird — Parker (1974)

Биовары	Тесты				
	Реакция Фогеса-Проскауера /ацетоин/	Фосфатаза	Кислота аэробно из:		
			лактозы	мальтозы	маннита
1	+	+	+	+	+
2	—	+	±	—	—
3	+	—	—	+	—
4	+	—	±	+	+

Определение биоваров Staph. saprophyticus можно проводить по схеме, также предложенной Baird — Parker (таблица № 5).

Таблица № 5

Биологические варианты Staph. saprophyticus по Baird — Parker (1974)

Биовары	Тесты				
	Реакция Фогеса-Проскауера /ацетоин/	Кислота аэробно из:			
		арабинозы	лактозы	мальтозы	маннита
1	+	—	—	+	—
2	+	—	+	+	—
4	+	—	+	+	+
3	+	+	+	+	+

Семейство **стрептококков** (Streptococcaceae) объединяет 5 родов. Гнойно-септические инфекции вызывают представители 2 родов — Streptococcus и Aerococcus.

Род стрептококков (Streptococcus) насчитывает 21 вид, из которых 11 обнаруживаются у человека. Наиболее патогенен Str. pyogenes, вызывающий рожистое воспаление, ангину, менингит, перитонит и др. В последние годы значительно возросла роль энтерококков (Str. faecalis) в инфекционной патологии. Они являются возбудителями нагноительных раневых инфекций, заболеваний

полости рта, уха, легких. Str. pneumoniae — один из основных возбудителей инфекций дыхательных путей. Aer viridans выделяется при заболеваниях мочеполовой системы и эндокардитах.

Принадлежность микроорганизма к семейству стрептококков определяется по морфологии, характеру колоний, гемолизу на кровяном агаре, характеру роста в бульоне и отсутствию фермента каталазы.

На кровяном агаре стрептококки образуют, как правило, мелкие (1—2 мм в диаметре) полупрозрачные колонии. По характеру гемолиза стрептококки могут быть разделены на β — гемолитические стрептококки, образующие прозрачную зону гемолиза вокруг колоний; α-гемолитические стрептококки, дающие зеленоватое окрашивание и частичный гемолиз вокруг колоний α_1 — гемолитические стрептококки, образующие менее выраженную серовато-мутную зону гемолиза; γ — негемолитические стрептококки.

В питательном бульоне для стрептококков характерен придонный, часто поднимающийся по стенке пробирки рост при сохранении прозрачности бульона. Иногда этот признак может быть замедлен.

Микроорганизмы семейства Streptococcaceae не продуцируют фермент каталазу, что является дифференциальным тестом от семейства Micrococcaceae.

Для дифференциации различных видов рода Streptococcus и Aer. viridans следует воспользоваться признаками, указанными в таблице № 6.

По полисахаридному антигену стрептококки в реакции преципитации дифференцируются на 17 серологических групп. Заболевания у человека чаще вызываются стрептококком группы А (Str. pyogenes), реже других групп (B, C, G).

При эпидемиологическом расследовании проводится типирование выделенных стрептококков в реакции агглютинации на стекле по методу Гриффита с типовыми иммунными диагностическими сыворотками. Сложность получения типовых сывороток, частота спонтанной агглютинации делают этот метод недостаточно приемлемым для широкой практики.

Возможна дифференциация стрептококков группы А по содержанию липопротеиназы более чем на 20 типов (А. А. Тотолян и И. М. Ионтова, 1983). Определение типа липопротеиназы проводится в реакции ее нейтрализации. Для постановки реакции необходимо иметь набор сывороток, содержащих в достаточном титре антитела к различным типам липопротеиназ. В качестве антилипопротеиназ могут быть использованы человеческие сыворотки крови доноров, которые отбираются по содержанию антилипопротеиназ с помощью музейных штаммов стрептококков или сыворотки, экспериментально приготовленные иммунизацией животных.

Дифференциация пневмококков (Str. pneumoniae) от других видов стрептококков представлена в таблице № 6.

Наиболее простой метод дифференциации основан на различном отношении к желчи. Str. pneumoniae лизируется желчью в отличие от других видов стрептококков. Для дополнительной дифференциации используют определение чувствительности к оптохину, расщепление инсулина, биопробу на белых мышах.

При эпидемиологическом расследовании обязательно определение типов выделенных культур. Типирование пневмококков проводится в реакции набухания капсул по Нейфельду на стекле с диагностическими сыворотками (выпускаются Московским НИИ им. Мечникова).

Таблица № 6

Дифференциация видов рода Streptococcus и Aer. viridans

Тесты	Виды			
	Str. faecalis	Str. pyogenes	Str. pneumoniae	Aer. viridans
Гемолиз	γ, α, β	β	α_1	α
Температурные границы роста: — при 10° С	+	—	—	—
— при 45° С	+	—	—	+
Рост в питательных средах при: — pH 9,6	+	—	—	—
— с 40% желчью	+	—	—	—
— с 6,5% хлорида натрия	±	—	—	—
Редукция 0,1% метиленового синего в молоке	+	—	∓	—
Терморезистентность (60° С в течение 30 минут)	+	—	—	—
Лизис в 10% желчном бульоне	—	—	+	—
Рост на желчно-щелочном агаре (ЖЩА)	+	—	—	—

2. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ КОККИ И КОККОБАКТЕРИИ

Семейство **нейссерий** (Neisseriaceae) объединяет 4 рода:
1. Neisseria.
2. Branhamella.

3. Moraxella.
4. Acinetobacter.

Паразитируют нейссерии на слизистых оболочках человека, при определенных условиях могут вызывать различные заболевания (менингиты, эндокардиты, уретриты, вагиниты, конъюнктивиты и др.).

Представители этого семейства хорошо растут на сывороточном, кровяном и шоколадном агаре, а также на простом агаре. Выявляются по характерным морфологическим и культуральным свойствам. Дифференциальные признаки родов этого семейства представлены в таблице № 7.

Таблица № 7

Дифференциальная характеристика родов семейства Neisseriaceae

Тесты	Роды			
	Neisseria	Branhamella	Moraxella	Acinetobacter
Морфология и расположение клеток	кокки бобовидные парами или тетрадами	кокки парами, редко тетрадами	палочки короткие парами или короткими цепочками	кокко-бактерии
Рост на МПА	±	+	∓	+
Цитохромоксидаза	+	+	+	—
Восстановление нитратов	∓	±	±	—
Чувствительность к пенициллину	+	±	+	—
Окисление глюкозы на среде Хью-Лейфсона	+	—	—*	±

Примечание: * = возможно щелочение верхнего слоя среды.

Дифференциация бактерий рода Acinetobacter с представителями семейства Enterobacteriaceae проводится по тестам таблицы № 25. Acinetobacter не ферментирует глюкозу в анаэробных условиях (тест Хью-Лейфсона), неподвижен, не образует сероводород, индол и капсул.

Род нейссерий (Neisseria) включает 6 видов микроорганизмов: 2 вида патогенных (менингококк и гонококк) и 4 вида условно-патогенных.

Менингококк и гонококк отличаются от условно-патогенных нейссерий отсутствием роста на бессывороточных средах, мень-

шей биохимической активностью. Оба вида вызывают окисление глюкозы, а менингококк, кроме того, и мальтозы. Другие углеводы микробами этих видов не окисляются.

Признаки, дифференцирующие условно-патогенные виды рода Neisseria от сходных с ними видов Br. catarrhalis и M. lacunata, представлены в таблице № 8.

Таблица № 8

Дифференциация условно-патогенных видов рода Neisseria и Br. catarrhalis, M. lacunata

Тесты	Виды					
	N. sicca	N. subflava	N. flavescens	N. mucosa	Br. catarrhalis	M* lacunata
Характер колоний	сухие, крошатся под петлей	маслянистые	маслянистые	мукоидные	слизистые, иногда сухие	слизистые
Капсула	±	+	−	+	∓	±
Глюкоза	+	+	−	+	−	−
Мальтоза	+	+	−	+	−	−
Сахароза	+	±	−	+	−	−
Пигмент	−	желтоватый	желтый	−	−	−
Восстановление нитратов	−	−	−	+	±	−

Примечание: * — гемолизирует шоколадный агар и обычно кровяной агар, разжижает свернутую лошадиную сыворотку.

Внутри вида Acinetobacter различают варианты — var. anitratus и var. Lwoffi. Дифференциация вариантов проводится по способности var. anitratus окислять глюкозу и 10 % лактозу (среда Хью-Лейфсона) в отличие от var. Lwoffi.

3. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ФАКУЛЬТАТИВНО-АНАЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ

Семейство **энтеробактерий** (Enterobacteriaceae) объединяет обширную группу грамотрицательных палочек (12 родов). Условно-патогенные представители этого семейства, способные вызывать гнойно-септические инфекции, относятся к 7 родам. Эти роды включают естественных обитателей кишечника, а также

Таблица № 9

Дифференциальная характеристика основных представителей семейства Enterobacteriaceae

Тесты	Трибы: Escherichieae					Klebsielleae					Proteae
	Роды: Escherichia	Shigella	Salmonella	Citrobacter		Klebsiella	Enterobacter		Hafnia	Serratia	Proteus
	виды			Citrobacter freundii	Citrobacter intermedius	Klebsiella pneumoniae	Enterobacter cloaceae	Enterobacter aerogenes	Hafnia alvei	Serratia marcescens	
Среда Олькеницкого	к г к — к г — — к — — —	к — — — к г — —	к г — + к — — + к г — —	к г — + к г к + к г к —	к г к —	к г к — к г — — /газ бурно/	к г к — к г — — /газ бурно/	к г к —	к г — — к — — —	к г к — к г — —	— — — + — — — — к — — — к г — —
Цитрат Симмонса	—	—	±	(+)	(+)	+	+	+	(±)	+	±
Реакция Фогеса-Проскауера (ацетоин)	—	—	—	—	—	±	+	+	37C °: ± 22° C: +	+	∓
Метилрот	+	+	+	+	+	∓	—	—	+	∓	+
Подвижность	±	—	+	+	+	—	+	+	∓	+	+
Фениланин	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Индол	±	∓	—	∓	+	∓	—	—	—	—	±
Ацетатная среда	+ (+)	—	·	·	·	·	·	·	·	·	·
Лизин	±	—	±	—	—	+	—	+	+	+	—
Адонит	∓	—	—	—	+	±	∓	+	—	∓	∓

обитателей воды и почвы. Представители этих родов способны вызывать перитонит, уретрит, цистит, менингит, пневмонию, септицемию и др.

Минимальный набор тестов, позволяющий установить роды и некоторые виды энтеробактерий, представлен в таблице № 9.

По данным таблицы № 9 микроорганизмы рода эшерихий (Escherichia) дифференцируются по отсутствию роста на среде Симмонса от представителей родов Citrobacter, Klebsiella, Enterobacter. От рода Salmonella — по отсутствию свойства расщеплять белки до образования сероводорода и по способности большинства штаммов образовывать индол; от рода Shigella — по росту на ацетатной среде и по подвижности; от рода Hafnia — по отрицательной реакции Фогеса — Проскауера при 22 °С и по положительной реакции метилрот при 22 °С; от рода Proteus — по неспособности дезаминировать фенилаланин.

При возникновении ГСИ для поиска эпидемиологических связей штаммы рода Escherichia, выделенные из различных клинических материалов и объектов внешней среды, подвергаются дополнительному исследованию. Определяются биовары, антибиотикограмма и проводятся колицинотипирование коллекцией штаммов Фредерика (ГИСК им. Л. А. Тарасевича), серотипирование агглютинирующими адсорбированными сыворотками (выпускаются Московским НИИВС им. И. И. Мечникова).

Штаммы рода цитробактеров (Citrobacter), продуцирующие и не продуцирующие сероводород на среде Олькеницкого, дифференцируются от рода Salmonella по отсутствию способности декарбоксилировать лизин; бессероводородные штаммы дифференцируются от родов Klebsiella, Enterobacter, Serratia — по отрицательной реакции Фогеса — Проскауера, а от рода Escherichia — по способности роста на среде Симмонса (инкубация 1—3 суток при 37° С).

Дифференциация между видами рода Citrobacter проводится по реакции на сероводород, индол и разложению адонита.

В случае выделения микроорганизмов рода Citrobacter при ГСИ проводится серотипирование и определение антибиотикограммы штаммов, выделеных из различных источников. Для серотипирования можно использовать агглютинирующие адсорбированные «О» — сыворотки: поливалентные — 7, типовые — 44, факторные — 15 (выпускаются Московским НИИВС им И. И. Мечникова).

Роды Klebsiella, Enterobacter, Hafnia и Serratia в зависимости от варианта изменения среды Олькеницкого дифференцируются от других родов семейства Enterobacteriaceae по положительной реакции Фогеса — Проскауера, а при отрицательной реакции — по способности расти на среде Симмонса и отсутствию индолообразования.

Как видно из таблицы № 9 виды триба Klebsielleae по вышеприведенным тестам трудно дифференцируются.

Для межвидовой дифференциации триба клебсиелл используют способность декарбоксилировать аминокислоты (лизин, орнитин, аргинин) и ферментировать арабинозу и адонит (таблицы № 10 и № 9).

Таблица № 10

Дифференциация видов триба Klebsielleae

Тесты	Виды				
	Kl. pneumoniae	Ent. cloacae	Ent. acrogenes	H. alvei	Ser. marcescens
Лизин	+	—	+	+	+
Орнитин	—	+	+	+	+
Аргинин	—	+	—	—	—
Арабиноза	+	+	+	+	—

Род клебсиелл (Klebsiella) представлен 3 видами. ГСИ (менингиты, пневмонии, циститы, эндометриты и др.) вызываются в основном Kl. pneumoniae. Два других вида являются возбудителями хронических заболеваний озены и склеромы.

Селективно-дифференциальной средой для клебсиелл является среда К-2 (Калина Г. П., Трухина Г. М.).

Внутриродовая дифференциация клебсиелл представлена в таблице № 11.

Таблица № 11

Дифференциация Kl. pneumoniae от клебсиелл — возбудителей хронических заболеваний

Тесты	Виды		
	Kl. pneumoniae	Kl. rhinoscleromatis	Kl. ozaenae
Глюкоза	+ газ	—	±
Лактоза	+ газ	—	+
Сахароза	+ газ	+ газ	+
Мочевина	(+)	—	±
Реакция Фогеса-Проскауера (ацетоин)	±	—	—
Цитрат Симмонса	+	—	±
Лизин	+	—	±

Штаммы Kl. pneumoniae могут быть дифференцированы с помощью типовых «К»-сывороток. Известны 72 специфических капсульных серотипа. В нашей стране предполагается выпуск этих сывороток с 1985 года.

Микроорганизмы рода протеев (Proteus) по способности дезаминировать фенилаланин отличаются от других родов семейства Enterobacteriaceae.

Для дифференциации видов рода Proteus можно воспользоваться рядом тестов (таблица № 12).

Таблица № 12

Дифференциация видов рода Proteus

СДС и КС	Тесты	Виды					
		Pr. vulgaris	Pr. mirabilis	Pr. rettgeri	Pr. morgani	Pr. inconstans	
						A	B
П-2	Цвет колоний	оранжевые с темным центром	малиновые с черным центром	желтые без окраски центра	малиновые без окраски центра		
ПП	Индол	+	−	+	+	+	+
	Сероводород	+	+	−	−	−	−
	Триптофан	+	+	+	+	+	+
	Мочевина	+	+	(+)	(+)	−	−
	Глюкоза	−	−	−	−	−	+ газ
ИНАД	Адонит	−	−	±	−	+	−
	Инозит	−	−	+	−	−	+
Цитрат Симмонса		×	×	+	−	+	+
Орнитин		−	+	−	+	−	−
Мальтоза		+	−	−	−	−	−

В практической работе целесообразно применять селективно-дифференциальные (СДС) и комбинированные (КС) среды для протеев П-2, ПП, ИНАД (Г. П. Калина).

С эпидемиологической целью микроорганизмы рода Proteus подвергают серотипированию с помощью агглютинирующих адсорбированных «О» и «Н» — сывороток (выпускаются Московским НИИВС им. И. И. Мечникова).

Из семейства **вибрионов** (Vibrionaceae) в патологии человека имеют значение 3 рода. Наибольшее значение имеют пред-

ставители рода аэромонад (Aeromonas). Основным возбудителем ГСИ является вид Aer. hydrophila подвид var. anaerogenes. Это водные микроорганизмы, которые способны при определенных условиях вызывать раневые инфекции, сепсис, стоматиты и др.

В практической работе целесообразно использовать селективно-дифференциальные и комбинированные среды для аэромонад А-2 и А-4 (Г. П. Калина с соавт.). Оптимальная температура роста около 30 °С.

Микроорганизмы рода Aeromonas дифференцируются от других родов этого семейства по отсутствию способности декарбоксилировать аминокислоты (лизин и орнитин) и по изменению среды Олькеницкого (таблица № 26). Различают два основных вида аэромонад Aer. punctata и Aer. hydrophila. Aer. punctata не образует ацетоина из глюкозы (реакция Фогеса — Проскауера) и газа из глицерина. Внутри вида Aer. hydrophila различают 2 основных варианта — var. hydrophila и var. anaerogenes. Их отличия основаны на степени окисления глюкозы и глицерина — до образования кислоты и газа (var. hydrophila) или до кислоты без газа (var. anaerogenes).

Роды с неясным систематическим положением.

Род гемофилов (Haemophilus) включает 20 видов. Наибольшее значение в патологии человека имеет вид H. influenzae — вызывает пневмонии, синуситы, фарингиты, менингиты, сепсис, эндокардиты и др.

Для H. influenzae при микроскопии характерен полиморфизм — очень мелкие кокковидные или удлиненные палочки в виде гнездных скоплений и длинных нитей.

На кровяном агаре эти микроорганизмы образуют очень мелкие, точечные, прозрачные как капли росы колонии. На средах с факторами роста вырастают более крупные (1—3 мм в диаметре) глянцевые, полупрозрачные, сероватые колонии. Капсульные бактерии при боковом освещении имеют колонии с перламутровым блеском.

Гемофильные бактерии нуждаются в добавочных факторах роста — «X» (гемин) и «V» (никотинамид аденин динуклеотид), содержащихся в крови, а также дрожжах («V» — фактор).

Дифференциальными признаками бактерий рода Haemophilus являются рост на средах, содержащих факторы роста, сателлитный рост вокруг колоний золотистого стафилококка, кишечных палочек, рост в зоне сапониновых дисков, специфический запах (Вишнякова Л. А., 1981).

Дифференциальные признаки видов рода Haemophilus представлены в таблице № 13.

Род флавобактерий (Flavobacterium) включает 12 видов. Эти микроорганизмы распространены в воде и почве. Только один вид Fl. meningosepticum является патогенным для человека и при определенных условиях вызывает менингиты, септицемии.

