

ПРАКТИЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ

За редакцією В. П. Широбокова, С. І. Климнюка



ПРАКТИЧНА МІКРОБІОЛОГІЯ

*За загальною
редакцією:*

В. П. Широбокова
С. І. Климнюка

Навчальний посібник до практичних занять
для студентів закладів вищої освіти МОЗ України



Вінниця
Нова Книга
2018

Рекомендовано до друку вченою радою ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” (протокол засідання № 17 від 20 травня 2016 року)

Автори:

**С. І. Климнюк, І. О. Ситник, В. П. Ширококов, М. С. Творко,
Н. І. Ткачук, Л. Б. Романюк, О. В. Покришко, В. А. Понятовський**

Рецензенти:

професор кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДЗ “Дніпропетровська медична академія МОЗ України”,
д. мед. н., професор **Г. М. Кременчуцький**
завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології ВДНЗУ “Буковинський державний медичний
університет”, д. мед. н., професор **С. Є. Дейнека**
завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології Української медичної стоматологічної академії,
д. мед. н., професор **Г. А. Лобань**

*За загальною редакцією завідувача кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, академіка НАН та НАМН України, д. мед. н., професора **В. П. Ширококова** та завідувача кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України” д. мед. н., професора **С. І. Климнюка***

Практична мікробіологія : навчальний посібник / С. І. Климнюк, І. О. Ситник, В. П. Ширококов ; за заг. ред.: В. П. Ширококова, С. І. Климнюка. – Вінниця : Нова Книга, 2018. – 576 с.
ISBN 978-966-382-729-2

Матеріал посібника подано відповідно до навчальної програми з курсу мікробіології, імунології та вірусології. Висвітлені сучасні дані про організацію і режим роботи бактеріологічних лабораторій, методи дослідження морфології, фізіології, екології та генетики мікроорганізмів, визначення чутливості їх до антибіотиків. Значна увага присвячена імунологічній діагностиці інфекційних хвороб, методам їх специфічної профілактики та лікування, зокрема стосовно збудників поширених бактеріальних, вірусних, грибових та протозойних інфекцій.

Посібник збагачений оригінальними ілюстраціями та наглядними мікрофотографіями. Призначений для студентів закладів вищої освіти МОЗ України, а також для фахівців-мікробіологів.

УДК 579(075.8)

ЗМІСТ

Частина I. Загальна мікробіологія

Розділ 1. Організація, устаткування, режим роботи бактеріологічних, імунологічних і вірусологічних лабораторій	8
Розділ 2. Методи лабораторних досліджень	12
2.1. Мікроскопічні методи дослідження мікроорганізмів.....	12
Розділ 3. Морфологія мікроорганізмів	20
3.1. Виготовлення мазків і методи їх забарвлення.....	20
3.2. Прості способи забарвлення бактерій.....	23
3.3. Складні методи забарвлення бактерій.....	26
3.4. Забарвлення окремих структур мікробної клітини.....	28
3.5. Мікроскопічне дослідження живих мікробів.....	34
3.6. Особливості морфології окремих груп мікроорганізмів.....	36
Розділ 4. Фізіологія мікроорганізмів (прокаріотів)	41
4.1. Культивування мікроорганізмів.....	41
4.2. Основні методи стерилізації.....	45
4.3. Бактеріологічне дослідження.....	54
4.4. Методи виділення чистих культур, засновані на механічному принципі.....	56
4.5. Методи виділення чистих культур, засновані на біологічному принципі.....	57
4.6. Етапи виділення чистих культур мікроорганізмів та їх ідентифікація.....	58
4.7. Виділення чистої культури анаеробних бактерій.....	66
4.8. Виділення та ідентифікація анаеробних мікроорганізмів.....	68
4.9. Середовища для культивування анаеробних мікроорганізмів.....	69
4.10. Ідентифікація мікроорганізмів за допомогою бактеріофагів.....	69
4.11. Визначення бактеріоциногенності мікроорганізмів.....	70
4.12. Молекулярно-генетичні методи виявлення та ідентифікації бактерій.....	71
Розділ 5. Генетика мікроорганізмів	74
Розділ 6. Визначення чутливості бактерій до антибіотиків	78
Розділ 7. Експериментальна інфекція	95
7.1. Способи зараження експериментальних тварин.....	96
7.2. Мікробіологічне дослідження трупа.....	100
7.3. Визначення вірулентності мікроорганізмів, смертельної дії екзотоксинів та ендотоксинів.....	101