Таблица № 13

Дифференциация видов рода Haemophilus

Виды	Место выделения	Тесты				
		Мочевина	В-галактозидаза (ONPY) тест	Восстановление нитратов	Гемолиз	Потребность в факторах роста
H. influenzae	Дыхательные пути	+	—	+	—	„X“ „V“
H. aegipticus	Конъюнктива	+	+	+	—	„X“ „V“
H. parainfluenzae	Дыхательные пути	—	+	+	—	„V“
H. haemolyticus	Дыхательные пути	—	+	+	+	„X“ „V“
H. aphrophilus	Кровь	—	+	+	—	„X“
H. vaginalis	Половые пути	.	.	—	+	—

Это тонкие или слегка изогнутые, иногда короткие с закругленными концами неподвижные палочки. Микроорганизм характеризуется способностью выделять желтый пигмент, цвет которого постоянен на различных средах. Пигмент не растворяется в среде.

Дифференциация Fl. meningosepticum от пигментообразующих штаммов рода Pseudomonas проводится по отсутствию подвижности, способности к росту при 42 °С, окислению мальтозы и цвету пигмента.

Род хромобактерий (Chromobacterium) включает 2 вида. Микроорганизмы обитают в почве и воде. Только вид Chr. violaceus способен вызывать ГСИ (септицемии) у человека.

Это подвижные палочки с закругленными концами, иногда изогнутые, встречаются поодиночке, изредка в парах или цепочках. Микроорганизм растет на простых питательных средах и характеризуется образованием фиолетового пигмента (виолацеин). Пигмент растворим в этаноле, не растворим в воде и хлороформе. При росте на питательном бульоне образует фиолетовое кольцо на поверхности жидкости около стенки пробирки.

Дифференциация вида Chr. violaceum проводится по способности к окислению и ферментации глюкозы (среда Хью—Лейфсона) и замедленному росту при 37 °С (до 7 суток).

4. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АЭРОБНЫЕ ПАЛОЧКИ И КОККИ

Семейство **псевдомонад** (Pseudomonadaceae). Представители рода псевдомонад (Pseudomonas) широко распространены

в почве и воде. Род включает 29 видов микроорганизмов, из них 13 видов имеют значение в патологии человека. Основная роль в возникновении ГСИ принадлежит синегнойной палочке (Ps. aeruginosa), которая вызывает при определенных условиях сепсис, инфекции ран и ожогов, менингиты, пневмонии, циститы, отиты и др.

Этот микроорганизм вырабатывает ферменты и токсины, обладающие антибактериальным свойством и действием на ткани организма.

Синегнойная палочка растет на всех питательных средах, используемых для посева клинического материала. На кровяном агаре обычно выявляется зона гемолиза. Селективными средами являются: ЦПХ, ацетамидный, цетримидный агары, среды ПЭ-2 и «Блекс». Рост на плотных средах часто сопровождается феноменом радужного лизиса (блеска).

Большинство штаммов Ps. aeruginosa выделяет в питательную среду пигменты — пиоцианин и флюоресцеин, реже пиорубин и пиомеланин. Пиоцианин растворим в воде и в хлороформе, флюоресцеин — в воде. Оптимальными средами для пигментообразования являются кровяной агар, среды Кинг-А и Кинг-В. В зависимости от условий роста и состава среды пигменты образуются в разных соотношениях и поэтому окраска культуры и среды может меняться от желто-зеленой до синей, реже от оранжевой до бурой. Могут встречаться и атипичные беспигментные штаммы.

Культуры синегнойной палочки имеют характерный запах: ароматический сладковатый (типичные штаммы) или неароматический с аммиачным оттенком (атипичные штаммы).

Около 70 % культур Ps. aeruginosa можно идентифицировать по морфологии колоний, образованию сине-зеленого пигмента пиоцианина, запаха, наличию роста на селективной среде. Часть штаммов удается дифференцировать при использовании сред Кинг-А (для пиоцианина, пиорубина и пиомеланина) и Кинг-В (для флюоресцеина).

Штаммы, не дающие пигментообразования, требуют более тщательной идентификации. Для их идентификации используют тесты, представленные в таблице № 14.

С эпидемиологической целью штаммы синегнойной палочки подлежат серотипированию, фаготипированию, пиоцинотипированию и определению чувствительности к антибиотикам.

Для серотипирования Ps. aeruginosa в нашей стране применяют 13 групповых и 27 факторных, монорецепторных диагностических адсорбированных «О»-сывороток (выпускаются Днепропетровским предприятием по производству бактерийных препаратов).

Методики фаготипирования и пиоцинотипирования впервые апробированы и модифицированы в лаборатории ожоговых инфекций НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи АМН СССР (Мороз А. Ф.,

Таблица № 14

Дифференциация видов рода Pseudomonas

Виды	Тесты									
	пиоцианин	флюоресцеин	рост при 42° С	нитраты до азота (газ)	ксилоза	мальтоза	желатина	окисление 10% лактоза на среде Хью-Лейфсона	O/F тест на среде Хью-Лейфсона	цитохром. оксидаза
Ps. aeruginosa var. 1	+	+	+	+	+	−	+	−	+ / −	+
Ps. aeruginosa var. 2	−	+								
Ps. aeruginosa var. 3	−	−								
Ps. fluorescens	−	+	−	−	+	±	+	−	+ / −	+
Ps. cepacia	−	−	±	−	+	+	±	+	+ / −	+
Ps. putida	−	±	−	−	+	∓	−	−	+ / −	+
Ps. stutzeri	−	−	±	+	+	+	−	−	+ / −	+
Ps. maltophilia	−	−	−	−	±	+	+	±	+ / −	−
Ps. pseudomallei	−	−	+	+	+	+	+	+	+ / −	+
Ps. mallei	−	−	+	−	−	±	−	±	+ / −	+
Ps. putrefaciens	−	−	∓	−	∓	±	±	−	+ / −	+
Ps. alcaligenes	−	−	+	−	−	−	+	−	= / −	+
Ps. pseudoalcaligenes	−	−	+	−	−	±	−	−	= / −	+
Ps. diminuta	−	−	−	−	−	−	+	−	= / −	+
Ps. acidovorans	−	−	−	−	−	−	−	−	∓ / −	+

Новикова И. С., Петропавловская И. С.). Для фаготипирования используют коллекцию из 20 типовых бактериофагов Lindberg'a (1961). Принцип фаготипирования общепринятый. Пиоцинотипиро-

вание проводится в основном по методу Yones et al. (1974) набором из 18 индикаторных ALA штаммов Ps. aeruginosa.

Роды с неясным систематическим положением.

Род алкалигенес (Alcaligenes) включает 4 вида. Микроорганизмы обитают в воде и почве. Наибольшее значение в патологии человека имеет вид Al. faecalis, который вызывает ГСИ мочеполовой системы и др.

При микроскопии это — подвижные коккобациллы и кокки. Микроорганизм является щелочеобразователем. Некоторые штаммы имеют ароматический запах.

5. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ.

Семейство **бактероидов** (Bacteroidaceae) включает 3 рода. Наиболее частыми возбудителями ГСИ (перитониты, сепсис, абсцессы, флегмоны, эмпиемы и др.) являются микроорганизмы рода Bacteroides и рода Fusobacterium.

Выделение чистых культур анаэробных микроорганизмов и их последующая идентификация затруднена в силу высокой чувствительности к токсическому действию молекулярного кислорода воздуха. В связи с этим в практических лабораториях целесообразно применять исследование нативного материала экспресс методами. Для дифференциации анаэробов используют методы посева на специальные питательные среды.

С этой целью исследуемый материал первоначально засевают на следующие селективные среды: среду для контроля стерильности (СКС) или тиогликолевую среду (ТС) или среду Китт — Тарощи (К—Т), на те же среды с налидиксовой кислотой, и на те же среды с канамицином и желчью. Инкубация при 37° С 24—96 часов. При наличии видимого роста готовят мазки для микроскопии и производят пересев из каждой среды на 5 % кровяной агар (КА) на основе СКС (проба на аэротолерантность). Посевы инкубируют при 37 °С в атмосфере эксикатора с предварительно сгоревшей свечой (микроаэрофильные условия). Через 24—48 часов просматривают результаты высева на кровяной агар и готовят мазки для микроскопии. При наличии в пробе строгих анаэробов рост наблюдают во всех средах для анаэробов и отсутствие роста в пересевах на кровяной агар. На анаэробной селективной среде с канамицином и желчью рост будет только в случае присутствия микроорганизмов группы B. fragilis. Микроскопией мазков определяются анаэробные палочковидные микроорганизмы. При наличии в пробе факультативных анаэробов и микроаэрофилов пересев материала со среды для контроля стерильности или тиогликолевой среды на кровяной агар даст их рост.

В таблицах № 16 и № 17 приведены возможные варианты результатов посевов и их трактовка.

Таблица № 16

Результаты посевов для выявления B. fragilis и ассоциации микроорганизмов на различных средах

Среды	Результаты посевов					
	первичный посев	пересев на КА	первичный посев	пересев на КА	первичный посев	пересев на КА
СКС или ТС или К—Т	+	—	+	+	+	+
СКС или ТС или К—Т с налидиксовой кислотой	+	—	+	—	+	+
СКС или ТС или К—Т с канамицином и желчью	+	—	+	—	+	—
Трактовка результатов	B. fragilis и его группа		B fragilis и его группа с грамотрицательными факультативно-анаэробными и микроаэрофильными палочками		B. fragilis и его группа с грамположительными факультативно-анаэробными и микроаэрофильными кокками	

Таблица № 17

Результаты посевов для выявления анаэробов (без B. fragilis) и ассоциаций микроорганизмов на различных средах

Среды	Результаты посевов					
	первичный посев	пересев на КА	первичный посев	пересев на КА	первичный посев	пересев на КА
СКС или ТС или К—Т	+	—	+	+	+	+
СКС или ТС или К—Т с налидиксовой кислотой	+	—	+	—	+	+
СКС или ТС или К—Т с канамицином и желчью	—	—	—	—	—	—
Трактовка результатов	Анаэробы без B. fragilis		Анаэробы и грамотрицательные факультативно-анаэробные и микроаэрофильные палочки		Анаэробы и грамположительные факультативно-анаэробные и микроаэрофильные кокки	

Условные обозначения: + = наличие бактериального роста.
— = отсутствие бактериального роста.

Практически идентификация клинически значимых анаэробов ограничивается несколькими видами. Исчерпывающее определение вида связано со значительными материальными и техническими трудностями. Поэтому в повседневной работе можно ограничиться некоторыми групповыми признаками (наличие или отсутствие роста на анаэробных средах и при пересеве на кровяной агар) и рядом информативных видовых тестов (рост B. fragilis на селективной среде с канамицином и желчью, микроскопия мазка).

Микроскопия нативного материала или чистой культуры позволяет получить предварительный ответ о групповой (иногда видовой) принадлежности анаэробов. B. fragilis — грамотрицательные, нежнорозовые, с неравномерным восприятием красителя (усиление окраски на полюсах);. короткие с закругленными концами, умеренно-плеоморфные палочки. B. melaninogenicus — грамотрицательные, светлорозовые, однородные, кокковидные палочки. F. nucleatum — грамотрицательные, светлорозовые, веретенообразные палочки, располагающиеся сетчатыми скоплениями.

6. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ НЕСПОРООБРАЗУЮЩИЕ КОККИ.

Семейство **пептококков** (Peptococcaceae) объединяет 4 рода. Представители родов Peptococcus и Peptostreptococcus при определенных условиях могут вызывать ГСИ (сепсис, абсцессы, плевриты, вагиниты и др.).

Дифференциация этого семейства представляет большие трудности. Для идентификации представителей семейства Peptococcaceae также целесообразно использовать метод посева на несколько специальных питательных сред. Возможные ассоциации микроорганизмов представлены в таблицах № 16 и № 17.

По микроскопии анаэробные кокки практически не отличимы от факультативно-анаэробных и микроаэрофильных кокков. В связи с этим при идентификации данных микроорганизмов необходимо учитывать их культуральные особенности — проба на аэротолерантность и отсутствие роста в микроаэрофильных условиях.

7. ГРАМПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ АНАЭРОБНЫЕ СПОРООБРАЗУЮЩИЕ ПАЛОЧКИ

Семейство **бацилл** (Bacillaceae). Род Clostridium объединяет более 60 видов. Большинство видов этого рода являются сапрофитами и обитают в почве. Некоторые виды вызывают тяжелые заболевания (газовая гангрена и др.).

Ведущее значение среди возбудителей споровых анаэробных раневых инфекций занимает Cl. perfringens. Для обнаружения этого микроорганизма используют посев на те же питательные среды; возможные ассоциации микроорганизмов указаны в таблицах № 16 и № 17.

Обнаружение в исследуемом материале грамположительных палочек с обрубленными концами, располагающихся часто парами,

при соответствующей клинике газовой гангрены позволяет заподозрить Cl. perfringens. Для идентификации проводят посев на молоко и углеводы. Cl. perfringens бурно створаживают молоко с образованием характерного сгустка и дает сильное газообразование на средах с углеводами, неподвижен.

В последние годы большое значение приобретают методы **экспресс диагностики** анаэробных микроорганизмов, которые позволяют обнаружить возбудителей ГСИ в первый день исследования. Такими методами является микроскопия, просмотр в ультрафиолетовых лучах и газохроматографический анализ нативного материала.

Микроскопия нативного материала. Из клинического материала, доставленного в шприце или в герметизированном пенициллиновом флакончике готовят три препарата: один — мазок для окраски по Граму, два других — «раздавленная капля» для темнопольной и фазоконтрастной микроскопии. Оставшуюся часть материала используют для газохроматографического анализа.

Просмотр исследуемого материала в темном поле или с помощью фазового контраста следует проводить не позже 30 минут после взятия пробы.

Для случаев с неклостиридиальной анаэробной инфекцией характерно сочетание нескольких морфологических разновидностей микроорганизмов, часть из которых имеет разнообразную форму палочек — веретенообразную, кокковидную, спираллевидную, ветвистую. Могут преобладать палочковидные формы или кокки, преимущественно в скоплениях. Микроорганизмы практически заполняют все поле зрения. Клеточных элементов крови крайне мало. Фагоцитоз отсутствует. Использование темнопольной и фазовоконтрастной микроскопии позволяет обнаружить подвижность, а в совокупности с мазком получить полное представление о естественной форме микроба.

Просмотр нативного материала в ультрафиолетовых лучах. В силу биологических особенностей бактероидов группы B. melaninogenicus их присутствие в клиническом материале можно обнаружить без собственно микробиологических исследований. С этой целью полученную пробу необходимо осветить источником УФЛ. В положительном случае скопления микробов будут давать свечение в виде ярко-малиновых точек. Учет результатов следует проводить в затемненном помещении. В качестве источника УФЛ используют лампу Вуда или люминесцентный микроскоп. В последнем случае исследуемый материал освещают через просвет, предназначенный для объектива.

Газохроматографический анализ нативного материала. Методика газовой хроматографии биологических объектов, разработанная в ЛГУ (1982), предусматривает использование отечественного хроматографа «Цвет» серии 100 (приложение № 6).

Для анализа используется практически любой биологический материал (гной, кровь, моча, ликвор, экссудаты и др.). В хроматограф может вводиться непосредственно исследуемый объект, экстракт в органическом растворителе или газовая фаза над объектом. Последний из указанных методов — анализ газа, насыщенного летучими веществами исследуемого образца, получил название «парофазный анализ» (ПФА) и в наибольшей степени подходит для лабораторной экспресс — диагностики ГСИ. Выявление в материале летучих жирных кислот (ЛЖК) — характерных продуктов метаболизма анаэробных бактерий — с числом углеродных атомов от 3 до 6 и некоторых нелетучих кислот позволяет обнаружить возбудителей анаэробных инфекций по специфическому спектру. Присутствие в клиническом материале уксусной, пропионовой, изомасляной, масляной, изовалерианової, валерианової, изокапроновой, капроновой ЛЖК является убедительным доказательством наличия анаэробов.

Заключение о результатах экспресс диагностики проводится на основании комплексной оценки полученной информации.

При анаэробной монобактериальной инфекции возможен ряд вариантов. Обнаружение грамотрицательных, нежнорозовых с неравномерным восприятием красителя (усиление окраски на полюсах), коротких, с закругленными концами, умеренно плеоморфных палочек в сочетании с одновременным присутствием масляной, изомасляной или изовалерианової ЛЖК свидетельствует о наличии микроорганизмов B. fragilis и его группы.

Выявление грамотрицательных, нежнорозовых, однородных кокковидных палочек в клиническом материале, который давал яркомалиновое свечение и тот же спектр летучих жирных кислот, можно заключить о присутствии бактерий B. melaninogenicus и его группы.

Обнаружение веретенообразных грамотрицательных нежнорозовых или длинных тонких с заостренными концами, беспорядочно расположенных, часто подвижных палочек в сочетании с выявлением масляной кислоты без изокислот указывает на присутствие микроорганизмов F. nucleatum и его группы.

Анаэробные инфекции, как правило, являются смешанными и протекают с участием ассоциации анаэробных бактерий, относящихся к различным видам (таблицы № 16 и № 17). Данные, полученные с помощью экспресс диагностики, с достаточной степенью надежности подтверждают сам факт наличия анаэробных микроорганизмов без полной дифференциации видов.

2. ГРИБЫ.

Семейство **торулопсидий** (Torulopsidaceae). Основными возбудителями ГСИ являются дрожжеподобные грибы рода Candida, объединяющие около 20 видов. Они обитают на коже

и слизистых оболочках дыхательного, желудочно-кишечного и моче-полового трактов. При определенных условиях вызывают патологические процессы (септицемия, эндокардиты, тромбофлебиты, конъюнктивиты и др.).

Для выделения грибов требуется посев на специальные среды (Сабуро, метабисульфитная, рисовая, кукурузная и др.). Колонии на плотных питательных средах крупные, выпуклые, сметанообразные, глянцеватые (не влажные), гладкие или морщинистые, белые или кремоватые, обычно врастающие в среду.

При микроскопии грибов рода Candida обнаруживаются нити псевдомицелия и почкующиеся округлые клетки (бластоспоры). Вид C. albicans (и var. stellatoidea) образует хламидоспоры (ростковые трубочки). Выявление псевдомицелия и хламидоспор является наиболее важным признаком при идентификации грибов рода Candida. Для ускорения процесса филаментации и образования хламидоспор используют пересевы культур на голодные среды (рисовый, картофельный кукурузный агары) или в свернутую кроличью или человеческую сыворотку крови.

Дифференциация видов грибов рода Candida проводится с учетом степени окисления углеводов (таблица № 18).