Частина II. Імунологія

Розділ 8. Імунна система організму. Реакції неспецифічного захисту від інфекційних агентів	107
8.1. Патоген-асоційовані структури мікроорганізмів і образ-розпізнавальні рецептори.....	112
Розділ 9. Антигени та антитіла	115
9.1. Основні властивості речовин-антигенів.....	116
9.2. Антигени бактерій і вірусів.....	118
9.3. Перехресні антигени ссавців і мікроорганізмів.....	119
9.4. Структура і функція головного комплексу гістосумісності.....	120
9.5. Антитіла (імуноглобуліни). Характеристика основних класів імуноглобулінів.....	121
9.6. Сфера застосування моноклональних антитіл.....	128
9.7. Динаміка синтезу антитіл.....	128
Розділ 10. Імунологічні методи діагностики інфекційних захворювань	130
10.1. Серологічні реакції.....	130
10.2. Реакція аглютинації (РА).....	131
10.3. Реакція Кумбса (антиглобуліновий тест).....	141

10.4. Реакція преципітації (РП)	143
10.5. Реакція лізису	146
10.6. Реакція радіального гемолізу	147
10.7. Реакція зв'язування комплементу (РЗК)	147
10.8. Реакція імунофлуоресценції (РІФ)	150
10.9. Імуноферментні методи (ІФА)	151
10.10. Радіоімунні методи (РІМ)	153
10.11. Імуноблотинг	153
10.12. Біочіпи	155
Розділ 11. Імунопрофілактика та імунотерапія інфекційних захворювань	156
11.1. Показання і протипоказання до проведення профілактичних щеплень	161
11.2. Серотерапія і серопротекція	162
11.3. Дослідження імунного статусу організму	164
11.4. Оцінка стану В-системи імунітету	165
11.5. Оцінка клітинного імунітету – стану Т-системи	166
11.6. Визначення циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові	168

Частина III. Вірусологія

Розділ 12. Загальна вірусологія	173
12.1. Методи лабораторної діагностики вірусних інфекцій	177
12.2. Методи ідентифікації вірусів	185
12.3. Молекулярно-біологічні методи індикації та ідентифікації вірусів	190
12.4. Виділення і титрування бактеріофагів	192
Розділ 13. Спеціальна вірусологія	196
13.1. Грип	196
13.2. Параміксовірусні інфекції	201
13.3. Ентеровірусні інфекції	205
13.4. ВІЛ-інфекція	210
13.5. Ротавірусні гастроентерити	215
13.6. Коронавірусні інфекції	217
13.7. Сказ	219
13.8. Натуральна віспа	222
13.9. Папіломавіруси	223
13.10. Поліомавіруси	224
13.11. Парвовіруси	225
13.12. Герпесвірусні інфекції	226
13.13. Простий герпес	230
13.14. Вітряна віспа – оперізуєчий герпес	231
13.15. Цитомегалія	231
13.16. Лабораторна діагностика ВЕБ-інфекції	232
13.17. Аденовірусні інфекції	234
13.18. Збудники вірусних гепатитів	235
13.19. Арбовірусні інфекції	240
13.20. Кліщовий весняно-літній енцефаліт	241
13.21. Японський енцефаліт	241
13.22. Гарячка Західного Нілу	242
13.23. Жовта гарячка	242
13.24. Геморагічні гарячки	243

13.25. Краснуха.....	245
13.26. Лімфоцитарний хориоменінгіт	247
13.27. Гарячки Марбург і Ебола	248
13.28. Лихоманка Зіка.....	249

Частина IV. Спеціальна, клінічна та екологічна мікробіологія

Розділ 14. Патогенні прокаріоти.....	251
14.1. Стафілококові інфекції	251
14.2. Стрептококові інфекції.....	258
14.3. Менінгококові інфекції	267
14.4. Гонококові інфекції.....	271
14.5. Ешерихіози.....	275
14.6. Захворювання, спричиненні умовно-патогенними ентеробактеріями	280
14.7. Черевний тиф і паратифи.....	286
14.8. Сальмонельози (харчові токсикоінфекції).....	292
14.9. Дизентерія (шигельоз).....	295
14.10. Клебсієльози.....	298
14.11. Холера	301
14.12. Кампілобактеріози і гелікобактеріози.....	307
14.13. Чума	312
14.14. Псевдотуберкульоз.....	317
14.15. Кишковий ієрсиніоз.....	319
14.16. Туляремія	320
14.17. Бруцельоз	324
14.18. Сап і меліюїдоз	330
14.19. Сибірка (злаякісний карбункул).....	332
14.20. Мікробіологічна діагностика анаеробних інфекцій	337
14.21. Ботулізм	337
14.22. Правець	340
14.23. Клостридії газової гангрени	343
14.24. Бактероїдоз.....	347
14.25. Пептококові і пептострептококові анаеробні інфекції	350
14.26. Дифтерія.....	351
14.27. Коклюш і паракоклюш	358
14.28. Псевдомонадні інфекції.....	361
14.29. Інфекції, викликані гемофільними бактеріями	363
14.30. Легіонельози.....	366
14.31. Лістеріоз	367
14.32. Туберкульоз.....	368
14.33. Мікобактеріози.....	377
14.34. Лепра (проказа).....	378
14.35. Актиномікоз	380
14.36. Нокардіоз.....	381
14.37. Сифіліс та інші трепонематози	382
14.38. Ендемічні побутові трепонематози	389
14.39. Лептоспіроз	390
14.40. Бореліози.....	393
14.41. Епідемічний поворотний тиф	393
14.42. Ендемічний поворотний тиф	395

14.43. Бореліоз Лайма	395
14.44. Рикетсіози. Коксієльози.....	396
14.45. Епідемічний висипний тиф	397
14.46. Ендемічний висипний тиф	400
14.47. Ку-гарячка	401
14.48. Північноазіатський рикетсіоз.....	403
14.49. Гарячка цуцугамуші	403
14.50. Пароксизмальний рикетсіоз.....	404
14.51. Хламідіоз	404
14.52. Респіраторний хламідіоз	406
14.53. Сечостатевиий хламідіоз	406
14.54. Орнітоз	408
14.55. Мікоплазми.....	409
Розділ 15. Патогенні гриби	414
15.1. Методи лабораторної діагностики мікозів	414
15.2. Дерматомікози	418
15.3. Глибокі (вісцеральні) мікози.....	421
15.4. Кандидоз.....	428
15.5. Плісняві (цвільові) мікози	430
Розділ 16. Патогенні найпростіші	435
16.1. Методи лабораторної діагностики	435
16.2. Малярія	437
16.3. Токсоплазмоз.....	441
16.4. Криптоспоридіоз, ізоспоров	443
16.5. Трипаносомоз.....	444
16.6. Лейшманіози	446
16.7. Лямбліоз.....	448
16.8. Трихомоноз.....	449
16.9. Амебіаз.....	451
16.10. Балантидіаз.....	453
Розділ 17. Основи клінічної та екологічної мікробіології	454
Розділ 18. Санітарна мікробіологія та вірусологія	473
18.1. Мікробіологічне дослідження води	473
18.2. Дослідження мікрофлори повітря	479
18.3. Мікробіологічне дослідження ґрунту	481
18.4. Мікробіологічні дослідження змивів із рук та предметів ужитку	484
18.5. Мікробіологічні дослідження харчових продуктів.....	485
18.6. Дослідження мікрофлори людини	487
Тести для самоконтролю.....	494
Додатки	549
Список літератури	574

Основи клінічної та екологічної мікробіології

Клінічна мікробіологія представляє собою окремий розділ медичної мікробіології, яка сформувалася протягом останніх десятиріч на вимогу медиків-клініцистів. Цьому сприяло поширення інфекційних захворювань та численних гнійно-септичних ускладнень у неінфекційних стаціонарах та відділеннях різного профілю.

Постійна еволюція збудників, особливості захворювань, що ними викликаються, темпи росту частоти їх виникнення спричинили зростання медичної та соціальної значущості госпітальних інфекцій для системи охорони здоров'я, спонукали переглянути підходи до розв'язання проблем, що виникають внаслідок цього.

Ріст захворюваності на госпітальні (нозокоміальні) інфекції зумовлений рядом причин, у тому числі збільшенням числа осіб, які належать до контингентів підвищеного ризику, впровадженням у практику складних оперативних втручань, малоінвазивних технологій, інших інструментальних методів діагностики тощо.

Зустрічаються такі інфекції в усіх країнах світу, і вони є серйозною проблемою для лікувально-профілактичних закладів охорони здоров'я. Госпітальні інфекції, як правило, приєднуються до основного захворювання або вперше виникають у новонароджених.

Розрізняють такі основні групи нозокоміальних інфекцій: бактеріємії й септицемії, гнійно-запальні ускладнення ран і опіків, гострі кишкові, респіраторні, уrogenітальні, посттрансфузійні інфекції та захворювання, обумовлені тривалим лікуванням антибіотиками.

Збудниками цих захворювань можуть бути найрізноманітніші види бактерій, вірусів, грибів і найпростіших. Однак провідна роль належить представникам кокової групи, бактероїдам, клостридіям та численним грамнегативним паличкам. Питома вага грамнегативних бактерій у виникненні госпітальних інфекцій з року в рік зростає.

Лікарняні ековари мікробів мають свої особливості, що, у свою чергу, робить їх дуже небезпечними. Такими особливостями є:

- легка адаптація до умов лікарні;
- підвищена популяційна мінливість збудників;
- інтенсивний обмін генетичним матеріалом між штамми бактерій, які циркулюють у лікарні, — не тільки внутрішньовидовий, але й міжвидовий;
- підвищена вірулентність бактерій (селекціонуються шляхом пасажів на хворих в умовах лікарні);
- множинна стійкість до антибіотиків та дезінфектантів.