Таблица № 18

Окисление углеводов видами грибов рода Candida

Вид	Углеводы				
	Глюкоза	Мальтоза	Лактоза	Сахароза	Галактоза
C. albicans	+ газ	+ газ	—	±	+ газ
var. stellatoidea (C. albicans)	+ газ	+ газ	—	—	+ газ
C. tropicalis	+ газ	+ газ	—	+ газ	+ газ
C. pseudotropicalis	+ газ	—	+ газ	+ газ	+ газ
C. guilliermondii	+ газ	—	—	+ газ	+ газ
C. krusei	+ газ	—	—	—	—

4. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Целенаправленность микробиологических методов исследования определяется знанием резидентной микрофлоры различных органов и тканей; основных возбудителей ГСИ, подлежащих обнаружению в различных клинических материалах и объектах внешней среды стационаров (таблицы № 19, № 20, № 21).

Таблица № 19

Резидентная микрофлора различных органов и тканей (по С. Нейчеву, 1977)

№№ п.п.	Наименование органов и тканей		Резидентная микрофлора
1	Кровь		отсутствует
2	Верхние дыхательные пути	нос	стафилококки, микрококки, дифтероиды, α — стрептококки, нейссерии
		глотка	α-стрептококки, микрококки, стафилококки, батероиды, нейссерии
3	Нижние дыхательные пути		отсутствует
4	Пищеварительная система	ротовая полость пищевод	стрептококки, нейссерии, дифтероиды, стафилококки, микрококки, пневмококки, гемофильные палочки, молочнокислые бактерии, кандиды; бактероиды, фузобактерии, пептококки
		желудок	чаще отсутствует
		кишечник (испражнения)	бактероиды, молочнокислые бактерии, бациллы, пептококки; энтеробактерии, дифтероиды; энтеро-, стафило-, микро- кокки; кандиды, плесневые грибки
		желчь (при выделении)	отсутствует

Продолжение

№№ п.п.	Наименование органов и тканей		Резидентная микрофлора
5	Женские мочеполовые органы	влагалище, уретра (лохии)	стафилококки, стрептококки, микрококки, пептококки, нейссерии, дифтероиды, кишечная палочка, клебсиеллы, протей, бактероиды, фузобактерии, кандиды
		матка, придатки, моча	отсутствует
6	Мужские мочеполовые органы	уретра	стафилококки, микрококки, дифтероиды, стрептококки
		предстательная железа, яички, сперма, моча	отсутствует
7	Нервная система (ликвор)		отсутствует
8	Кожные покровы		стафилококки, микрококки, дифтероиды, α-стрептококки, энтерококк, энтеробактерии
9	Конъюнктива		стафилококки, дифтероиды, нейссерии
10	Органы слуха	наружное ухо	стафилококки, дифтероиды
		среднее и внутреннее ухо	отсутствует

Характер развития эпидемического процесса ГСИ в стационарах, клинические проявления заболеваний, топография условно-патогенных микроорганизмов в организме больного и во внешней среде определяют вид исследуемого материала и направление исследований.

Таблица № 20

Основные условно-патогенные возбудители ГСИ в материалах от больных и лиц, соприкасавшихся с ними

Материал	Микроорганизмы											
	Стафилококки	Стрептококки	Нейссерии	Бранхамелла, моракселла	Ацинетобактер	Энтеробактерии	Аэромонады	Гемофильные бактерии	Флавохромобактерии	Псевдомонады	Анаэробы	Кандида
— ран и открытых очагов;	+	+	∓	∓	∓	+	±	±	∓	+	±	+
— условно-открытых и закрытых очагов;	±	±	∓	∓	∓	±	±	±	±	∓	+	∓
— глаз;	+	+	±	+	±	+	±	∓	∓	±	∓	+
— ушей;	+	+	+	∓	∓	+	∓	+	∓	+	+	∓
— носа и носоглотки;	+	+	+	∓	±	+	∓	+	∓	±	∓	+
— половых органов;	+	+	∓	∓	∓	+	±	∓	∓	±	+	+
— трупный.	+	+	∓	∓	∓	+	±	∓	∓	+	+	+
Кровь	+	+	±	∓	±	+	+	±	+	+	±	±
Мокрота	+	+	+	∓	±	+	±	+	∓	+	±	±
Моча	+	±	∓	∓	±	+	±	∓	∓	+	±	+
Испражнения	+	+	∓	∓	∓	+	±	∓	∓	±	±	+
Желчь	±	±	∓	∓	∓	+	±	∓	∓	±	±	±
Ликвор	+	+	±	∓	±	+	∓	+	∓	+	±	±

Условные обозначения: + = микроорганизмы, обнаруживаемые часто;
± = микроорганизмы, обнаруживаемые реже;
∓ = микроорганизмы, обнаруживаемые редко.

Таблица № 21

Основные условно-патогенные возбудители ГСИ во внешней среде стационаров

№№ п.п.	Объекты окружающей среды	Основные циркулирующие микроорганизмы	Основные возбудители ГСИ
1	Воздушная среда	стафилококки, стрептококки, грибы	стафилококки
2	Сухие поверхности предметов	стафилококки, стрепкокки	стафилококки
3	Влажные поверхности предметов	грамоотрицательные микроорганизмы (эшерихии, псевдомонады, клебсиеллы, протеи, флавобактерии)	кишечная и синегнойная палочки, клебсиеллы
4	Инструменты	стерильны	грамотрицательные микроорганизмы
5	Аппаратура	грамоотрицательные микроорганизмы	синегнойная палочка, клебсиеллы
6	Лекарственные формы	стерильны	флавобактерии, псевдомонады, серрации
7	Руки персонала	стафилококки, грамотрицательные микроорганизмы	стафилококки, грамотрицательные микроорганизмы

4.1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ОТБОРА ПРОБ ДЛЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Плановый бактериологический контроль в стационарах предусматривает периодическое исследование материала различных объектов окружающей среды и персонала. Перечень объектов, подлежащих обследованию, указан в таблице № 29. Правила отбора проб воздуха, смывов с объектов внешней среды, хирургических и аптечных материалов изложены в приказе МЗ СССР № 720 от 31/VII—1978 г., приказе МЗ СССР № 1230 от 6/XII—1979 г., методических указаниях МЗ СССР № 1202—74 от 4/XII—74 г. и др.

При возникновении госпитальных ГСИ проводится исследование по эпидемическим показаниям и решается вопрос о том, какие материалы от больного, лиц, соприкасавшихся с ним, и из объектов внешней среды в стационарах следует отобрать для изучения причин возникновения внутрибольничной инфекции.

Материал от больных забирается и исследуется с целью изучения этиологии заболевания. В зависимости от клинических проявлений болезни исследованию подвергаются:

— кровь;
— гной, материал из ран и открытых очагов;
— инородные предметы ран и органов (дренажи, линзы, спирали и т. п.);
— гной, материал из закрытых очагов;
— материал из носа и носоглотки;
— материал из глаз;
— материал из ушей;
— материал из половых органов;
— мокрота;
— моча;
— испражнения;
— желчь;
— ликвор;
— трупный материал.

По показаниям могут исследовать одновременно несколько видов клинического материала. При вероятности возникновения сепсиса необходим одномоментный отбор и крови.

С целью выявления источника инфекции в стационаре, где возникло гнойно-септическое заболевание, отбор материала производится от лиц, соприкасавшихся с больным — персонал, контактные по палате, отделению и т. п. Выбор материала в данном случае определяется клиническими показаниями и эпидемиологическими данными.

Бактериологическому исследованию подвергаются:

— материал из носа и зева;
— материал из различных кожных повреждений;
— материал из половых органов;
— испражнения;
— моча;
— кровь.

По эпидемическим показаниям список проб, подлежащих исследованию, может быть расширен.

Для выявления факторов передачи санитарно-бактериологическому исследованию подвергаются:

— воздух;
— объекты внешней среды;
— руки персонала;
— лекарственные формы.
— и др.

Одним из важных условий успеха эпидемиологической диагностики является одномоментность забора материала от больных и из объектов внешней среды в стационарах. Это тем более необходимо, так как различные объекты внешней среды являются чрезвычайно динамичными.

Разнообразие клинического материала и своеобразие микрофлоры отдельных органов и тканей требуют применения определенных методических приемов отбора проб.

Материал от больных забирается до лечения антибактериальными препаратами или не ранее 3—5 дней после его окончания.

Материал отбирается непосредственно из патологического очага с соблюдением всех необходимых правил асептики (стерильным тампоном, инструментом, в стерильную посуду и т. д.).

Доставка материала в лабораторию должна проводиться немедленно (не позднее 1—2 часов после отбора материала), так как более длительное пребывание пробы при комнатной температуре приводит к гибели отдельных возбудителей процесса и сохранению (размножению) устойчивых видов. В случае хранения материала в условиях холодильника (кроме ликвора) этот срок можно увеличить до 3 часов. Более длительное хранение допустимо в условиях холодильника при помещении материала на тампоне в питательную среду (сахарный бульон, пептонная вода, мясо-пептонный бульон). Пренебрежение сроками и условиями отбора, хранения и доставки материала в лабораторию приводит к недостоверности результатов исследования.

Кровь. Проба крови в количестве 5—10 мл отбирается шприцом из локтевой вены с соблюдением всех правил асептики (после тщательной обработки кожи в области локтевого сгиба). Немедленно (у постели больного) засевается в питательную среду и доставляется в лабораторию в условиях, предупреждающих охлаждение. У маленьких детей допустимо брать 0,5—1,0 мл крови из сосудов пальца, пятки, мочки уха.

Гной, материал из ран и открытых очагов. При отборе проб необходимо провести предварительный туалет раны и забирать материал по возможности из более глубоких отделов дна и стенок раны. Отбирается материал сухим (при обильном отделяемом) или увлажненным (при скудном отделяемом) ватным тампоном. Тампон ex tempore увлажняют 0,3—0,5 мл питательной среды (сахарный, мясо-пептонный бульоны, пептонная вода) или физиологическим раствором. Для отбора проб можно использовать инструменты, материал с которых снимается ватным тампоном. Тампон с материалом помещается в сухую пробирку или в пробирку с питательной средой (при невозможности быстрой доставки).

Материал из ран отбирается ватным тампоном или бакпечаткой (приложение № 2).

При заборе проб из свищей и фистул первичные секреты удаляются; проводится туалет и дезинфекция окружающей области, материал забирается из глубоких отделов ватным тампоном, кюреткой или катетером.

Материал из глаз берется с конъюнктивы глазной палочкой или ватным тампоном.

Проба из уха забирается ватным тампоном после предварительной дезинфекции наружного слухового прохода.

Материал из носа и носоглотки. При взятии материала из носа производится дезинфекция его наружных отверстий, а из носоглотки — туалет ротовой полости. Материал забирается натощак или через 3 часа после приема пищи ватным тампоном (желательно на алюминиевой проволоке) по общепринятой методике.

Отбор материала из половых органов (лохии и др.) осуществляется ватным тампоном, катетером или кюреткой после предварительного туалета наружных половых органов.

Инородные предметы ран и органов (линзы, спирали, дренажи и др.). Мелкие предметы отбирают пинцетом и полностью помещают в емкость с физиологическим раствором (питательной средой). С более крупных предметов производят смывы увлажненным ватным тампоном, который опускается в сухую пробирку или с физиологическим раствором (питательной средой). При наличии резинового дренажа материал отсасывается шприцом из более глубокого отдела после дезинфекции места прокола. Можно использовать и внутренний конец удаленной дренажной трубки.

Материал из закрытых очагов. Взятие материала производится шприцом (игла с мандреном). Кожные покровы и слизистые в месте прокола дезинфицируются. Пунктат (не менее 2 мл) оставляется в шприце или помещается в герметизированный пенициллиновый флакончик и немедленно доставляется в лабораторию. При хирургических вмешательствах проба из операционной раны отбирается шприцом (при обильном выпоте) или ватным тампоном (при незначительном выпоте).

Мокрота. Проба мокроты отбирается утром натощак после туалета ротовой полости. Первые порции материала удаляются, последующие (не менее 2 мл) собираются для гомогенизации в баночку.

Моча. Естественным путем собирается средняя или последняя порция утренней мочи в стерильную баночку в количестве не менее 30 мл после туалета наружных половых органов. Катетеризация, связанная с получением мочи, применяется редко.

Испражнения. Наилучшим способом является отбор материала после естественной дефекации из судна, горшка, пеленки, не содержащих следов дезинфектантов. Испражнения в количестве не менее 1—2 г при помощи деревянного шпателя или палочки переносятся в сухую пробирку или с консервантом в соотношении 1 : 10 (при невозможности быстрой доставки). В случае срочного взятия материала забор производится из прямой кишки с использованием ректальных металлических петель или ватных тампонов. При наличии гноя и слизи (но не крови) их отбор производится ректальным ватным тампоном из прямой кишки. У маленьких детей возможно использование резинового катетера, материал с которого снимается ватным тампоном.

Желчь. Забор желчи производится при помощи дуоденального зондирования общепринятым методом. В лабораторию доставляется «В» и «С» порции желчи в количестве не менее 3 мл в пробирке.

Ликвор. Спиномозговая жидкость берется посредством люмбальной пункции общепринятым методом с соблюдением всех правил асептики. В лабораторию немедленно доставляется вторая порция ликвора в количестве не менее 1 мл в пробирке в условиях, предупреждающих охлаждение. При невозможности срочной доставки допустимо хранение материала при 37 °С в течение нескольких часов.

Трупный материал. Вскрытие трупа должно производиться в возможно более короткие сроки. Стерильно отбираются: кровь, материал из пораженного очага, кусочки печени (желчь), селезенки, почек, костного мозга, мозговых оболочек (ликвор), лимфоузлов, кишечника (испражнения). Поверхности органов и тканей перед отбором обжигаются и материал иссекается из глубины стерильными инструментами. Кровь из сердца или бедренной артерии и желчь отбираются после обжигания места введения иглы (пипетки), отрезки кишечника вырезаются между двумя лигатурами. Каждый орган и ткань помещается в отдельную стерильную емкость.

Особенности отбора материала на наличие анаэробных микроорганизмов.

При микробиологических исследованиях ГСИ анаэробной этиологии обязательным условием является изоляция клинической пробы от контакта с молекулярным кислородом воздуха как на этапе отбора, так и доставки (приложение № 2).

Вероятность обнаружения анаэробов в клинических материалах различна и в значительной степени определяется характером и локализацией гнойно-септического процесса. Наиболее часто анаэробные микроорганизмы выделяются из изолированных очагов челюстно-лицевой области, головного мозга, легких, органов брюшной полости и малого таза.

Кровь и ликвор отбираются шприцом и путем прокола через резиновую пробку немедленно вносятся в герметизированный флакон с питательной средой с соблюдением всех правил асептики и доставляется в условиях, предупреждающих охлаждение.

Из дренированных (открытых) очагов и поверхностных повреждений материал забирается двумя ватными тампонами, один из которых немедленно вносится в пробирку с питательной средой, а другим делают мазок — отпечаток на стекле или помещают в сухую пробирку для дальнейшей микроскопии.

При наличии изолированных (закрытых) очагов материал отбирается при помощи пункции.

Проба мочи берется посредством надлобковой пункции мочевого пузыря.

Мокрота отбирается при помощи транстрахеальной аспирации.

Трупный материал забирается с учетом клинической картины по общепринятой методике.

Другие виды клинического материала диагностического значения при микробиологических исследованиях гнойно-септических анаэробных инфекций не имеют.

Отбор и посев проб из объектов внешней среды стационаров

Воздух. Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппарата Кротова или пробоотборника бактериологического аэрозоля (ПАБ-1). Скорость протягивания воздуха составляет 25 л/мин (аппарат Кротова) и 125 л/мин (ПАБ-1). Количество пропущенного воздуха должно составлять не менее 250—500 литров. Отбор проб производится на плотные простые, элективные и селективные среды. При работе аппаратом ПАБ-1 возможен отбор проб воздуха в жидкую среду (увлажняющая жидкость или питательная среда) с дальнейшим пересевом или без пересева на плотные питательные среды (таблица № 32).

Исследование воздуха седиментационным методом допускается в исключительных случаях.

Смывы с объектов внешней среды. Отбор проб с предметов внешней среды, аппаратуры, рук персонала производят методом смывов.

Увлажненным тампоном (салфеткой) протирают поверхность исследуемого объекта во взаимоперпендикулярных плоскостях, погружают в увлажняющую жидкость (физиологический раствор, дистиллированная или водопроводная вода) или жидкую питательную среду, отжимают, встряхивают в течение 5 минут. Смывную жидкость по 0,1 мл высевают в питательную среду или ставят в термостат, если смыв произведен питательной средой.

При отборе смывов с больших плотных поверхностей увлажненным ватным тампоном протирают поверхность размером 10×10 см при помощи трафарета из проволоки площадью 100 см^2.

При исследовании небольших предметов ватным тампоном протирают поверхность всего предмета. Мелкие предметы помещают полностью в жидкую среду и отмывают встряхиванием.

При взятии смывов с рук увлажненным стерильным тампоном протирают тыльную и ладонную поверхности рук, межпальцевые поверхности, ногтевые ложа и подногтевые пространства.

Для отбора проб с мягких поверхностей чаще всего используют метод смыва увлажненной салфеткой размером 15×15 см. Протирание производится 1—2 мин., площадь смыва — 300 см^2 (желательно в трех местах). Салфетки после смыва переносят во флаконы с 25 мл физиологического раствора или питательной среды, отжимают, встряхивают и исследуют как смывы с плотных поверхностей.

Лекарственные средства. Доставляются в лабораторию в тех же флаконах, в которых были получены из аптеки.

4.2. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИАЛА ОТ ПЕРСОНАЛА, БОЛЬНЫХ И ЛИЦ, СОПРИКАСАВШИХСЯ С НИМИ

Микробиологические методы исследования включают:

4.2.1. Микроскопия материала.

4.2.2. Посев на питательные среды.

4.2.3 Выделение микроорганизмов, идентификацию видов и дифференциацию разновидностей на основе изучения морфологических, культуральных, биохимических, антигенных и других биологических свойств чистых культур (определения серотипа, фаготипа, пиоцинотипа, чувствительности к антибиотикам и т. д.).

4.2.1. МИКРОСКОПИЯ МАТЕРИАЛА

Бактериоскопическое исследование патологического материала является важным и информативным методом, который позволяет получить представление об интенсивности микробного обсеменения, соотношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов и их форм, о выраженности фагоцитоза.

Тампоном на стекле делается мазок, срезом органа-отпечаток, жидкий материал из шприца выдавливается каплей, комок мокроты или слизи растирается между двумя предметными стеклами.

При подозрении на интенсивную обсемененность материала мазки и отпечатки делают параллельно на втором предметном стекле, куда предварительно нанесена капля дистиллированной воды. Мазки высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем горелки или 3—5 минут в смеси спирта с эфиром и окрашивают по Граму.

4.2.2. ПОСЕВ МАТЕРИАЛА НА ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Набор питательных сред для посева материала определяется видами микроорганизмов, которые необходимо обнаружить в исследуемом клиническом материале.