Мікробіологічна діагностика внутрішньолікарняних інфекцій має свої особливості і труднощі. У зв'язку з великою різноманітністю збудників лікарю-клініцисту потрібно вміти застосовувати різні методи дослідження.

Але в будь-якому разі надзвичайно важливим для лікаря-клініциста і лікаря-мікробіолога є визначення етіологічної значущості того чи іншого виділеного

мікрорганізма як чинника захворювання. Розроблено різні методи оцінки етіологічної значущості виділених бактерій.

Основним критерієм оцінки етіологічної ролі збудника у розвитку інфекції є визначення його наявності в досліджуваному матеріалі. При цьому слід врахувати, що в людини в нормі є такі стерильні ділянки:

- кров та кістковий мозок;
- спинномозкова рідина;
- серозна рідина;
- тканини;
- нижній дихальний тракт;
- сечовий міхур.

Тому будь-який мікроорганізм, виділений із цих біотопів, може розглядатися як збудник захворювання.

Враховуючи, що більшості біотопів людини притаманна власна нормальна коменсальна мікрофлора, заслуговують на увагу як збудники захворювань ті мікроорганізми, які виділяються з невластивих (незвичних) для них біотопів.

Як було зазначено, виділення мікробів із зразків клінічного матеріалу має вирішальне значення при дослідженні крові та спинномозкової рідини, оскільки в нормі ці рідини стерильні. У решті випадків, навіть якщо виділено монокультуру бактерій, цей результат може бути сумнівним. І навіть негативний результат не може заперечити роль умовно-патогенного мікроорганізму в розвитку процесу, оскільки він може зумовлюватися різними, в тому числі й методичними, погрішностями при виділенні чистої культури. Ось чому такого важливого значення набувають повторні бактеріологічні дослідження, особливо враховуючи період напіввиведення антибіотиків, якими лікують хворих. Обов'язковим є визначення етіологічно значущої концентрації інфекційного чинника, тобто його вмісту в одному мілілітрі або одному грамі досліджуваного матеріалу, враховуючи, що мікроорганізми часто знаходяться у патологічному вогнищі в асоціаціях. Зазвичай, у більшості випадків це 10^5 – 10^6 клітин в 1 мл – для мікроорганізмів і 10^3 – 10^4 клітин/г(мл) для грибів і найпростіших. Це дозволяє визначити провідний мікроорганізм (домінуючу популяцію). При сумнівних результатах показане повторне дослідження цього самого матеріалу через 12–24 години. Повторне виділення збудників в аналогічних концентраціях, звичайно, доводить їх етіологічну роль.

Важливо обов'язково проводити видову ідентифікацію бактерій та визначати їх потенційні патогенні властивості (наявність факторів патогенності).

Підтверджує позитивний результат належність виділеної культури до лікарняних екологічних варіантів або штамів бактерій. Останні постійно виділяються як від медичного персоналу відповідного відділення, так і з об'єктів лікарняного середовища. Довести належність виділених збудників до лікарняних варіантів можна, порівнюючи їх антигенні властивості, чутливість до бактеріофагів та спектр антибіотикорезистентності.

Заслуговує на увагу також поява у крові специфічних антитіл проти антигенів етіологічного агента і зростання їх титру в парних сироватках у 4 і більше разів протягом певного часу, а також існування певної кореляції між ізольованим агентом та клінічною картиною нозологічної форми хвороби.

Слід звернути увагу також на множинну стійкість ізольованих штамів до антибіотиків, а також на епідеміологічну ситуацію і показники у стаціонарі та медичному закладі в цілому.

Довести належність виділених збудників до лікарняних варіантів можна, порівнюючи їх антигенні властивості, чутливість до бактеріофагів та спектр антибіотикорезистентності.

У табл. 17.1 і додатках 1 і 2 представлено основні сайти локалізації інфекції, найчастіші збудники захворювань, рекомендований матеріал для такого дослідження, а також орієнтовні методи дослідження.

Нижче наведено основні методичні прийоми мікробіологічної діагностики окремих госпітальних інфекцій, які найчастіше зустрічаються в лікарняних закладах.

Бактеріємії й септицемії, як одні з тяжких форм нозокоміальних інфекцій, можуть спричинити майже всі види патогенних мікроорганізмів. Грампозитивні бактеріємії найчастіше викликають золотисті й епідермальні стафілококи та стрептококи, а грамнегативні бактеріємії – ешерихії, клебсієли, псевдомонади, протей, серації, нейсерії (рис. 17.1).