Перечень питательных сред, на которые следует производить посев для выявления различных условно-патогенных микроорганизмов, представлен в таблице № 22, рецепты питательных сред — в приложении № 1.

4.2.2.1. Посев при качественном исследовании

Кровь. Посев крови производится немедленно (у постели больного) из шприца без иглы во флакон с 50—100 мл питательной среды (соотношение 1 : 5—1 : 10) с соблюдением всех правил асептики.

Гной, материал открытых и закрытых очагов. Посев на плотные питательные среды производится газоном ват-

Таблица № 22

Питательные среды для посева материалов от персонала, больных и лиц, соприкасавшихся с ними

Среды	Материал								
	Кровь	Гной, материал открытых и закрытых очагов	Мокрота	Моча, желчь	Испражнения	Ликвор	Материал носа и носоглотки	Материал половых органов	Трупный материал
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
I. Основные среды 0,15% агаризованный сахарный бульон или среда «6—Б»	+								+ (кровь)
5% кровяной агар	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10% желточно-солевой агар или элективная среда для стафилококков	×	+	+	+	+	×	+	+	+
Эндо или Конго-рот агар	×	+	+	+	+	×	×	+	+
Среда для контроля стерильности (СКС) или тиогликолевая среда (ТГ) или среда Китт — Тароцци (К — Т), ДАШВ	+	+	+	+		+		+	+
СКС или ТГ или К — Т с налидиксовой кислотой	×	+	+	+		+		+	+
СКС или ТГ или К — Т с канамицином и желчью	×	+	+	+		+		+	+
Сабуро или метабисульфитная среда, рисовый или кукурузный агар	×	+	+	+	+	×	+	+	+
20% сывороточный агар или тиамин-цистин глютаминовый агар с 5% сыворотки	×					+			
0,15% полужидкий сывороточный агар						+			
1% сахарный бульон		+	×	×			+	+	×

Продолжение

Среды	Материал								
	Кровь	Гной, материал открытых и закрытых очагов	Мокрота	Моча, желчь	Испражнения	Ликвор	Материал носа и носоглотки	Материал половых органов	Трупный материал
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
II. Специальные среды «А-2» (аэромонады)	×	×	×	×	×	×	×	×	×
«К-2» (клебсиеллы)	×	×	×	×	×	×	×	×	×
«П-2» или «СПП» (протеи)	×	×	×	×	×	×	×	×	×
«ПЭ-2», ЦПХ, «Блеск» псевдомонады)	×	×	×	×	×	×	×	×	×
5% кровяной агар с дисками сапонина или шоколадный агар с 5% экстракта дрожжей (гемофильная палочка)	×	×	+	×	×	+	×	×	×
Желчно-щелочной агар (энтерококки)	×	×	×	×	×	×	×	×	×

ным тампоном, которым отбирался материал. При наличии жидкого субстрата пастеровской пипеткой (бактериологической петлей) или из шприца наносят несколько капель на поверхность среды и распределяют шпателем.

Инородные предметы ран и органов. Посев на плотные питательные среды производят тампоном, которым отбирался смыв или засевают смывную жидкость в количестве 0,1 мл.

Мокрота. Перед посевом мокрота подвергается гомогенизации в тканевом измельчителе РТ-2 или путем растирания в ступке с кварцевым песком или с помощью встряхивания в склянке со стеклянными бусами на шуттель-аппарате и разводится в соотношении 1 : 10. По 0,1 мл исходного разведения распределяется по поверхности плотных питательных сред шпателем.

Испражнения. Материал после дефекации и с ректальных тампонов разводится в физиологическом растворе в соотношении 1 : 10. По 0,1 мл суспензии засевается на плотные питательные среды и распределяется шпателем. При заборе в консервант высевается 0,1—0,2 мл на среду.

Ликвор. Предварительная обработка и посев осуществляется немедленно с соблюдением всех правил асептики. Перед посе-

вом ликвор центрифугируют при 3500 об/мин в течение 5 минут. Осадок отбирают пастеровской пипеткой и засевают по 0,1 мл на плотные среды шпателем. Оставшийся в пипетке материал используют для микроскопии. Остаток пробы в пробирке заливают средой обогащения (0,1 % полужидкий сывороточный агар) в соотношении 1 : 10.

Трупный материал. Перед посевом кусочки органов раздельно гомогенизируют в ступке с физиологическим раствором в соотношении 1 : 10. Взвесь массивно засевается на плотные среды шпателем. Посев других видов материалов осуществляется по общепринятым методикам.

Особенности посева материала на наличие анаэробных микроорганизмов

Посев клинического материала необходимо осуществлять немедленно после взятия пробы с целью сокращения времени ее контакта с воздушной средой. Оптимальным является посев на специальные среды у постели больного.

Кровь немедленно (у постели больного) вносится проколом в герметизированный флакон со средой для контроля стерильности или тиогликолевой средой.

Все другие виды клинического материала засеваются одновременно на все специальные среды для анаэробных микроорганизмов (таблицы № 16 и № 17). Содержимое закрытых и условно открытых очагов можно засевать шприцом проколом в герметизированные флакончики со средами или уколом шприцом, бактериологической петлей или непосредственно ватным тампоном в глубину пробирки с высоким столбиком сред. Биоптаты, кусочки трупного материала помещают пинцетом непосредственно в глубь пробирки с высоким столбиком среды.

Все пробирки сразу же после посева материала закрываются резиновыми пробками.

4.2.2.2. Посев при количественных методах исследования

Определение количества микробных клеток на тампоне методом серийных разведений

Материал отбирают влажным ватным тампоном и помещают в пробирку с 5 мл жидкой питательной среды (физиологического раствора). Тампон отмывают встряхиванием в течение 5 минут, отжимают надавливанием на стенки и удаляют из пробирки. Из исходной микробной взвеси готовят отдельными пипетками десятикратные разведения от 10^{-1} до 10^{-7} в объеме 5 мл (0,5 мл смывной жидкости в 4,5 мл жидкой питательной среды). По 0,1 мл каждого десятикратного разведения (или только нечетные) наносят отдельной пипеткой на чашку с плотной питательной средой и отдельным стеклянным шпателем равномерно распределяют по поверхности агара. Посев, как правило, производится на 5 % кровяной агар. При целенаправленных исследованиях используют

селективные среды (таблица № 22). Инкубация при 37 °С в течение 24—48 часов.

Количество микроорганизмов на тампоне определяют по величине титра. Например, обнаружение 5 колоний микроорганизмов на чашке, засеянной 0,1 мл разведения 10^{-3} (титр), свидетельствует о наличии в 1 мл смыва микроорганизмов в концентрации $10^4 \times 5$, а на всем тампоне $10^4 \times 5 \times 5$.

Определение количества микробных клеток на желатиновом тампоне методом серийных разведений

Материал отбирают желатиновым тампоном (приложение № 2). После взятия материала желатиновый тампон помещают в пробирку с 5 мл физиологического раствора (жидкой питательной среды). Пробирку с опущенным тампоном инкубируют на водяной бане при 40 °С в течение 30 минут для расплавления желатины.

Ход исследования и подсчет изложен выше.

Определение количества микробных клеток методом серийных разведений в мокроте

Предварительно гомогенизированная и разведенная в соотношении 1 : 10 мокрота подвергается серийному десятикратному разведению от 10^{-1} до 10^{-7}. На чашки с 5 % кровяным агаром засевают нечетные разведения материала и накладывают несколько бумажных дисков с сапонином (элективные условия для гемофильных палочек).

Ход исследования и подсчет изложен выше.

Ориентировочный метод определения количества микробных клеток на тампоне

Материал на тампоне отмывают в пробирке с 5 мл физиологического раствора (жидкой питательной среды) встряхиванием в течение 5 минут, тампон отжимают и удаляют. Материал перемешивают и 0,1 мл смывной жидкости засевают на плотную питательную среду. Выбор сред определяется целями исследования. После инкубации при 37 °С в течение 24—48 часов подсчитывают общее количество колоний, отдельно число колоний различной морфологии и дается ориентировочная оценка роста колоний с указанием соотношения различных видов.

Оценка роста колоний:

++++ — сливной рост;

+++ — сплошной рост изолированных колоний;

++ — значительный рост (до 100 колоний);

\+ — единичные колонии (10—25 колоний).

Сливной и сплошной рост соответствует, как правило, массивности обсеменения 10^3 и выше микробных клеток на тампоне.

Определение количества микробных клеток посевом стандартной петлей:

а) Исследование м о ч и. Пробу мочи перед посевом тщательно перемешивают. Посев производится стандартной (3 мм в диа-

метре) полной бактериологической петлей на плотную питательную среду в чашку Петри, разделенную на 4 сегмента: А, I, II, III. На участке среды сегмента А делают посев 40 штрихами, затем после прожигания петли производят 4 штриховых посева из сегмента А в I сегмент, аналогичным образом из I во II сегмент и из II в III сегмент.

После инкубации при 37 °С в течение 24 часов устанавливают степень бактериурии (число бактерий в 1 мл) в зависимости от номера сегмента и количества выросших на нем колоний микроорганизмов (таблица № 23).

Таблица № 23

Степень бактериурии при различных вариантах роста колоний микроорганизмов (В. С. Рябинский, В. Е. Родоман, 1966)

Бактерий в 1 мл	Число колоний на сегменте			
	А	I	II	III
Менее тыс.	1—6			
1 тыс.	8—20			
5 тыс.	20—30			
10 тыс.	30—60			
50 тыс.	70—80			
100 тыс.	100—150	5—10		
500 тыс. *	большое	20—30		
1 млн.	не сосчитать	40—60		
5 млн.	не сосчитать	100—140	10—20	
10 млн.	не сосчитать	не сосчитать	30—40	
50 млн.	не сосчитать	не сосчитать	60—80	единичные
100 млн.	не сосчитать	не сосчитать	80—140	до 25

* — диагностический титр.

После дальнейшей идентификации при выделении ассоциации микроорганизмов указывается их соотношение.

б) Исследование мокроты. Мокроту отмывают физиологическим раствором. К отмытым комочкам добавляют 1 % раствор панкреатина (готовят ex tempore) и растирают в фарфоровой ступке в течение 5 минут. Инкубация при 37 °С с периодическим перемешиванием в течение 20—40 минут до полной гомогенизации. Стандартную (3 мм в диаметре) полную бактериологическую петлю засевают на 5 % кровяной агар и на шоколадный агар. Посев производят на сегменты как при исследовании мочи. После инкубации при 37 °С в течение 24 часов производят учет количества выросших колоний микроорганизмов и определяют бактериальную обсемененность мокроты (число микроорганизмов в 1 мл) (таблица № 24).

Таблица № 24

Степень бактериальной обсемененности мокроты при различных вариантах роста колоний микроорганизмов
(А. В. Шапиро, Ю. М. Фельдман, 1983)

Учет бактерий в 1 мл×10³	Число колоний на сегменте			
	А	I	II	III
Менее 1	единичные			
1	5—10			
5	10—20			
10	20—30			
50	30—50	единичные		
100	50—100	5—10		
500	очень большое	10—20		
1000	очень большое	20—40	единичные	
5000	очень большое	40—80	10—20	
10 000	очень большое	80—150	20—40	
50 000	очень большое	очень большое	40—80	единичные
100 000	очень большое	очень большое	80—140	до 10—20

Определение количества микробных клеток на бактериологической печатке

Бакпечаткой (приложение № 2) 4,5 см в диаметре касаются исследуемой поверхности. После инкубации при 37 °С в течение 24—48 часов подсчитывают количество колоний и производят пересчет на 1 см².

4.2.3. ВЫДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ ВИДОВ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ РАЗНОВИДНОСТЕЙ МИКРООРГАНИЗМОВ

При диагностике ГСИ в лаборатории должны быть организованы исследования по выделению и идентификации всех микроорганизмов, перечисленных в таблице № 1. Дифференциация видов и разновидностей проводится в зависимости от конкретных задач исследования.

В этих целях для посева клинического материала используют среды общего назначения и специальные (таблица № 22).

Методы идентификации и дифференциации основаны на изучении культуральных, морфологических, биохимических и серологических свойств выделенных культур; определении чувствительности к бактериофагам и антибиотикам, бактериоциногении и бактериоциночувствительности.

Изучение культуральных свойств осуществляется при визуальном просмотре колоний на твердых питательных средах. Обращают внимание на величину, форму, характер поверхности, края, консистенцию, цвет колоний, наличие пигмента, гемолиза и т. д. На жидких средах отмечается характер роста, степень про-

зрачности, цвет среды, наличие пигмента, осадка, пленки и т. д.

Изучение морфологических свойств выделенных штаммов проводится путем микроскопического исследования отдельных колоний. Делают мазки на предметных стеклах, фиксируют над пламенем горелки или в жидких фиксаторах (96° спирт, смесь Никифорова) и производят дифференциальное окрашивание по Граму или ориентировочное синькой Лёффлера и др. В случае грамвариабельности микроорганизмов используют «КОН» — тест (приложение № 3).

Биохимические свойства определяют посевом на элективные и дифференциально-диагностические среды и постановкой биохимических реакций для выявления ферментативной активности и способности утилизировать различные питательные вещества (приложение № 3).

Для определения серологических свойств используют видоспецифические и типоспецифические сыворотки в реакции агглютинации на стекле.

Фагочувствительность определяют при помощи международных и местных наборов фагов, лизирующих большинство культур.

Бактериоцинотипирование производится с помощью набора индикаторных культур.

Определение антибиотикограммы в эпидемиологических целях проводится со строго определенным постоянным набором антибиотиков методом дисков или методом серийных разведений. Для испытания чувствительности культур к антибиотикам обязательно необходимо применять максимальный набор дисков или препаратов, включая средства, которые применяются в данном стационаре для лечения.

При ассоциации микроорганизмов в исследуемом материале отношение к антибиотикам определяется к каждому виду отдельно. Для выдачи предварительного ответа и в случае монокультуры (материал из закрытых и условно-открытых очагов) определение антибиотикочувствительности методом дисков возможно при первичном посеве материала.

По культуральным, морфологическим, тинкториальным и некоторым биохимическим свойствам проводится дифференциация выделенных микроорганизмов до рода или семейства. Ключ дифференциации представлен в таблице № 25.

Для ускорения дифференциации грамотрицательных бактерий, отсеваемых со среды Эндо, можно воспользоваться ведущими тестами: изменением среды Олькеницкого, среды Хью-Лейфсона и результатом пробы на цитохромоксидазу. Использование этого минимального набора тестов позволяет на второй день исследования отдифференцировать некоторые бактерии до семейств, родов и даже видов. Ключ дифференциации представлен в таблице № 26.

Схемы микробиологического исследования материала от персонала, больных и лиц, соприкасавшихся с ними, представлены в таблицах № 27 и № 28.

Таблица №25

Ключ дифференциации микроорганизмов-возбудителей ГСИ до семейств и родов

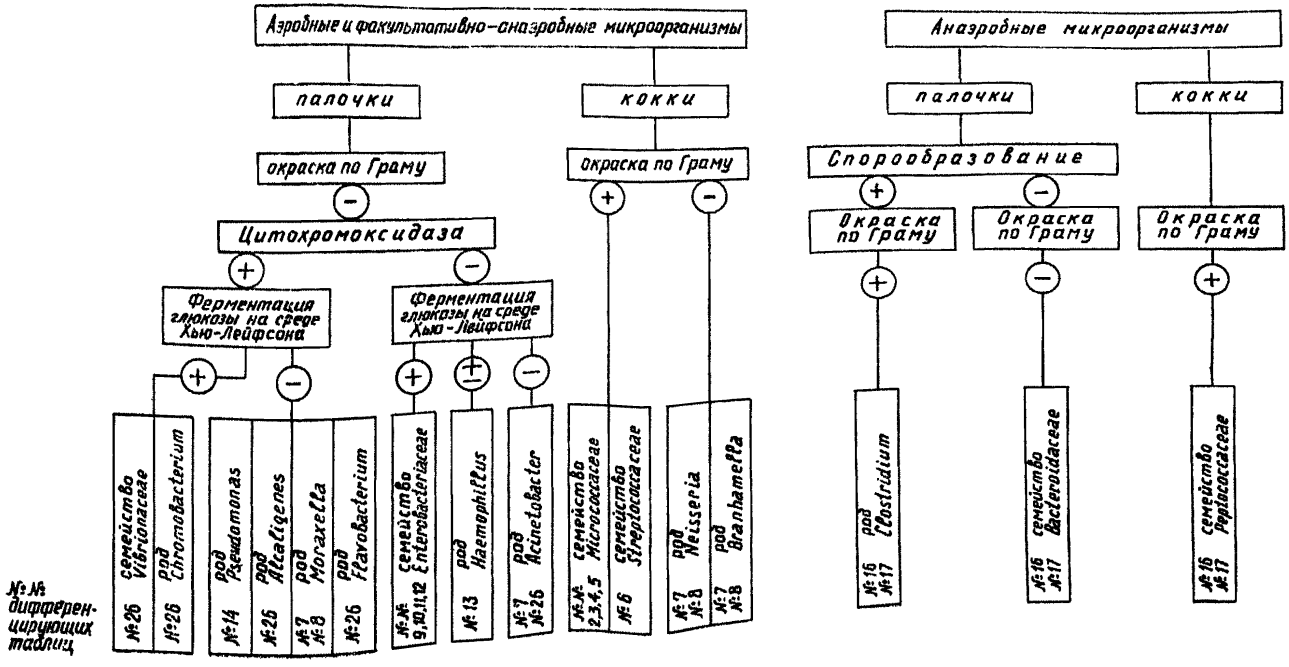
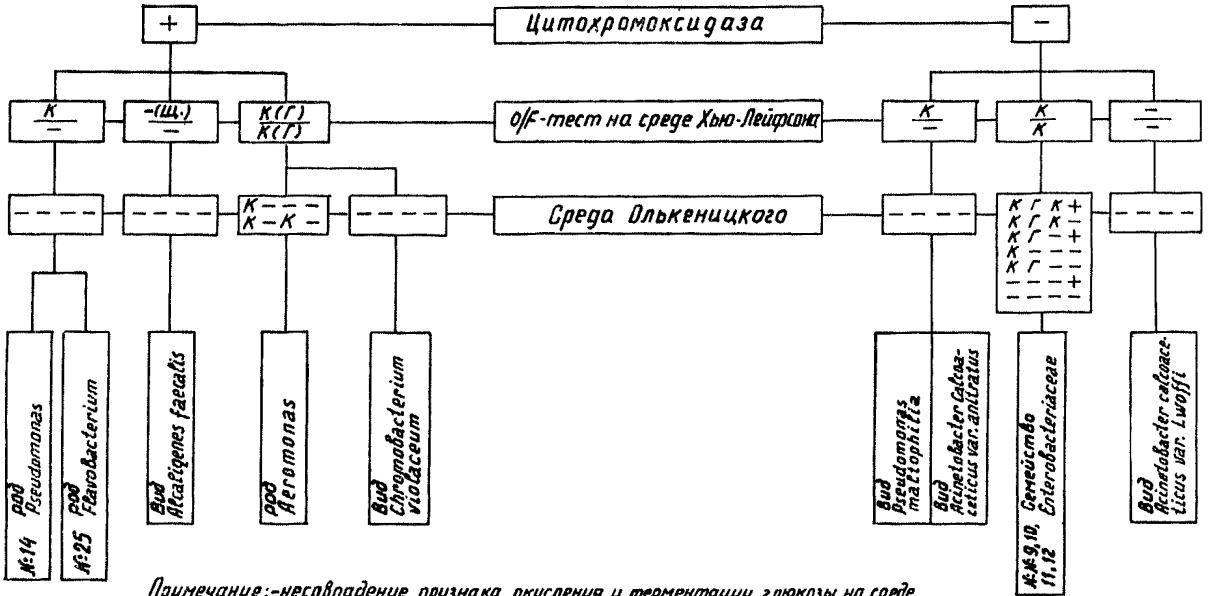


Таблица № 26

Ключ дифференциации грамотрицательных палочек и коккобактерий, отсеваемых со среды Эндо по минимальному набору тестов



Примечание: – несовпадение признака окисления и ферментации глюкозы на среде Хью-Лейфсона и на среде Олькеницкого (3-х сахарный агар) определяется содержанием в среде Олькеницкого значительно меньшего количества глюкозы и наличием мочевины, которая вызывает пощелачение среды и маскирует расщепление углеводов.

– для идентификации вида обязательно определение подвижности и морфологии.

Таблица №27

Схема микробиологического исследования клинического материала на аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы

№ п/п	Наименование материала	I День		II День			III День			IV День				V День
		Микроскопия нативного материала и выдача ориентировочного ответа	Обогащение, разведение (при необходимости) и первичный посев	Среды для первичного посева	При наличии роста: Учет культуральных свойств и пересев колоний, подозрительных на:	При наличии роста: Среды для пересева	Учет культуральных свойств и роста на диф.-диагн. средах. Микроскопия чистых культур.	Отсев на диф.-диагн. среды (№ таб.)	Определение чувствительности к антибиотикам	Учет роста на диф.-диагн. средах (№ таб.)	Учет чувствительности к антибиотикам	Определение биотипов	Выдача ответа с указанием вида, антибиотикограммы и серотипа	Выдача окончательного ответа с указанием:
1	Кровь, материал из ран, открытых очагов, носа и носоглотки, глаз, ушей, половых органов, трупный, испражнения, желчь, моча, мокрота			5% КА	сем. нейссерий	5% КА, МПА	№25	№25	—	№7, №8, №25	—	серотипирование	—	вида, серотипа, антибиотикограммы.
					сем. стрептококков	5% КА				№6				
				5% КА с дисками	род гемофилов	5% КА с дисками				№13				
					и другие (при необходимости)	МПА				№25, №26 и таблицы, диф. виды				
				10% ЖСА	род стафилококков	МПА				№2, №3, №4, №5		фаготипирование и биотипирование		вида, фаготипа, антибиотикограммы.
				Эндо	сем. энтеробактерий	Хью-Лейфсона, Олькеницкого, МПА	№25, №26	№25, №26		№9, 10, 11, 12		серо-, фаго, пиоцинотипирование		вида, серотипа, фаготипа, пиоцинотипа, антибиотикограммы.
					род аэромонас					№26				
					род псевдомонас					№14				
					род алкалигенес					№26				
					род хромобактерий					№26				
					род флавобактерий					№26				
				Сабуро (инкубация от 3 до 7 дней)	род кандида	Рисовый агар (при неэффективности инкубации до 7 дней)	№18	№18	—	№18	—	—	—	вида на 3-14 день.

Продолжение таблицы № 27

№ п/п	Наименование материала	I День			II День			III День	IV День			V День
		Особенности посева		Среды для первичного посева	При отсутствии роста	При наличии роста			Отсев на на среды (№№ табл)	Учет роста (№№ табл.)		Определение биотипов	Выдача окончательного ответа с указанием:
						Учет роста на средах, микроскопия и пересев.	Среды для пересева	Учет культуральных свойств роста на диф.-диагн. средах. Микроскопия чистых культур.			учет чувствительности к антибиотикам		
2.	Кровь ⊗	Прямой посев непосредственно (у постели больного)		Среда „6 Б" или 0,15% агаризованный сахарный бульон	Высев на 5% КА каждые 48 часов в течение 10 дней		5% КА		Табл. №№ 25, 26, 18.	Табл. №25 №26 и таблицы, диф. виды			Вида, биотипа, антибиотикограммы. Отрицательный ответ на 10 день после 5-ти кратных высевов из среды для первичного посева.
3.	Ликвор ⊗	Микроскопия нативного материала и выдача ориентировочного ответа	Центрифугирование и первичный посев	Сывороточный агар; 5% КА с дисками сапонина ⊗⊗ 0,15% полужидкий сывороточный агар (остаток материала)	Высев из среды обогащения на сывороточный агар каждые 48 часов в течение 6 дней		Сывороточный агар; 5% КА с дисками сапонина ⊗⊗						Вида, биотипа, антибиотикограммы. Отрицательный ответ на 6 день после 3-х кратных высевов из среды обогащения.

Примечание: ⊗ — при обнаружении микроорганизмов в монокультуре срок исследования сокращается на 1 день.

⊗⊗ — при отсутствии сапонина посев производят на „шоколадный" агар (для гемофилов).

Таблица №28

Схема бактериологического исследования клинического материала на анаэробные микроорганизмы

№№ п/п	Наименование материала	I день			II-V день		III-VII-день		
		Экспресс-диагностика нативного материала и возможные результаты	Особенности посева	Среды для первичного посева и инкубация	Учет результатов первичного посева. Микроскопия	Среды для пересева и инкубация	Учет результатов пересева (см. табл. №16 и №17)	Микроскопия	Выдача ответа
1.	Кровь	Микроскопия и газохроматографический анализ - возможно обнаружение бактероидов, фузобактерий, пептококков, пептострептококков, клостридий и других микроорганизмов. Люминесцентная микроскопия в УФЛ - возможно обнаружение Bact. melaninogenicus и его группы.	Немедленно (у постели больного) проколом в герметизированный флакон.	СКС или ТГ 37°С до 10 дней с пересевами		5% КА на основе СКС 37°С в условиях эксикатора в течение 24-48 часов			
2.	Ликвор		Немедленно проколом в герметизированные пенициллиновые флакончики со средами или „уколом" шприцом, петлей или тампоном вглубь пробирки с высоким столбиком сред.	СКС или ТГ или К-Т; СКС или ТГ или К-Т с новидиксовой кислотой; СКС или ТГ или К-Т с канамицином и желчью.					
3.	Гной, материал закрытых и условно-открытых очагов								
4.	Мокрота								
5.	Моча								
6.	Трупный материал, биоптаты		Немедленно пинцетом вглубь пробирки с высоким столбиком сред	37°С - 24-96 час.					

4.2.4. ДОКУМЕНТАЦИЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Медицинская документация в бактериологических лабораториях ведется в соответствии с приказом № 1030 МЗ СССР от 4/X—1980 г.

В журналах и картотеках регистрируются виды и ход бактериологических исследований. В этих документах в паспортной части целесообразным является отражение следующих данных — порядковый номер, Ф. И. О., возраст обследуемого, стационар, отделение, палата, номер истории болезни, диагноз основного заболевания, диагноз осложнения, вид и характеристика материала для исследования, дата (при необходимости час) взятия материала, дата и срок начала и окончания исследования.

В разделе документа, характеризующего ход исследования, должны быть представлены все этапы и методы исследования с указанием используемых сред, сроков пересевов, результатов учета роста на каждой среде и этапе исследования, тесты определения биотипов микроорганизмов.

В графе результаты исследования должны быть указаны вид и разновидность выделенного микроорганизма, его особенности в случае нетипичности, антибиотикограмма, дата выдачи ответа и подпись врача-бактериолога, выдавшего ответ.

Возможно ведение двух журналов. Журнал № 1 включает паспортную часть, номер анализа по журналу № 1 и номер анализа по журналу № 2 результат анализа с указанием даты выдачи ответа. Журнал № 2 отражает весь ход исследования (графы журнала составляются применительно дифференциальным таблицам), результаты исследования, дату выдачи ответа, подпись врача-бактериолога.

Для эпидемиологических целей особое значение имеет правильность и полнота формулировок в направлении материала для исследования из стационара и формулировка результатов бактериологического исследования из лаборатории.

В направлении обязательно указывается: Ф. И. О. больного, номер истории болезни, номер палаты, отделение, диагноз основного заболевания, диагноз ГСИ, вид направляемого материала и цель исследования, дата и время отбора материала, подпись врача, направившего материал на исследование (приложение № 4).

При оформлении ответа бактериологического анализа из лаборатории обязательно указывается лечебное учреждение куда направляется ответ (поликлиника, стационар, отделение), Ф. И. О. больного, номер истории болезни, диагноз основной и ГСИ, дата и время поступления материала, результат анализа с указанием вида и биотипа микроорганизма, чувствительности к бактериальным препаратам (антибиотики и др.); количественной характеристики (общее количество микроорганизмов в 1 мл и соотношение

отдельных видов); дата выдачи ответа, подпись врача, проводившего исследование (приложение № 4).

Сроки выдачи результатов бактериологического анализа и возможные варианты формулировок ответов при обнаружении аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов представлены ниже.

В первый день исследования по результатам микроскопии нативного материала ориентировочный ответ выдается в следующих формулировках:

Например: 1. «В исследуемом материала при прямой бактериоскопии обнаружены грамположительные кокки, сходные по морфологическим и тинкториальным свойствам с представителями семейства Micrococcaceae или «... грамотрицательные кокки, сходные с представителями семейства Neisseriaceae. Исследование продолжается.»

2. «В исследуемом материале при прямой бактериоскопии бактерий не обнаружено. Исследование продолжается».

На второй день предварительный ответ выдается по результатам морфологии и культурных свойств на плотных питательных средах.

Например: «В исследуемом материале обнаружены микроорганизмы семейства Enterobacteriaceae» или «... рода Pseudomonas», или «..., сходные с представителями рода Streptococcus».

Предварительный ответ на третий день исследования выдается по результатам микроскопии, учета культуральных свойств чистых культур и роста на ключевых дифференциально-диагностических средах.

Например: «В исследуемом материале обнаружен Al. faecalis» или «... Ps. aeruginosa серогруппы 2.

На четвертый и пятый день окончательный ответ выдается по результатам изучения дифференциально-диагностических свойств, определения чувствительности к антибиотикам, биотипирования с указанием наименования вида по бинарной номенклатуре, антибиотикограммы, серогруппы (-вара), фагоформулы, пиоциноформулы.

Например: «В исследуемом материале обнаружен Staph. aureus чувствительный к левомицитину, оксациллину, гентамицину; фагогруппа II, тип 71» или «... Ps. aeruginosa фагоформула — 44/68/119x/Col 21; пиоциноформула — 128416».

При количественном анализе в ответе указывается общее количество микробных клеток в одном мл и соотношение отдельных видов микроорганизмов с указанием преобладающего.

При исследовании клинического материала на наличие анаэробов необходимо всегда оценивать результаты микроскопии нативного материала и сопоставлять их с результатами посева на специальные питательные среды. Для полноты окончательного ответа

ориентируются на мазок из нативного материала, так как к возбудителям ГСИ причастны ассоциации анаэробов и не всегда эти микроорганизмы нативной пробы в дальнейшем дают рост на средах.

Обнаружение анаэробов в посевах крови и ликвора оценивается как клинически значимое. Присутствие однообразных анаэробных колоний в значительном количестве и в повторных пробах свидетельствует о бактериемии. Наибольшее количество разнородных колоний, обнаруженных в одной из проб, указывает на загрязнение материала.

Однозначно оцениваются положительные результаты посевов из изолированных (закрытых) очагов любой локализации.

Наличие анаэробов в пробе мочи, взятой надлобковой пункцией, имеет диагностическое значение даже без количественного подсчета микроорганизмов.

Существенные затруднения возникают при оценке результатов исследования материала в случае условно открытых очагов, где имеется вероятность загрязнения анаэробной микрофлорой извне.

При исследовании трупного материала важное значение следует придавать бактериоскопии тканевых срезов мышц и межфасциальных пространств, где преимущественно обнаруживаются анаэробные микроорганизмы (клостридии и кокки).

В случае обнаружения анаэробных микроорганизмов ответ выдается в следующих формулировках:

Например: 1. «В исследуемом материале обнаружены в монокультуре микроорганизмы группы B. fragilis (или B. melaninogenicus или F. nucleatum) или семейства Peptococcaceae или Cl. perfringens».

2. «В исследуемом материале обнаружены в ассоциации микроорганизмы группы B. fragilis и семейства Peptococcaceae».

3. «В исследуемом материале обнаружены анаэробные и аэробные микроорганизмы — Cl. perfringens и Str. pyogenes.

4.3. САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ МАТЕРИАЛА ИЗ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ В СТАЦИОНАРАХ

Объекты окружающей среды подвергаются плановому исследованию и по эпидемическим показаниям.

Задачи и содержание планового бактериологического контроля противоэпидемического режима в лечебно-профилактических учреждениях представлены в таблице № 29.

Схемы санитарно-микробиологического исследования объектов окружающей среды хирургических стационаров и аптек при плановом контроле приводятся в таблицах № 30 и № 31.

При возникновении ГСИ (по эпидемическим показаниям) возникает необходимость проведения целенаправленных исследований проб из объектов окружающей среды стационара.

Таблица №29

Задачи и содержание планового санитарно-микробиологического контроля противоэпидемического режима лечебно-профилактических учреждений

№ п/п	Учреждения, осуществляющие контроль	Частота	Содержание	Объекты	Место отбора	Задачи исследования
1	2	3	4	5	6	7
1.	Санитарно-эпидемиологические и дезинфекционные станции (бактериологические лаборатории)	2 раза в год (хирургические стационары) 4 раза в год (акушерские стационары)	Контроль санитарно-гигиенического режима	Воздух	Помещения, требующие асептических условий: операционные блоки, перевязочные, предоперационные и послеоперационные палаты, отделения и палаты реанимации и интенсивной терапии; родильные залы, палаты для новорожденных, комнаты сбора и стерилизации грудного молока.	Определение содержания в 1 м³: 1) общего количества микроорганизмов; 2) золотистого стафилококка.
				Предметы окружающей среды и руки персонала (приказы МЗ СССР: №: 720 от 31.VII-78; №: 1230 от 6.XII-79).		Обнаружение микроорганизмов: стафилококк; БГКП; синегнойная палочка; аэромонады (по показаниям); протей (акушерские стационары).
			Контроль стерильности	Хирургический инструментарий и материал, руки хирурга, кожа операционного поля, грудное молоко, лекарственные формы (приказы МЗ СССР: №720 от 31.VII-78; №1230 от 6 XII 79, №60 от 17.1-79).		Выявление отсутствия или наличия микроорганизмов.
2.	Лечебно-профилактические учреждения (бактериологические лаборатории)	1 раз в месяц (хирургические стационары)	Контроль санитарно-гигиенического режима	Воздух, предметы окружающей среды, руки персонала.		Обнаружение микроорганизмов в 1 м³ воздуха и на предметах
		1 раз в неделю	Контроль стерильности (выборочно)	Хирургический инструментарий и материал, руки хирурга, кожа операционного поля, грудное молоко, лекарственные формы.		Выявление отсутствия или наличия микроорганизмов.
		1 раз в 6 месяцев (хирургические стационары) 1 раз в 4 месяца (акушерские стационары)	Контроль носительства	Персонал отделений хирургического профиля и акушерских стационаров	Нижние носовые ходы	Обнаружение золотистого стафилококка.

Продолжение таблицы № 29

1	2	3	4	5	6	7
3	Санитарно-эпидемиологические станции (бактериологические лаборатории), лечебно-профилактические учреждения (бактериологические лаборатории).	1 раз в квартал	Контроль санитарно-гигиенического режима	Воздух	АПТЕКИ	Определение содержания в 1 м³: 1) общего количества микроорганизмов
				Оборудование, инвентарь и руки персонала (приказы МЗ СССР: № 79 от 25.II-57; № 573 от 30.XI-62; Метод. указания № 1201-74 от 4.XII-74).		Обнаружение микроорганизмов: 1) БГКП; 2) Синегнойная палочка; 3) протеи.
			Контроль режима приготовления	Исходный и вспомогательный материалы для лекарственных форм		Определение: 1) общего количества микроорганизмов в 1 мл; 2) количества плесневых грибов в 1 мл; 3) БГКП и их титра (при необходимости); 4) синегнойной палочки; 5) протея.
		2 раза в квартал (СЭС) 1 раз в месяц (ЛПУ)		Инъекционные р-ры (до стерилизации), глазные капли и дистиллированная вода для их изготовления (приказ МЗ СССР № 1029 от 12.XI-74).		
			Контроль стерильности (выборочно)	Стерильные инъекционные растворы		Выявление отсутствия или наличия микроорганизмов

Таблица № 30

Схема санитарно-микробиологического исследования хирургических стационаров в плановом порядке

№№ п/п	Наименование объекта	Задачи исследования	I День		II День	III День			IV День		Срок выдачи ответа с указанием:
			Особенности посева	Среды для первичного посева	Учет результатов первичного посева	Среды для пересева	Микроскопия	Учет результатов первичного посева и пересева	Среды для пересева	Микроскопия. Учет результатов пересева	Диф.-диагн. среды	
1	Воздух	Определение общего количества микроорганизмов в 1 м³	Методом аспирации 100 л, седиментации 10 мин. на 2 чашки	2% МПА 37°С-24 ч. и 22°С-24 ч.	—	—			—		—	3 день-общего количества микроорганизмов и плесневых грибов в 1 м³
		Определение содержания золотистого стафилококка в 1 м³	Методом аспирации 250 л, седиментации 40 мин. на 2 чашки	ЖСА 37°С - 24 ч. 22°С - 24 ч.	—	Скошенный 2% МПА 37°С - 24 ч.					плазмокоагулаза, ферментация маннита (при необходимости)	4 день-содержания золотистого стафилококка в 1 м³
2	Предметы окружающей среды, руки персонала	Обнаружение золотистого стафилококка	прямой посев	— и —								4-5 день-наличия или отсутствия золотистого стафилококка
			Смывная жидкость	МПБ с 6,5% NaCl 37°С - 24 ч.		ЖСА 37°С - 24 ч. 22°С - 24 ч.						
		Обнаружение БГКП	прямой посев	среда Кесслер 37°С - 24 ч.		среда Эндо 37°С - 24 ч.			ЦХО-тест, среда Гисса с глюкозой 43°С - 24 ч.		—	4-5 день - наличия или отсутствия бактерий группы кишечной палочки
		Обнаружение синегнойной палочки							МПА с 2-5% глицерина и маннита		5% КА	4-5 день - наличия или отсутствия синегнойной палочки
3	Руки хирурга, кожа операционного поля	Контроль стерильности	Смывная жидкость на 2 чашки	2% МПА 37°С - 48 ч.	—	—				—	—	3-5 день-отсутствия или наличия роста
			Прямой посев в 2 пробирки	0,5% сахорный МПБ 37°С 48 ч.								
	Инструменты, шовный материал и др.		Обработка шовного материала (приказы МЗ СССР: № 720 от 31. VII-78; № 1230 от 6. XII-79; № 60 от 17.1-79). Прямой посев в 2 пробирки.	0,5% сахорный МПБ 37°С - 8 суток		Скошенный 2% МПА (при наличии роста) 37°С - 24 ч.						3-9 день-отсутствия или наличия роста
				Тиогликолевая среда 37°С - 8 суток								
				Бульон Собуро 22°С - 8 суток								