Збудниками септицемії часто є бактероїди та клостридії. Ризик виникнення бактеріємії суттєво збільшують процедури, пов'язані з використанням катетерів (катетер-асоційовані бактеріємія та сепсис). Мікроорганізмами, які найчастіше спричиняють катетер-асоційовані інфекції, є коагулазонегативні стафілококи. Вони здатні продукувати слиз, який забезпечує колонізацію катетера. Проте найтяжчі інфекції спричиняють *S. aureus* і грамнегативні бактерії.

Точний діагноз цих форм нозокоміальних інфекцій можна встановити лише після виділення гемокультури. Для проведення мікробіологічного аналізу

Таблиця 17.1.

Локалізація процесу, орієнтовний клінічний матеріал та збудники, які найчастіше спричиняють процес (С. Washington, 2006)

Локалізація процесу	Клінічний матеріал для виділення мікроорганізмів	Види збудників, асоційовані з інфекцією
Дихальний тракт		
<i>Верхні дихальні шляхи</i>		
Носові синуси: Гострий синусит	Мазок з носоглотки, рідина із синусів	<i>Streptococcus pneumoniae</i> β-гемолітичні стрептококи (група А) <i>Staphylococcus aureus</i>
Хронічний синусит		<i>Haemophilus influenzae</i>
Риніт	Виділення, мазок з носа, біоптати	<i>Klebsiella spp.</i> та інші представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Bacteroides spp.</i> та інші анаероби (синус)
Горло й глотка	Мазок із задньої стінки глотки Мазок з мигдаликів (гній з абсцесу) Мазки з носоглотки	β-гемолітичні стрептококи (група А) <i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Bordetella pertussis</i>
<i>Нижні дихальні шляхи</i>		
Легені та бронхи	Мокротиння Кров Промивні води бронхів Транстрахеальний аспірат Бронхолегеневий аспірат Біоптати	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> та інші представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Legionella spp.</i> <i>Mycobacterium spp.</i> , <i>Fusobacterium nucleatum</i> , <i>Prevotella melaninogenica</i> та інші анаероби <i>Bordetella spp.</i>
Вухо		
Середнє вухо (гострий процес)	Матеріал при дренаванні, серозні або гнійні виділення Мазок із ротоглотки Мазок із носоглотки	<i>Streptococcus pneumoniae</i> та інші стрептококи <i>Haemophilus influenzae</i>
Хронічний процес	Виділення із зовнішнього слухового проходу Пунктат	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus spp.</i> Анаеробні бактерії
Шлунково-кишковий тракт		
<i>Шлунок і дванадцятипала кишка, тонка кишка і товста кишка</i>		
Гастрит, виразка шлунка і дванадцятипалої кишки	Біоптати	<i>Helicobacter pylori</i>
Тонка кишка і товста кишка	Мазок з прямої кишки Слиз з прямої кишки Фекалії Кров (гемокультура при черевному тифі)	<i>Campylobacter jejuni</i> та інші штами <i>Campylobacter</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Escherichia coli</i> (токсигенні штами) <i>Vibrio cholerae</i> та інші <i>Vibrio spp.</i>

Локалізація процесу	Клінічний матеріал для виділення мікроорганізмів	Види збудників, асоційовані з інфекцією
Сечовивідний тракт		
Сечовий міхур, нирки	Середня порція сечі Сеча під час катетеризації Сеча при надлобковій катетеризації сечового міхура	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella spp.</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Enterococcus spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>S. saprophyticus</i>
Репродуктивна система		
<i>Чоловіки:</i>		<i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>N. meningitidis</i> <i>Haemophilus ducreyi</i> <i>Treponema pallidum</i> (сифіліс) <i>Mobiluncus spp.</i> та інші анаероби <i>Gardnerella vaginalis</i>
Уретра Простата	Виділення з уретри Секрет простати	
<i>Жінки:</i>		<i>Trichomonas vaginalis</i> <i>Candida albicans</i> <i>Mycoplasma spp.</i> <i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Herpes simplex virus</i> <i>Treponema pallidum</i> (сифіліс)
Шийка матки Уретра	Мазки із шийки матки Мазки з прямої кишки Мазки з уретри Мазки із шанкру (мікроскопія темного поля)	
Центральна нервова система		
Головний мозок Спинний мозок	Спинномозкова рідина Субдуральний аспірат Кров на гемокультуру Мазки з горла Мокротиння	<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> β-гемолітичні стрептококи груп А та В (групи В у новонароджених) Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> від ослаблених хворих, дітей, осіб після краніотомії <i>Listeria monocytogenes</i>
Очі		
Кон'юнктива	Виділення Мазок з кон'юнктиви Мазок із внутрішнього кута очної щілини	<i>Haemophilus spp.</i> <i>Moraxella spp.</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Кровоносна система		
Бактеріємія Септицемія Септикопіїмія	Кров: дві або три культури. Повторити при потребі	<i>Streptococcus spp.</i> Стрептококи групи А (будь-який вік) Стрептококи групи <i>viridans</i> (ендокардит) Стрептококи груп А, В, D (від новонароджених) <i>S. pneumoniae</i>

Локалізація процесу	Клінічний матеріал для виділення мікроорганізмів	Види збудників, асоційовані з інфекцією
Бактеріємія Септицемія Септикопемія	Матеріал з будь-якого первинного джерела інфекції, що запідозрено: із спинномозкової рідини з дихального тракту з пупка з вуха з рани Із сечовивідної системи	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Corynebacterium jeikeium</i> <i>Haemophilus influenzae</i> НАСЕК (<i>Haemophilus</i> spp., <i>Actinobacillus actinomycetem comitans</i> , <i>Cardiobacterium hominis</i> , <i>Eikenella corrodens</i> , <i>Kingella</i> spp. <i>Escherichia coli</i> та інші коліформні бактерії) <i>Salmonella typhi</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Bacteroides fragilis</i> та інші анаеробні бактерії
Рани		
Будь-яка локалізація	Виділення пунктат глибокий мазок тканинний біоптат	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Clostridium</i> spp., <i>Bacteroides</i> spp. та інші анаероби Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus</i> spp.
Кістки і суглоби		
Будь-яка локалізація	Суглобовий аспірат Синовіальна біопсія Відростки кістки або аспірат кісткового мозку	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Mycobacterium</i> spp.

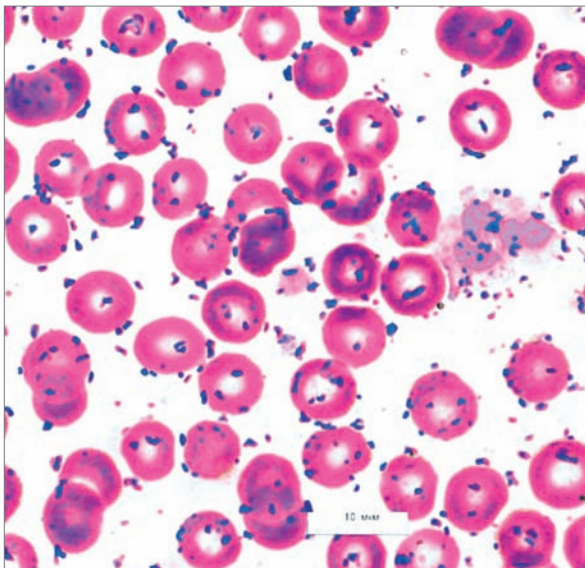


Рис. 17.1. Бактеріємія

беруть лише венозну кров (по можливості до прийому або через 12–24 год після останнього прийому антибактеріальних препаратів) (рис. 17.2).

При цьому необхідно дотримуватись жорстких правил асептики з метою запобігання контамінації клінічного зразка нормальною мікрофлорою шкіри. У місці венепункції шкіру обробляють 70 % спиртом, потім одним із антисептиків (йодоформ, хлоргексидин) і знову спиртом. Оброблена поверхня повинна висохнути, і лише через 1–2 хв беруть 10–30 мл крові (у дітей – 3–5 мл).

Посіви проводять у 2 флакони (по 5–10 мл) із багатоцільовими поживними середовищами збагачення у співвідношенні 1:10 і швидко надсилають до лабораторії, не допускаючи заморожування. Бажано, щоб середовища містили 0,025–0,05 % поліанітолсульфонату натрію (SPS), за винятком дослідження на менінгококцемію та гонококцемію. SPS міститься в комерційних середовищах, є антикоагулянт, є



Рис. 17.2. Забір крові для виділення гемокультури

пригнічує бактерицидну активність сироватки крові та фагоцитоз, інактивує комплемент, нейтралізує лізоцим і дію аміноглікозидів. Один флакон інкубують у звичайних аеробних умовах, інший можна залити вазеліновим маслом, щоб забезпечити ріст анаеробів. Для виділення аеробних бактерій використовують “подвійне середовище” (скошений агар і цукровий бульйон у одному флаконі: посів крові проводять у бульйон і при інкубації періодично зрешують ним скошену частину агару, на якому потім виростають ізольовані колонії). Для анаеробних бактерій використовують тіогліколевий бульйон та середовище Кітта – Тароцці, для грибів – рідке середовище Сабуро.