Таблица №31

Схема санитарно-микробиологического исследования материалов из аптек в плановом порядке

№№ п/п	Наименование материала	Задачи исследования	I День: Среды для первичного посева и объем материала	I День: Инкубация	Учет результатов посева	II День: Среды для пересева и инкубация	Микроскопия	Учет результатов посева	III День: Диф.-диагн. среды и тесты	Срок выдачи ответа с указанием:	
1.	Дистиллированная вода для лекарственных форм, для инъекционных р-ров и глазных капель, инъекционные р-ры (до стерилизации) и глазные капли, водные р-ры и суспензии для ингаляций, фильтрующие материалы "Сухие и масляные лекарственные средства".	Определение общего количества микроорганизмов в 1 мл	2% МПА на 2 чашки по 1,0 мл	37°С-24 ч. и 22°С-24 ч.		—			—	3 день - общего количества микроорганизмов в 1 мл.	Приказ №535 МЗ СССР от 30.11-62. (приложение №1)
		Определение количества плесневых грибов в 1 мл	Среда Сабуро на 2 чашки по 0,5 мл	20-22°С - 3-4 суток		—			—	4-5 день - количества плесневых грибов в 1 мл	
		Определение бактерий группы кишечной палочки	ГПС, разведенная по 1мл в 9 мл среды; ГПС концентрированная по 7мл в 1 мл среды (для аптечной посуды)	37°С - - 24 ч.		среда Эндо ⊕ 37°С - 24 ч.			среда Гисса с глюкозой 43°С - 24 ч.	4 день - отсутствия или наличия БГКП в 1 мл	
		Определение бактерий рода протея	Конденсационная вода свежескошенная 2% МПА по 0,1 мл			—			—	2 день - отсутствия или наличия бактерий рода протея в 1 мл	
2.	Дистиллированная вода для лекарственных форм	Определение титра БГКП	ГПС концентрированная по 100 мл в 5 объемов			модифицированная среда Эндо 37°С - 24 ч.			ЦХО-тест, среда Гисса с глюкозой 43°С - 24 ч.	4 день - ГОСТ 18963-73 Таблица №2	

Продолжение таблицы №31

№№ п/п	Наименование материала	Задачи исследования	I День			II День		III День			Срок выдачи ответа с указанием:
			Среды для первичного посева и объем материала		Инкубация	Учет результатов посева	Среды для пересева и инкубация	Микроскопия	Учет результатов посева	Диф.-диагн. среды и тесты	
3.	Стерильные инъекционные растворы, глазные капли	Контроль стерильности	0,5% сахарный МПБ; тиогликолевая среда; Сабуро бульон	по 1 мл в 2 пробирки	8 суток		скошенный 2% МПА (при наличии роста) 37°С - 24 ч.			—	2 - 11 день - отсутствия или наличия роста
	Стерильные масляные средства				10 суток						

Примечание: ⊗ - перед посевом аптечная посуда, фильтрующие материалы отмываются 10 мл воды; сухие и масляные лекарственные средства разводятся до концентрации применения или в 10 раз;
⊕ - со среды Эндо возможно выделение протея и синегнойной палочки.

В этих случаях возможны следующие варианты организации санитарно-микробиологических исследований:

1) при известной этиологии ГСИ исследование проводится с целью выявления определенного микроорганизма — возбудителя инфекции;

2) при неизвестной этиологии ГСИ исследования проводятся на всю группу микроорганизмов — возможных возбудителей заболевания.

Кроме этого проводится санитарно-микробиологическое исследование объектов окружающей среды по схеме плановых исследований. Это необходимо для оценки санитарно-гигиенического состояния окружающей среды стационара в динамике, что достигается сопоставлением с предыдущими результатами санитарно-микробиологических исследований.

Таблица № 32

Специальные питательные среды для обнаружения возбудителей ГСИ из объектов окружающей среды (воздух, предметы, руки, лекарственные формы)

№ п/п	Микроорганизмы	Элективные питательные среды	
		Жидкие накопления	Плотные подтверждения
1	Все микроорганизмы	1% пептонная вода или МПБ	—
2	Стафилококки	МПБ с 6,5% NaCl	ЖСА или элективная среда для стафилококков
3	Стрептококки	1% сахарный бульон	5% кровяной агар
4	Энтеробактерии	Кесслер или глюкозо-пептонная среда	Эндо
5	Псевдомонады	Бонде или среда с ТТХ	ПЭ-2, «Блеск» или цетримидная среда
6	Аэромонады	А—1	А—2
7	Клебсиеллы	К—1	К—2
8	Протеи	П—1	П—2
9	Кандиды	Сабуро бульон	Сабуро или метабисульфитная среда

При известной этиологии заболевания задача заключается в том, чтобы определить объекты окружающей среды, на которых следует выявлять микроорганизмы, идентичные возбудителям ГСИ, и избрать наиболее рациональные методы их обнаружения.

Для выделения микроорганизмов из объектов внешней среды используется принцип накопления на жидких элективных средах с последующим пересевом на плотные элективные среды подтверждения.

В таблице № 32 представлены необходимые питательные среды, которые следует выбрать для посева материала из объектов внешней среды.

Для повышения возможности выделения некоторых групп микроорганизмов из объектов окружающей среды целесообразно использовать наряду со средами накопления и подтверждения дифференциально-диагностические и комбинированные среды (таблица № 33).

В случае неизвестной этиологии ГСИ отбор проб производится в 1 % пептонную воду или МПБ с последующим пересевом на плотные среды подтверждения. Если ко времени пересева становится известен возбудитель заболевания, то дальнейшее исследование проводится целенаправленно по обнаружению данного вида микроорганизма. Если возбудитель не удается обнаружить к этому сроку, то исследование продолжается с целью выделения микроорганизмов — наиболее частых возбудителей ГСИ (таблица № 21). Выделение и идентификация микроорганизмов проводится в соответствии с таблицами № 32, № 25 и др. — соответственно предполагаемому возбудителю.

Таблица №33

Схема санитарно-бактериологического исследования объектов окружающей среды на наличие микроорганизмов родов Klebsiella, Proteus Pseudomonas, Aeromonas.
(Калина Г.П., Трухина Г.М., Графова Т.И.)

№№ п/п	I День	II День		III день			IV день			Выдача окончательного ответа с указанием:	Идентификационные таблицы
	Первичный посев на среду накопления	Учет характера роста	Пересев на среду подтверждения		Учет культуральных свойств		Отсев на диф.-диагностические и комбинированные среды	Учет на средах дифференциально-диагностических тестов			
1	2	3	4	5	6	7	8	9		10	11
1.	К-1 (зеленый цвет) 37°С-24ч.	Желтый цвет и помутнение	К-2 (зеленый цвет) 37°С-24ч.	микроскопия	Колонии чаще S-форме, цвет от желтого или зеленого с желтым центром до голубого	Выдача ориентировочного ответа	0,3% полужидкий агар 37°С - 24 ч.	Отсутствие подвижности		рода Klebsiella	№9 №10 №11
							среда с орнитином (фиолетовый) 37°С - 24 ч.	Наличие орнитин-декарбоксилазы (желтый)			
2.	П-1 (зеленый цвет) 37°С-24ч.	Синий цвет и помутнение	П-2 (вишневый цвет) 37°С-24ч.		таблица №12		ПП 37°С - 24 ч. нижний слой (вишневый)	наличие: - мочевины (желто-оранжевый); - газообразование из глюкозы	таблица №12	Видов рода Proteus таблица №12	—
							ПП 37°С - 24 ч. верхний слой (молочный)	наличие - триптофан-дезаминазы (оранжево-вишневый); - сероводорода (черный); - индола (красный).			
							ИНАД 37°С - 24 ч. нижний слой (зеленый)	разложение адонита (желтый)			
							ИНАД 37°С - 24 ч. верхний слой (зеленый)	разложение инозита (желтый)			

Продолжение таблицы №33

1	2	3	4	5	6		7	8		9	10	11
3.	Бонде (сиреневый цвет) 42°С-24 ч.	помутнение и пленка на поверхности	ПЭ-2 или „блеск" (кремовый цвет) 37°С до 48 ч.	микроскопия	колонии чаще в R-форме с кружевным венчиком	Колонии красного цвета или десцветные с красным центром, серебристым блеском	выдача ориентировочного ответа	Кинг-А 37°С-24 ч.		наличие зелено-бурого пигмента и ароматического запаха	Вида Ps. aeruginosa (типичный штамм)	№13 (для атипичных штаммов и др. видов рода Pseudomonas)
	среда с ТТХ (кремовый цвет) 37°С до 48 ч.		Цетримидная среда (кремовый цвет) 37°С до 48 ч.			Колонии с зелено-бурым пигментом и ароматическим запахом		2% МПА 42°С-24 ч.		наличие роста		
4.	А-1 (сиреневый цвет) 30°С-24 ч.	помутнение	А-2 (сиреневый цвет) 30°С до 48 ч.		Колонии бесцветные с красным центром			среда с лизином (фиолетовый) 37°С-24 ч.		отсутствие лизин-декарбоксилазы (фиолетовый)	Вида Aer. hydrophila, подвидов var. hydrophila и var. anaerogenes	—
								А-4 30°С до 48 ч.	верхний слой (зеленый)	наличие: - оксидации глюкозы (желтый); - газообразования из глюкозы; - подвижность; - ацетоина (лиловый).		
									нижний слой (зеленый)	наличие: - ферментации глюкозы (желтый).		

5. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Эпидемиологическая оценка результатов представляется чрезвычайно трудной в связи с недостаточной изученностью этой проблемы. Поэтому в настоящее время могут быть высказаны только некоторые ориентировочные положения, помогающие оценить эпидемиологическую значимость результатов микробиологических исследований.

1. При решении вопроса об этиологической роли выделенных микроорганизмов в развитии гнойно-воспалительного или септического процесса следует опираться на несколько параметров:

1) клинические данные;
2) вид и вариант выделенных микроорганизмов;
3) массивность выделения микроорганизмов;
4) кратность и динамика выделения;
5) титры специфических антител у больных к выделенному штамму в динамике.

В некоторых случаях для решения аналогичного вопроса может оказаться достаточно одного или двух параметров. Так, выделение из патологического материала возбудителя в виде монокультуры и обнаружение нарастания титров антител к нему могут служить основанием для суждения об этиологической роли этого микроорганизма в возникновении патологического процесса.

Однако, из материалов от больных с ГСИ чаще всего выделяются ассоциации микроорганизмов, что затрудняет решение вопроса об этиологической роли выделенных возбудителей.

Сложность обусловлена еще и тем, что факт наличия условно-патогенных микроорганизмов в патологическом очаге не может являться абсолютным показателем их этиологической значимости. Для решения этого вопроса следует выделенные в ассоциации возбудители проанализировать по их патологическому воздействию на макроорганизм. Известно, что одни возбудители (Staph. aureus, Str. pneumoniae, Ps. aeruginosa и др.) характеризуются более выраженными патогенными свойствами; у других (Staph. epidermidis, N. sicca, N. subflava и др.) они менее выражены.

Кроме этого, необходимо оценить массивность выделения возбудителя. Это устанавливается количественными методами исследования, главным образом на селективных средах. Ориентировочно о массивности выделения возбудителей можно судить по общему числу выявленных микроорганизмов и по их количественному соотношению. Целесообразно эти данные сопоставить с результатами микроскопии нативного материала. Анализ полученных сведений позволяет высказать предположение об этиологическом факторе, обусловившем гнойно-септическое заболевание.

Нарастание титров антител к выделенным возбудителям, безусловно, поможет подтвердить суждение об этиологии заболевания. Целесообразно также оценить кратность и динамику выделения возбудителей.

Дополнительным достаточно убедительным, хотя и косвенным доказательством этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов в возникновении ГСИ является установление контагиозности вызываемых ими заболеваний.

II. При выявлении *источника инфекции* и лиц, вовлеченных в эпидемический процесс, необходимо оценивать следующие сведения:

1) эпидемиологический анамнез;

2) идентичность выделяемых микроорганизмов от предполагаемого источника инфекции и от других лиц с ГСИ в стационаре;

3) динамика выделения возбудителей.

Выделение микроорганизмов одного и того же биотипа (серотипа, фаготипа, пиоцинотипа и др.) и с одинаковой антибиотикограммой из патологического материала нескольких больных позволяет заподозрить наличие связи между возникшими заболеваниями. Динамика выделения возбудителей у разных лиц, подробный эпидемиологический анамнез позволяют представить характер развития эпидемического процесса и возможно установить источник инфекции. Обследование больных в динамике позволяет также ответить на вопрос, какие микроорганизмы играли ведущую роль в возникновении патологического процесса — попавшие в рану во время пребывания в лечебном учреждении или еще до поступления в него.

III. При выявлении *факторов передачи* учитываются аналогичные данные:

1) эпидемиологический анамнез;

2) идентичность выделяемых микроорганизмов от больных ГСИ и из различных объектов окружающей среды в стационаре;

3) динамика выделения микроорганизмов.

Выделение микроорганизмов одного и того же биовара из патологического материала одного или нескольких больных и из смывов с инструментов, аппаратуры, которыми проводились манипуляции всем или нескольким больным, или с предметов ухода за больными может служить доказательством участия этих факторов в передаче гнойно-воспалительного заболевания. Факторами

передачи могут являться и лекарственные растворы, доказательством чего является выделение возбудителя одного и того же биотипа из растворов для инъекций и из крови больного, получавшего их.

Факт обнаружения в воздухе или на предметах окружающей среды условно-патогенных микроорганизмов, способных вызывать гнойно-воспалительные заболевания, приобретает важное эпидемиологическое значение, так как свидетельствует о реальной возможности инфицирования лиц, находящихся в стационаре. Количественные показатели бактериологической обсемененности воздуха и предметов окружающей среды для большинства условно-патогенных микроорганизмов (энтеробактериями, стрептококками, псевдомонадами и т. п.) с целью выявления эпидемиологического благополучия не определены. Поэтому оценивать данные, полученные в каждом конкретном случае, можно только при сопоставлении результатов обнаружения микроорганизмов в воздухе, на различных объектах окружающей среды и в клиническом материале от больных с соответствующей нозологической формой, полученных в результате систематического наблюдения.

Большое значение в решении вопросов об этиологической роли выявленных возбудителей, эпидемиологической значимости обнаруженных источников инфекции и установленных факторов передачи является сопоставление данных, полученных при лабораторном обследовании по эпидемическим показаниям с результатами планового бактериологического контроля.

6. ПРИЛОЖЕНИЯ

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ (состав в грамм (милилитр) на литр):

1. Среда «6-Б»:

Аминопептид — 250,0
Мясная вода — 750,0
Дрожжевой экстракт — 10,0
Глюкоза — 5,0
Агар-агар — 1,0

Стерилизация при 0,5 атм 20 минут.
pH = 7,4.

2.* Сухая среда для контроля стерильности:
(выпускается Московским НИИВС им. Мечникова).

Для стимуляции роста анаэробов к 1000 мл дистиллированной воды добавить:
— 1 % р-р гемина (1 г растворить в 20 мл 1 н р-ра едкого натрия и довести до 100 мл дистилированной водой) — 1,0;
— 1 % р-р витамина K_1 (1 г растворить в 99 мл 96° этилового спирта) — 1,0;
— твин 80 — 1,0.

3. Кровяной агар на основе среды для контроля стерильности:

20 г порошкообразного агар-агара добавить к 1 литру среды

После стерилизации при 1 атм 20 минут к охлажденной до 50° С среде добавить 5 % дефибринированной крови.
pH = 7,0 ± 0,2.

4.* Тиогликолевая среда:

Дрожжевой экстракт сухой — 5,0
Пептон ферментативный — 15,0
Натрий хлорид — 2,5
Цистин — 0,75
Тиогликолевая кислота — 0,3
Метиловый голубой — 0,002
Агар-агар — 0,75
Вода дистиллированная 1000 мл

Кипятить 3 минуты и добавить тиогликолевую кислоту.

Стерилизация при 1 атм 20 минут.
pH = 7,2 ± 0,2

5.* Анаэробные среды с налидиксовой кислотой:

Налидиксовую кислоту (невиграмон) добавляют в среды из расчета 30 мкг/мл. Для этого 0,5 невиграмона растворяют в 45,0 мл дистиллированной воды с добавлением 5,0 мл 1 н р-р едкого натрия (кипячение улучшает растворимость). 3,0 мл раствора добавляют к 1 литру среды до стерилизации.

6.* Анаэробные среды с канамицином и желчью:

Канамицин добавляют в среды из расчета 1 мг/мл. Для этого 1 г канамицина растворяют в 10 мл дистиллированной воды.

20 г сухой желчи растворяют в 100 мл дистиллированной воды, доводят до кипения. Растворы и сухую основу среды добавляют к 900 мл дистиллированной воды до стерилизации.

7.* Анаэробная среда «ДАШВ», а. с. № 935530 ЛНИИТО им. Р. Р. Вредена:

Коллаген (из спилковой обрези и голевой стружки со шкур крупного рогатого скота — ОСТ 17-442—74) — 8,7
Пептон ферментативный — 12,0
Натрий хлорид — 4,0
Глюкоза — 3,0
Тимочевина — 1,3
Вода дистиллированная 1000 мл

Стерилизация при 0,5 атм 20 минут.
pH = 7,8 — 8,0.

8. Элективная среда для стафилококков:
(выпускается Московским НИИВС им. Мечникова):

9. Желчно-щелочной агар:

Мясо-пептонный агар сухой — 35,0
Дрожжевой экстракт — 20,0
Глюкоза — 10,0
Натрий карбонат — 5,0
Желчь нативная бычья (сухая) — 400,0 (120,0)
Дистиллированная вода — 600,0 (800,0)

После стерилизации при 1 атм 20 минут к охлажденной до 50° С среде добавить:
— дефибринированная кровь — 50,0
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 12,5
— 10 % р-р едкого калия — 20,0
pH = 7,2 — 7,4.