Попереднє мікроскопічне дослідження крові зазвичай не проводять, оскільки виявити бактерії у мазках вдається дуже рідко. Засіяні середовища у флаконах витримують у термостаті при 35 °С впродовж 7 днів, контролюючи макро- і мікроскопічно наявність росту кожного дня. При його наявності роблять висіви на відповідні щільні середовища з метою виділення і наступної ідентифікації чистих культур, вивчення їх біологічних властивостей і чутливості до антибіотиків. При відсутності росту протягом тижня проводять повторне дослідження на 14-й день. Якщо росту немає протягом двох тижнів, результат вважають негативним. При виділенні бактероїдів дослідження може тривати три і більше тижнів.

Для підвищення частоти виявлення бактерій рекомендують брати кров для виділення гемокультури тричі впродовж доби. Сьогодні для дослідження крові

на гемокультуру використовують автоматизовані системи серій BATEC (Becton Dickinson), BactALert (bioMerieux), TREK ESP Culture System II (TREK Diagnostic Systems, Cleveland, OH), BBL Septi-Chek Blood Culture System, The Oxoid Signal System та ін. Їх принцип дії заснований на безперервному моніторингу росту гемокультури за зростанням концентрації діоксиду вуглецю (CO₂) в інкубаційному середовищі. Реєстрацію газоутворення здійснюють за методом колориметрії або флуоресценції. Залежно від моделі приладу, одночасно може досліджуватися від 50 до 240 зразків (рис. 17.3).

Враховуючи, що у нормі кров стерильна, виділення будь-яких умовно-патогенних видів свідчить про їх етіологічну роль у виникненні захворювання. Важливе значення має повторюваність виділення однієї й тієї ж культури від хворого та ідентичність її з культурами, виділеними від хворого з іншого матеріалу. Якщо протягом двох тижнів після посіву крові росту мікроорганізмів у поживних середовищах не виявлено, кров можна вважати стерильною.

Захворювання дихальних шляхів. Серед захворювань верхнього і нижнього дихального тракту людини зустрічаються трахеїти, бронхіти, бронхіоліти, альвеоліти, трахеобронхіти, пневмонії, риніти, фарингіти, пневмонії, абсцеси, емпієми і гангрені легень тощо, які можуть викликати паличка інфлуенци, пневмококи, мікоплазми, пневмоцисти, а також ортоі параміксовіруси, рино- і коронавіруси, аденовіруси та багато інших збудників (табл. 17.2, додаток 1).



Рис. 17.3. Автоматизована система для культивування гемокультури

Таблиця 17.2.

Коменсальна мікрофлора і потенційні патогени респіраторного тракту людини (Е. Копетан, 2006)

Коменсальна (нормальна) мікрофлора	Потенційні бактеріальні патогени	Віруси та інші збудники
α/γ -гемолітичні стрептококи	Анаероби (як компонент мікст-інфекції)	Аденовіруси
β -гемолітичні стрептококи	<i>Bordetella pertussis</i>	Вірус простого герпесу
<i>Candida spp.</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Ортоміксовіруси
Коагулазонегативні стафілококи	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Параміксовіруси
<i>Corynebacterium spp.</i>	<i>Chlamydomphila psittaci</i>	Цитомегаловірус
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Neisseria spp.</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Pneumocystis jiroveci (carinii)</i>
	<i>Legionella spp.</i>	
	<i>Moraxella catarrhalis</i>	
	<i>Mycobacterium spp.</i>	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
	<i>Neisseria meningitidis</i>	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
	<i>Streptococcus pyogenes</i> (група А)	

Внутрішньолікарняні інфекції дихальних шляхів (особливо пневмонії) домінують серед усіх інших захворювань.

Основним матеріалом для дослідження є мазки з носа, рото- і носоглотки, харкотиння та промивні води бронхів. Порівняно рідко досліджують біоптати легень, аспірати трахеї. Мазки беруть тампонами натще до чищення зубів, полоскання рота, носа і глотки. Синтетичну гігроскопічну вату для виготовлення тампонів використовувати не слід, оскільки вона містить альгінат натрію, який згубно впливає на мікрофлору. Для кожної ніздрі беруть окремий тампон (рис. 17.4, 17.5).

При заборі матеріалу з ротоглотки не можна торкатись тампоном до слизової рота і язика. Матеріал із носоглотки беруть спеціальним задньоглотковим тампоном (рис. 17.6).

Пацієнта просять широко відкрити рот і сказати "а-а-а". Язик слід притиснути шпателем. Тампон вставляють над язиком, не торкаючись ним задньої стінки ротоглотки. Матеріал забирають зі слизової



Рис. 17.4. Тампон для забору матеріалу з носа

між язичком і мигдаликами ніжними круговими рухами.

Збір матеріалу кутовим тампоном описано в розділі "менінгококова інфекція".