10. Среда «Бонде»:

Натрий цитрат трехзамещенный — 2,8
Натрий аммоний фосфат двузамещенный — 1,5
Калий фосфат однозамещенный — 1,0
Магний сульфат — 0,2
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 1 атм 30 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0.
pH = 7,0 ± 0,2.

11. Среда с ТТХ:

Натрий хлорид — 3,0
Калий фосфат однозамещенный — 2,0
Пептон — 20,0
Дрожжевой экстракт — 15,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
—5 % водный р-р трифенилтетразолия хлорида — 8,0.
pH = 6,9 — 7,1.

12. Среда «ПЭ-2»:

а) нижний слой:
Магний хлорид — 0,2
Натрий тиосульфат — 1,0
Калий фосфат однозамещенный — 0,8

Натрия малонат — 1,0
Аргинин — 3,0
Агар-агар — 20,0
Вода дистиллированная 1000 мл

Стерилизация при 0,5 атм 20 минут.
pH = 7,2 — 7,4.
Разлить стерильно в чашки.
б) верхний слой:
Агар-агар — 15,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 1 атм 30 минут добавить:
— 10 % водный р-р трифенилтетразолия хлорида — 40,0
Разлить стерильно в чашки тонким слоем сверху уплотненного нижнего слоя.
pH = 7,0 ± 0,2.

13. **Среда «Блеск»:**
Мясо-пептонный агар жидкий — 1000,0
Молоко крупного рогатого скота — 100,0
Пептон ферментативный — 10,0
Аргинин — 3,0

Дистиллированная вода — 900,0
После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 5 % водный р-р трифенилтетризолия хлорида — 8,0
pH = 7,0 ± 0,2.

14. **Цетримидная среда:**
Магий хлорид — 1,4
Калий сульфат — 10,0
Глицерин — 10,0
Цетилтриметиламмоний бромид (цетримид) — 0,3
Пептон ферментативный — 20,0
Агар-агар — 13,6
Вода дистиллированная 1000 мл

Стерилизация при 0,5 атм 20 минут
pH = 7,2 ± 0,2.

15. **Среда «ЦПХ»**, а. с. № 735632 ЛНИИТО им. Р. Р. Вредена (выпускается Дагестанским НИИ по производству питательных сред).

16. **Среда «Кинг-А»** (выпускается Дагестанским НИИ по производству питательных сред)

17. **Среда «Кинг-Б»** (выпускается Дагестанским НИИ по производству питательных сред).

18. **Среда «К-1»:**
Магний сульфат — 0,2
Калий сульфат — 0,2
Натрий хлорид — 5,0
Калий фосфат двузамещенный — 2,0
Калий фосфат однозамещенный — 2,0
Рафиноза — 2,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 2,0
— 50 % водный р-р мочевины — 4,0
pH = 7,0 — 7,2.

19. Среда «К-2»:

Магний сульфат — 0,2
Калий сульфат — 0,2
Натрий хлорид — 5,0
Калий фосфат двузамещенный — 2,0
Калий фосфат однозамещенный — 0,8
Рафиноза — 5,0
Агар-агар — 20,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 5,0
— 50 % водный р-р мочевины — 2,0
pH = 7,0 — 7,2.

20. Среды с аминокислотами:

Глюкоза — 1,0
Пептон ферментативный — 5,0
Дрожжевой экстракт жидкий — 30,0
Аминокислота — 5,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 1,6 % щелочной р-р бромкрезолпурпурного — 2,0
pH = 7,0 ± 0,2.

21. Среда «А-1»:

Магний сульфат — 0,2
Натрий хлорид — 5,0
Калий фосфат однозамещенный — 0,1
Желатина — 10,0
Вода дистиллированная 1000 мл

Крахмал растворимый — 2,0
После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0
pH = 7,2 — 7,4.

22. Среда «А-2»:

а) нижний слой:
Магний сульфат — 0,2
Калий фосфат однозамещенный — 0,1
Натрий аммоний фосфат двузамещенный — 1,5
Желатина — 50,0
Крахмал растворимый — 5,0
Агар-агар — 20,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0
— 10 % водный р-р трифенилтетразолия хлорида — 2,0
— пенициллин — 400 000 ЕД
pH = 7,4 — 7,6.

Разлить стерильно в чашки.

б) верхний слой:

Агар-агар — 20,0
Вода дистиллированная 1000 мл

Стерилизация при 1 атм 20 минут.
pH = 7,4 — 7,6.
Разлить стерильно в чашки тонким слоем сверху уплотненного нижнего слоя.

23. Среда «А-4»:

а) нижний слой:

Натрий хлорид — 5,0
Калий фосфат двузамещенный — 2,0
Глюкоза — 5,0
Пептон ферментативный — 10,0
Агар—агар — 4,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
—1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 2,0
pH = 7,0±0,2.
Разлить стерильно в пробирки по 3 мл столбиком.

б) верхний слой:

Агар-агар — 2,0
Состав нижнего слоя
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 2,0
pH = 7,0±0,2.
Разлить стерильно в пробирки по 2 мл сверху уплотненного нижнего слоя.

24. Среда «П-1»:

Мясо-пептонный бульон — 1000,0
Калий фосфат однозамещенный — 0,8
Желчные соли — 5,0
Маннит — 1,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 20,0
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 2,0
— 50 % р-р мочевины — 10,0
— Полимиксин — 100.000 ЕД
pH = 7,0 — 7,2.

25. Среда «П-2»:

Мясо-пептонный агар жидкий — 1000,0
Дрожжевой экстракт — 30,0
Железо аммоний цитрат трехзамещенный — 2,0
Натрий тиосульфат — 0,5
Желчные соли — 8,0

Мальтоза — 10,0
Маннит — 10,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 0,01 % водный р-р кристаллического фиолетового — 25,0
— 1,6 % щелочной р-р фенолового красного — 5,0
— Полимиксин — 1000.000 ЕД.
pH = 7,4 — 7,6.

26. Среда «СПП», а. с. № 560908 ЛНИИТО им. Р. Р. Вредена (выпускается Дагестанским НИИ по производству питательных сред).

27. Среда «ПП»:

а) нижний слой:
Калий фосфат двузамещенный — 0,7
Калий фосфат однозамещенный — 0,5
Натрий хлорид — 5,0
Глюкоза — 2,0
Пептон ферментативный — 1,0
Агар-агар — 6,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 1 % водный р-р нейтрального красного — 10,0
— 50 % р-р мочевины — 10,0
pH = 6,8 — 7,2
Разлить стерильно в пробирки по 3 мл столбиком.

б) верхний слой:
Натрий хлорид — 5,0
Натрий аммоний фосфат двузамещенный — 1,0
Натрий тиосульфат — 0,5
Триптофан — 2,0
Дрожжевой экстракт жидкий — 30,0
Агар-агар — 6,0
Вода дистиллированная 1000 мл

Стерилизация при 0,5 атм 20 минут.
pH = 6,8 — 7,2.
Разлить стерильно в пробирку по 6 мл скошенным столбиком сверху уплотненного нижнего слоя.

28. Среда «ИНАД»:

а) нижний слой:
Калий фосфат двузамещенный — 1,0
Натрий хлорид — 5,0
Адонит — 3,0
Пептон ферментативный — 5,0
Агар-агар — 10,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 2,0
pH = 7,0 + 0,2.
Разлить стерильно в пробирки по 3 мл столбиком.

б) верхний слой:
Калий фосфат однозамещенный — 0,8
Натрий хлорид — 5,0

Инозит — 5,0
Пептон ферментативный — 5,0
Агар-агар — 15,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— 1,6 % щелочной р-р бромтимолового синего — 5,0.
pH = 7,0 ± 0,2.
Разлить стерильно в пробирки по 6 мл скошенным столбиком сверху уплотненного нижнего слоя.

29. Среда Сабуро:

Пептон ферментативный — 10,0
Глюкоза (мальтоза) — 40,0
Агар-агар — 20,0
Вода дистиллированная 1000 мл

После стерилизации при 0,5 атм 20 минут добавить:
— пенициллин и стрептомицин по 100.000—150.000 ЕД.

30. Рисовая среда:

Очищенный рис — 20,0
Маннит — 20,0
Серин — 10,0
Натрий сульфат — 5,0
Агар-агар — 20,0
Лошадиная сыворотка — 70,0

Очищенный рис 30 минут кипятят в 1 литре дистиллированной воды и доводят до 900 мл. Добавляют сухую основу, нагревают до кипения и осветляют лошадиной сывороткой.
Стерилизация при 0,5 атм 20 минут.
pH = 6,5 — 6,7.

31. Кукурузный агар:

Желтая кукурузная мука — 40,0
Агар-агар — 20,0

Кукурузную муку выдерживают в 1 литре дистиллированной воды при 65° С 1 час и добавляют агар-агар.
Стерилизация при 1 атм 20 минут.
pH = 6,5 — 6,7

32. Метабисульфитная среда:

2,0 г метабисульфита натрия (калия) растворяют в 5,0 мл стерильной дистиллированной воды. Раствор добавляют к 1 литру охлажденного до 50° С мясопептонного агара.
pH = 6,2 ± 0,2.

Примечание: сухие компоненты сред растворяют в дистиллированной воде на водяной бане и фильтруют; pH сред устанавливают 8н р-ром едкого натрия или 5н р-ром соляной кислоты.

* — среду разлить в пробирки высоким столбиком до стерилизации.

ПРИЕМЫ ОТБОРА И ПОСЕВА ПРОБ

1. Приспособление для транспортировки и культивирования проб клинического материала для исследования на анаэробные микроорганизмы.

Используют герметически закрытые стерильные пенициллиновые флаконы с бескислородным газом (CO_2 или N_2).

Для заполнения флаконов газом применяют фрагмент стерильной системы для переливания крови однократного применения. (ПР 11-01 или др.). Один конец пластиковой трубки присоединяют к резиновой трубке от баллона с газом, другим концом с иглой продувают флакон в течение 30 секунд. Перед окончанием процедуры флакон закрывают резиновой пробкой и извлекают иглу, не открывая приспособления. Флаконы обкатывают алюминиевыми колпачками с помощью приспособления для отжима колпачков на флаконах.

Во флакон вносят путем прокола через обработанную спиртом резиновую пробку 2—10 мл пункционного материала.

Примечание: при наличии нескольких капель материала его вносят таким же образом во флакон с 5 мл специальной питательной среды.

2. Приспособление для культивирования проб крови.

Стерильные аптечные флакончики (100 мл) с резиновой пробкой и завинчивающейся крышкой мерно заполняют питательной средой (80—100 мл) и в закрытом виде стерилизуют при 1 атм в течение 20 минут.

Посев крови производят во флакон со средой путем прокола через обработанную спиртом резиновую пробку.

3. Приспособления для отбора, культивирования и количественного определения микроорганизмов с поверхности кожи, слизистых и объектов окружающей среды.

Используют бактериологическую печатку однократного применения (выпускается Ленинградским заводом медицинских полимеров — ТУ 64-2-279—79).

Рабочая поверхность крышки-бакпечатки (площадь 4,5 $см^2$) заливают плотной питательной средой толщиной 3 мм и подсушивают под источником УФ. Крышку вставляют в контейнер бакпечатки.

Отбор проб производят методом отпечатка.

4. Приготовление желатинового тампона для количественного определения микроорганизмов.

Стерильный стеклянный стержень с вмонтированной ватной пробкой дважды опускают на 5 см в 20 % р-р стерильной пищевой желатины (стерилизация при 0,5 атм 20 минут). Желатиновый тампон помещают в пробирку над 5 мл раствора (жидкой питательной среды).

РЕАКТИВЫ И МЕТОДИКИ ПРОВЕДЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ТЕСТОВ

1. «КОН-тест»:

Реактив: 3 % р-р КОН (хранить в темноте при комнатной температуре).

Постановка: на предметном стекле смешивают петлю суточной агаровой культуры с каплей 3 % р-ра КОН.

Учет: тест положительный у грамотрицательных микроорганизмов при наличии слизеобразования.

2. «ЦХО-тест» (цитохромоксидазная активность):

Приготовление реактивов: реактив № 1 — 30—40 мг α-нафтола растворяют в 2,5 мл 96° этилового спирта; реактив № 2 — 40—60 мг диметилпарафенилендиамина растворяют в 7,5 мл дистиллированной воды.

Рабочий раствор: ex temporе смешивают реактив № 1 и реактив № 2 в соотношении 1 : 1.

Постановка: 1 способ — на поверхность роста суточной культуры на МПА наносят 1 каплю рабочего раствора; 2 способ — на полоску стерильной фильтровальной бумаги наносят петлю суточной культуры и каплю рабочего раствора; 3 способ — применяют импрегнированные полоски из наборов СИБ «А» или «В» (выпускаются Горьковским НИИЭМ).

Учет: положительная реакция при появлении синего окрашивания в течение 30—60 секунд.

3. «О/F-тест» (окисление и ферментация глюкозы на среде Хью-Лейфсона):

Среду разливают в пробирку высоким столбиком (8—10 см) и засевают уколом до дна. Инкубация при 37 °С 24 часа.

Учет: положительная реакция при желтом окрашивании верхнего или (и) нижнего слоя среды.

4. Каталазная активность:

Приготовление реактива: из 33 % р-ра пергидроля готовят 1—3 % водный раствор перекиси водорода (H_2O_2) (хранить в темноте при комнатной температуре).

Постановка: каплю 1—3 % р-ра H_2O_2 наносят на поверхность роста суточной агаровой культуры.

Учет: положительная реакция при образовании пузырьков газа на поверхности роста.

5. Лизис желчью:

Постановка: на поверхность роста суточной культуры на кровяном агаре наносят каплю 10 % стерильного водного р-ра желчи крупного рогатого скота (кролика) или накладывают диски, импрегнированые желчью. Инкубация при 37 °С в течение 1—2 часов.

Учет: положительная реакция при наличии лизиса культуры.

Приготовление желчных дисков: стерильные диски из фильтровальной бумаги (d = 0,5 см) пропитывают 20 % стерильным водным раствором желчи и высушиают при 37° С в течение 2—3 суток (хранение в холодильнике).

6. Гидролиз желатины:

Постановка: в пробирку с 2 мл МПБ засевают петлю суточной агаровой культуры и вносят полоску (0,5×5,0 см) стерильной проявленной, засвеченной, рентгеновской пленки так, чтобы верхний конец выступал над поверхностью среды. Инкубация при 37° С 1—7 суток.

Учет: положительная реакция при просветлении участка пленки, погруженного в среду.

Примечание: кусочки рентгеновской пленки с прокладками из фильтровальной бумаги стерилизуют при 0,5 атм 30 минут.

7. Восстановление нитратов до нитритов и до газообразного азота:

Среды и реактивы:
— нитратный бульон (МПБ с 0,1 % азотнокислого калия);
— 1 % водный р-р риванола;
— 4 % р-р соляной кислоты (из концентрированной);
— цинк порошкообразный.

Рабочий раствор: ex temporе смешивают 1 % р-р риванола и 4 % р-р соляной кислоты в соотношении 1 : 1.

Постановка: в пробирку с 1 мл нитратного бульона засевают петлю суточной агаровой культуры. Инкубация при 37° С 1—5 суток. После инкубации вносят 3 капли рабочего раствора.

Учет:

1) восстановления до нитритов:
— положительная реакция при покраснении среды в течение 5 минут;
— отрицательная реакция при отсутствии окрашивания;

2) восстановление до газообразного азота:

(при отрицательной первой реакции добавляют порошкообразный цинк — 5 мг на 1 мл);
— положительная реакция при отсутствии окрашивания среды;
— отрицательная реакция при покраснении среды.

8. Газообразование из глицерина:

Постановка: 1 способ — на поверхность роста бляшками суточной культуры на МПА с 2 % глицерина наносят покровное стекло. Инкубация при 37° С 30 минут; 2 способ — применяют среду Гисса с 2 % глицерина и поплавком.

Учет: положительная реакция при появлении пузырьков газа под покровным стеклом или в поплавке.

9. «ONPG-тест» (β-галактозидазная активность):

Реактивы:
— 0,6 % р-р ONPG (О-нитрофенил β-Д галактопиранозид) в 0,01 % р-ра натрия фосфата двузамещенного;
— толуол.

Постановка:

1 способ. В 0,25 мл физиологического р-ра готовят взвесь суточной агаровой культуры (2—3 петли). Добавляют 1 каплю толуола и интенсивно встряхивают 1 минуту. После инкубации при 37 °С 5 минут добавляют 0,25 мл буферного р-ра ONPG. Инкубация при 37 °С 24 часа.

2 способ. Применяют импрегнированные ONP диски из набора СИБ «Б» (выпускаются Горьковским НИИЭМ).

Учет: положительная реакция при появлении желтого окрашивания.

10. Триптофан-дезаминазная и сероводородная активность на среде ПП:

Рабочий раствор: 13 % р-р хлорида железа в 1,3 % р-ре соляной кислоты (из концентрированной) доводят дистиллированной водой до 100 мл (хранение в холодильнике).

Постановка: по стенке пробирки, противоположной скошенной поверхности роста суточной культуры на среде ПП, наливают 0,5—1,0 мл рабочего раствора. Инкубация при 37° С 1—2 часа.

Учет:

1) триптофан-дезаминазной активности:

— положительная реакция при появлении оранжево-вишневого различной интенсивности окрашивания конденсационной жидкости и подлежащего слоя среды;

2) сероводородной активности:

— положительная реакция при появлении в верхнем слое среды участков черного цвета, переходящих после дополнительной инкубации при 37° С 1—2 часа в черные кольца различной ширины.

11. Ацетоин из глюкозы на среде А-4:

Реактивы (хранение в холодильнике):

— 5 % спиртовой р-р α-нафтола;

— 40 % водный р-р едкого калия (натрия).

Постановка: культуру засевают на среду уколом до дна пробирки. После инкубации при 30° С 48 часов наносят 0,6 мл 5 % спиртового р-ра α-нафтола и 0,2 мл 40 % водного р-ра едкого калия.

Учет: положительная реакция при появлении лилового кольца на поверхности среды.

12. Приготовление сапониновых дисков:

Стерильные диски из фильтровальной бумаги (d=0,5 см) пропитывают стерильным 5 % водным р-ром сапонина и высушивают (хранение в холодильнике).

13. Приготовление стандартных дисков с мономицином или гентамицином.

Это диски, импрегнированные 5—10 ЕД антибиотиков.

Приложение № 4

ОБРАЗЕЦ НАПРАВЛЕНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Штамп лечебного учреждения

1. Бактериологическая лаборатория куда направляется материал _____

_____

2. Ф. И. О., возраст больного _____
3. Домашний адрес _____
4. Дата поступления в стационар _____
5. Отделение _____; палата _____
6. Номер истории болезни _____
7. Диагноз основной _____
8. Дата возникновения и диагноз ГСИ _____
9. Вид материала и цель исследования _____
10. Дата и время отбора (первично, вторично) _____
11. Подпись лица, проводившего отбор _____

ОБРАЗЕЦ ОТВЕТА ПО РЕЗУЛЬТАТУ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Штамп бактерилогической лаборатории

1. Лечебное учреждение куда направляется ответ _____
2. Ф. И. О., возраст больного _____
3. Номер истории болезни _____
4. Диагноз основной _____
5. Дата возникновения и диагноз ГСИ _____
6. Регистрационный номер анализа по бактериологическому журналу _____
7. Вид материала и цель исследования _____
8. Дата и час поступления материала и начала исследования (первично, вторично) _____
9. Результат исследования (с указанием вида, биотипов, чувствительности к актибиотикам, количественной характеристики микроорганизмов и др.)—

_____

10. Дата выдачи ответа _____
11. Подпись врача-бактериолога, производившего исследование _____

Приложение № 5

САНИТАРНЫЙ ПАСПОРТ СТАЦИОНАРА

1. Наименование стационара _____
2. Адрес _____
3. Ф. И. О. главного врача _____ телефон _____
4. Ф. И. О. нач. меда _____ телефон _____
5. Количество коек в стационаре _____
6. Количество отделений _____
7. Отделения хирургического профиля:

№ п.п.	Отделение	К-во коек	Кол-во персонала						Наличие раздельных чистых и гнойных:					
			врачей		среднего		младшего		операционных		перевязочных		палат	
			по штату	укомплектовано	по штату	укомплектовано	по штату	укомплектовано	да	нет	да	нет	да	нет
1														
2														
3														
и т. п.														

8. Наличие бактериологической лаборатории (да, нет)
(при отсутствии бак. лаборатории к лаборатории какого стационара или СЭС прикреплен _____)
9. Наличие дез. камеры, тип, объем _____
10. Наличие центрального стерилизационного отделения (да, нет).
11. Лабораторные исследования объектов окружающей среды по отделениям (по данным лаборатории СЭС):

№ отделения	Воздух				Смывы				Стерильный материал			
	год				год				год			
	полугодие				полугодие				полугодие			
	1		2		1		2		1		2	
	число проб	из них нестандартных	число проб	из них нестандартных	число проб	из них положительных	число проб	из них положительных	число проб	из них не стерильных	число проб	из них не стерильных
1												
2												
3												
и т. п.												

12. Нарушение санитарно-эпидемиологического режима (аварии, недостатки в работе стерилизационного отделения и т. п.):

№ п/п	Дата	Нарушения режима
1 и т. п.		

МЕТОДИКА ПРОВЕДЕНИЯ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Включение газового хроматографа проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

Условия газохроматографического анализа: температура колонки 130—150° С, испарителя 200° С, пневматического дозатора 140° С. Давление газа-носителя (азота или аргона) на входе в хроматографическую колонку (P_1) должно соответствовать его расходу через колонку — 30 мл/мин. Давление во вспомогательной линии газа-носителя (P_2) превышает P_1 на 0,2—0,4 атмосфер Расход водорода 30 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Шкала электрометра 10^{-10} А, самописца 10 мм. Скорость движения диаграммной ленты 120 мм/час. Температура образца 90° С. Время анализа одного образца 45 мин.

Ход газохроматографического анализа. Для анализа требуется 0,1—1,0 мл исследуемого материала. Во флакон с образцом добавляют твердый бисульфат калия в соотношении 1 г соли на 1 мл образца. Флакон закрывают резиновой пробкой. Для исключения сорбционных потерь поверхность резиновой пробки можно защитить фторопластовой пленкой. Герметизация флакона обеспечивается специальным патроном, навинчивающаяся крышка которого плотно прижимает резиновую пробку к торцу горлышка флакона. Постоянная температура во флаконе (90 °С) поддерживается подачей через штуцеры патрона термостатируемой жидкости из ультра-термостата. Патрон с образцом присоединяют к пневматическому дозатору, при этом дозирующая игла приставки, прокалывая резиновую пробку, вводится через отверстие в крышке патрона внутрь флакона на 5—10 мм. К основанию иглы дозатора припаяна линия сброса с вентилем тонкой регулировки. Непрерывное пропускание через нее газа-носителя со скоростью 4—5 мл/мин. обеспечивает сокращение времени пневматического дозирования пробы в хроматограф и удаление анализируемого газа из дозирующего капилляра, что предотвращает образование «хвостов» у хроматографических пиков.

В течение 10-минутного термостатирования во флаконе с образцом поддерживается давление P_2. Рукоятка дозатора находится в положении «накачка», а образцовый манометр подключен к основной линии и показывает давление на входе в хроматографическую колонку (P_1). При переключении рукоятка дозатора в положение «ввод пробы» внутреннее пространство флакона соединяется с колонкой и проба за счет выравнивания давления импульса поступает в хроматографическую колонку. Образцовый манометр при этом показывает давление во вспомогательной линии P_2. Дозируемый объем регулируется разностью давлений P_2 и P_1. После выхода хроматограммы (30 мин.) рукоятка дозатора возвращается в положение «накачка». При необходимости анализ того же образца можно повторить, переключив через 5 минут рукоятку дозатора на «ввод пробы». Когда патрон с образцом присоединяют к дозатору паровой фазы и снимают с иглы дозатора по окончании анализа, рукоятка должна находиться в положении «накачка».

При серийных анализах клинических образцов следует иметь ввиду следующее: после окончания анализа образца с большим содержанием ЛЖК и отсоединения патрона от дозатора нужно некоторое время продувать иглу дозатора газом — носителем для устранения «памяти», т. е. удаления сорбированных на ней ЛЖК. Проверка чистоты иглы в тех же условиях анализируют паровую фазу над чистой дистиллированной водой (2—3 мл во флаконе, термостатируемой при 90 °С). Анализ повторяют до исчезновения пиков ЛЖК на хроматограмме.

Для установления времени выхода на хроматограмме пиков ЛЖК C_2—C_6 аналогичным образом анализируют градуировочный раствор № 1.

Предел обнаружения ЛЖК в указанных условиях составляет 5×10^{-4} % — для пропионовой кислоты, 5×10^{-5} % — для кислот C_4—C_6.

Трактовка результатов анализа. На рис. 1 приведены типичные хроматограммы гноя аэробного (а) и анаэробного (б, в) происхождения.

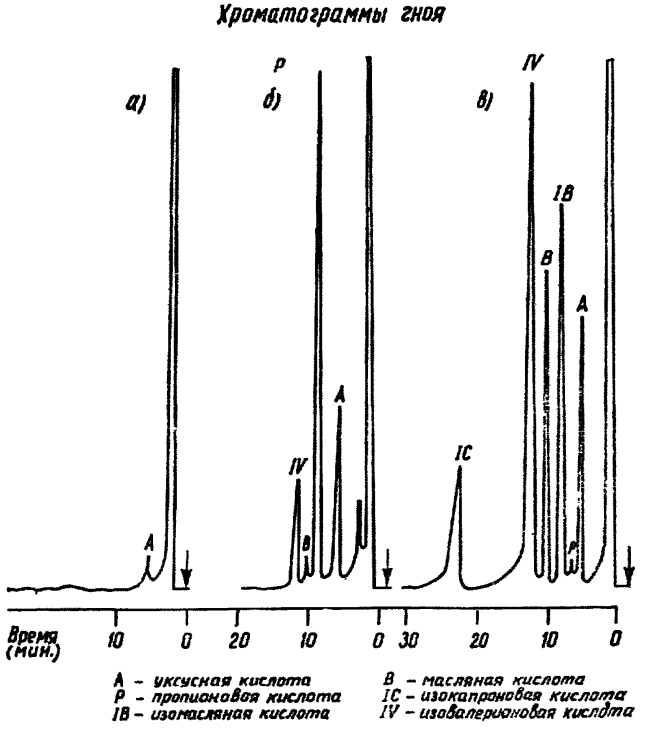


Рис. 1.

Характерными продуктами метаболизма бактерий являются ЛЖК C_3—C_6. Если газохроматографически выявлено обилие этих кислот это однозначно указывает на участие анаэробов в инфекции. Как правило, анаэробные инфекции являются смешанными и протекают с участием анаэробных бактерий различных видов. В отдельных случаях моноинфекций хроматограмма может быть идентична картине, при соответствующей чистой культуре.

Отсутствие пиков ЛЖК C_3—C_6 на хроматограмме не является абсолютным признаком чисто аэробной инфекции. В некоторых случаях (особенно монобактериальной анаэробной инфекции) возможно исключение из общего правила. Окончательный вывод о наличии или отсутствии анаэробов в этих случаях следует делать с учетом данных бактериологических исследований.

В случаях, когда хроматограмма не содержит интенсивных пиков ЛЖК, — высоты всех пиков ниже, чем на хроматограмме градуировочного раствора № 2 (к 1 мл раствора добавить 1 г $KHSO_4$) или на хроматограмме проявляются пики

с временем удерживания, не соответствующим ЛЖК C_3—C_6 (сравнить с хроматограммой градуировочного раствора № 1), следует повторно отобрать пробу и провести анализ.

Оснащение и реактивы:

1. Калий кислый сернокислый («ч», ГОСТ 4223—72).
2. Градуировочный раствор № 1: в пенициллиновый флакон с 10 мл дистиллированной воды микрошприцем МШ-10 вводят по 10 мкл уксусной, пропионовой, изомасляной, масляной, изовалериановой, валериановой, изокапроновой и капроновой кислот.
   Градуировочный раствор № 2: водный раствор ЛЖК с концентрацией пропионовой кислоты — 0,007 %; изомасляной, масляной, изовалериановой, валериановой, изокапроновой и капроновой — 0,001 %.
3. Наполнитель для хроматографической колонки: 15 % ПЭГ 20000/карбовакс 20М/ + 2 % ортофосфорной кислоты на хромосорбе W, AW (80—100 меш), или 8—10 % SP—1000 + 1 % H_3PO_4 на хромосорбе W, AW (80—100 меш).
4. Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором, дополнительно укомплектованный приставкой для пневматического дозирования паровой фазы, смонтированной на испарителе хроматографа.
5. Колонка стеклянная длиной 2 м, диаметром 3 мм.
6. Азот (аргон), водород и воздух в баллонах с редуктором.
7. Ультра-термостат жидкостной циркуляционной, типа U-10 (ГДР).
8. Патрон для термостатирования флакона с образцом.
9. Пенициллиновые флаконы емкостью 10 мл с резиновыми пробками.

ЛЕГИОНЕЛЛЕЗ

(легионеллы, пути и факторы передачи, бактериологическая диагностика)

Легионеллез или «болезнь легионеров» известна как новое инфекционное заболевание бактериальной природы с 1976 г., характеризуется поражением органов дыхания, тяжелым течением, высокой летальностью. Известны как спорадические случаи, так и вспышки в различных странах мира. Описаны случаи легионеллеза в СССР.

В настоящее время известно несколько клинических форм легионеллеза — пневмонии, острые респираторные заболевания без пневмоний, лихорадки с кожными высыпаниями и др. Описаны внутрибольничные заболевания.

Выраженными факторами риска являются пожилой возраст, курение, алкоголизм, применение иммунодепрессантов, наличие сопутствующих заболеваний. Пневмонии развиваются у 5 % инфицированных лиц. Острыми респираторными заболеваниями поражаются практически все 100 % инфицированных лиц вне зависимости от возраста. Наиболее эффективными препаратами для лечения этих заболеваний являются эритромицин, рифампицин и другие антибиотики тетрациклинового ряда.

Анализ вспышек заболевания свидетельствует об основном пути передачи возбудителя — воздушном. Отсутствуют убедительные данные о передаче инфекции от человека к человеку. Выявлено три основных фактора передачи, с которыми может быть связано распространение инфекции:

1 — микроорганизм, находящийся в почве, распространяется ветром с места земляных работ и возникают заболевания у лиц, находящихся в этой зоне.

2 — фактором передачи инфекции может служить вода в системе кондиционирования воздуха рециркуляторного типа. Возбудитель обычно концентрируется в водных резервуарах систем: охлаждающих башнях или испарительных конденсаторах. При испарении 0,1 % воды выходит в виде аэрозолей. Доказано, что возбудитель может длительно выживать в дистиллированной и водопроводной воде, бурно размножается в условиях повышенной температуры и органических веществ, присутствующих в системе.

3 — фактором передачи оказались душевые аэрозоли в больницах. Особенно часто вспышки и выделение возбудителя имеют место в новых зданиях.

Возбудители обладают способностью размножаться вне организма во внешней среде, являющейся местом обитания симбиоза синезеленых водорослей и простейших.

Общая классификация легионелл представлена в таблице № 34.

Возбудитель «болезни легионеров» относится к виду L. pneumophila. Международной ассоциацией по таксономии микроорганизмов утверждено видовое наименование Legionella pneumophila, род Legionella, семейство Legionellaceae (типовой штамм Philadelphia).

Вид L. pneumophila дифференцируется на 7 серогрупп. За последние годы в СССР выявлено 6 серологически подтвержденных случаев заболевания, выделены штаммы возбудителя, относящиеся к 1 серогруппе L. pneumophila. Теоретически не исключена возможность родства возбудителя «болезни легионеров» с Acinetobacter, Ringella, Microcyclus, Moraxella и Simonsiella.

Легионеллы хорошо окрашиваются и выделяются в исследуемом материале окраской по Гименесу (D. Gimenez, 1964), гематоксилином и эозином, импрегнацией серебром по Дитерле.

Морфология — палочки диаметром 0,5—0,7 мм и длиной 2—3 мм, могут быть кокковидные, нитевидные и плеоморфные формы. Окраска по Граму отрицательная. Легионеллы требовательны к условиям культивирования и нуждаются в обогащенных питательных средах с узким диапазоном pH и температурным оптимумом. Наилучший рост возбудителя получают на угольно-дрожжевом агаре. Легионеллы не растут на кровяном агаре. Характерным является гидролиз гиппурита натрия, флюоресцирующее свечение колоний — желтое у L. pneumophila в отличие от других разновидностей. Подвижны, обла-

Таблица № 34

Классификация семейства Legionellaceae

Автор	Род	Вид
1. D. Brenner с соавт.	Legionella	L. pneumophila L. bozemanii L. micdadei L. dumoffii L. longbeach L. gormanii L. jordanis L. wadsworthii L. oakridgensis
2. G. Garrity с соавт.	Legionella	L. pneumophila
	Tatlockia	T. micdadei
	Fluoribacter	F. bozemanii F. dumoffii F. gormanii F. jordanis F. longbeach F. wandworthii F. oakridgensis

дают слабой оксидазной активностью, образуют каталазу, не различают гидраты и мочевину, утилизируют крахмал, разжижают желатину. Кислая ферментация глюкозы, ксилозы, маннита, лактозы, сахарозы, мальтозы и фруктозы отсутствует. Все штаммы выделяют β-лактамазу, которая инактивирует пенициллин и цефалоспорин.

Лабораторная диагностика. Используются экспресс-методы и ускоренные методы диагностики. Наибольшее распространение получил метод прямой иммунофлюоресценции. Перспективные методы: радиоиммунный, иммунопероксидазный и ряд других.

Метод непрямой флюоресценции успешно применяется с НИИЭМ им. И. Ф. Гамалея для выявления случаев легионеллеза среди пневмоний другой этиологии (Прозоровский С. В., 1980, 1982).

Возбудитель в органах, тканях и пробах из внешней среды может быть выявлен прямой иммунофлюоресценцией.

Частота выделения чистых культур от больных не превышает 85 %. Для выделения от человека и объектов внешней среды используют угольно-дрожжевой агар и ФЖ-агар.

Питательные среды:

Угольно-дрожжевой агар:

Дрожжевой экстракт	— 10 г;
Активированный уголь	— 2 г;
L-цистеин	— 0,4 г;
Пирофосфат железа растворимый	— 0,25 г;
Агар — агар	— 17 г;
Дистиллированная вода	— 980 мл.

Все компоненты среды, кроме L-цистеина, и пирофосфата железа, добавляют к 980 мл дистиллированной воды, растворяют, доводят до кипения и автоклавируют при 121 °С 15 минут. Среду охлаждают до 50 °С в водяной бане и добавляют свежеприготовленные растворы L-цистеина (0,4 г в 1 мл дистиллированной воды) и пирофосфата железа (0,25 г в 10 мл дистиллированной воды), профильтровывают через мембранный фильтр 0,45 мкм и разливают в чашки.

ФЖ-агар:

Казеиновый гидролизат	— 17,5 г;
Мясной экстракт	— 3 г;
Крахмал	— 1,5 г;
L-цистеин	— 0,4 г;
Пирофосфат железа	— 0,25 г;
Агар — агар	— 17 г;
Дистиллированная вода	— 980 мл.

Рост колоний из клинического материала на средах наблюдается через 4—5 суток, с максимумом на 8—10 сутки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bergey's Manuel of Determinative Bacteriology. Ed. R. Nanan, E. Buch, W. E. Gibbons, 8th ed. Baltimore, 1974.

2. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Под ред. *В. В. Меньшикова.* М., 1982.

3. *О. Нейчев.* Клиническая микробиология. София, 1977.

4. Внутрибольничные инфекции: руководство по лабораторным методам исследований. ВОЗ, Копенгаген, 1979.

5. *А. К. Акатов, В. С. Зуева.* Стафилококки, М., 1983.

6. *А. Г. Витенберг, Б. В. Иоффе.* Газовая экстракция в хроматографическом анализе. Л., 1982.

7. *С. В. Прозоровский, В. И. Покровский, И. С. Тартаковский.* Болезнь легионеров (легионеллез). М., 1984.

8. Каталог препаратов для диагностики бактериальных инфекций. М., 1981.

9. Лабораторные методы контроля противоэпидемического режима стационаров хирургического профиля и особенности лабораторных исследований при возникновении гнойно-воспалительных и септических заболеваний (методические рекомендации). Л., 1981.

10. Методы исследования объектов окружающей среды и патологического материала на аэромонады (методические рекомендации). М., 1980.

11. Обнаружение и количественный учет клебсиелл при целевых исследованиях объектов окружающей среды (методические рекомендации). М., 1982.

12. Методические рекомендации по выделению и индентификации энтерококков. Иваново, 1982.

Подписано к печати 29.07.85. М-27398.
Формат 60×90¹/₁₆. Тираж 500 экз.
Усл. печ. л. 5,9. Заказ 7919. Уч.-изд. л. 5,75. Бесплатно.
ЦКФ ВМФ
gost.e-ecolog.ru