Мокротиння є найдоступнішим біоматеріалом, але за надійністю поступається інвазивним методам, позаяк суттєво контаміноване мікрофлорою верхніх дихальних шляхів. Ранкову порцію харкотиння збирають у стерильну банку (рис. 17.7). Перед цим хворий

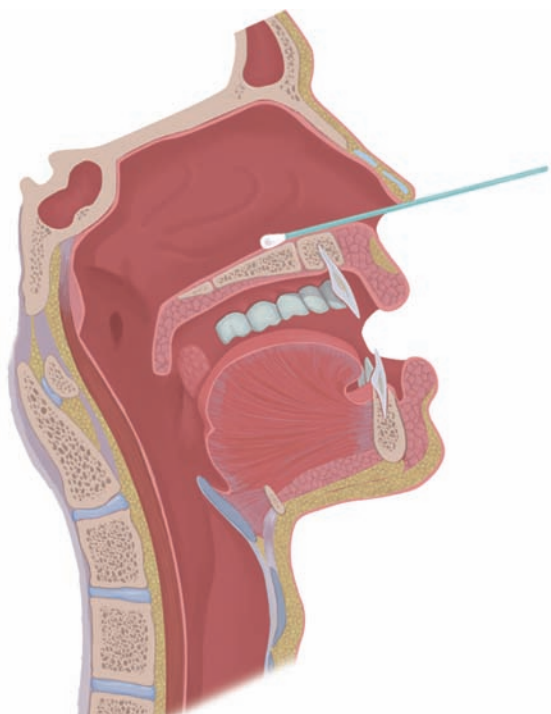


Рис. 17.5. Забір матеріалу з носа

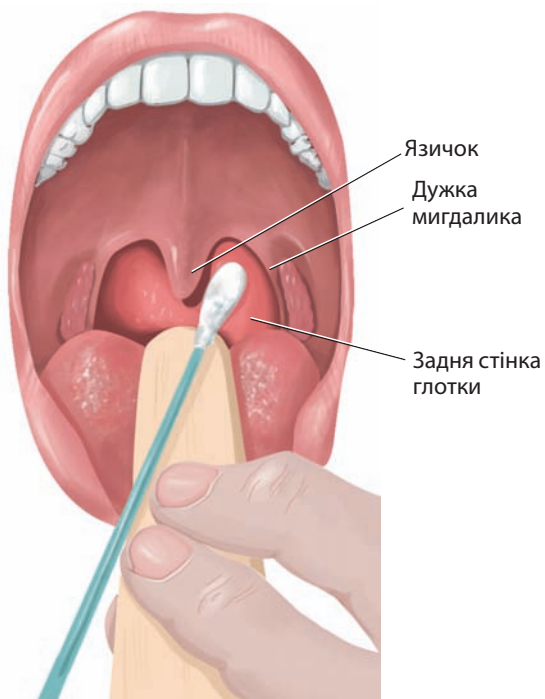


Рис. 17.6. Забір матеріалу з ротоглотки

чистить зуби і прополіскує рот кип'яченою водою для видалення залишків їжі, епітеліальних клітин та мікрофлори ротової порожнини. Строк транспортування мокротиння до лабораторії не повинен перевищувати 1,5–2 год від моменту його отримання. Інакше відбувається автоліз, наприклад, *S. pneumoniae*, а розмноження бактерій-контамінантів змінює справжнє співвідношення мікрофлори бронхіального секрету.

Деколи виникає потреба використовувати малоінвазивні технології для забору матеріалу, наприклад, бронхоскопію (рис. 17.8).



Рис. 17.7. Контейнери для забору мокротиння

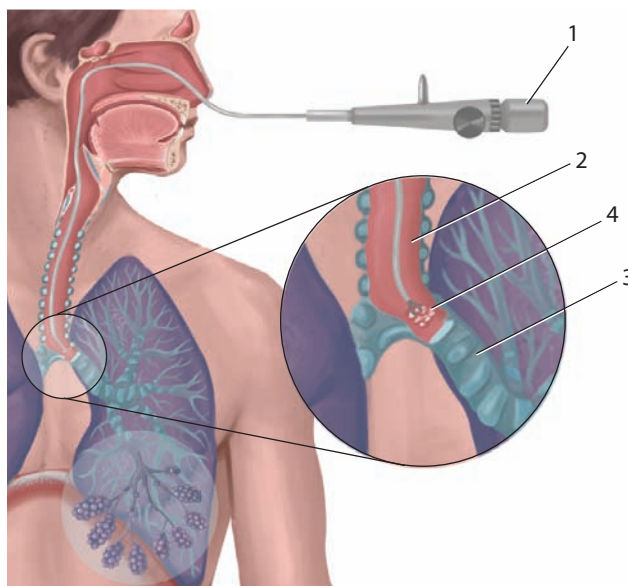
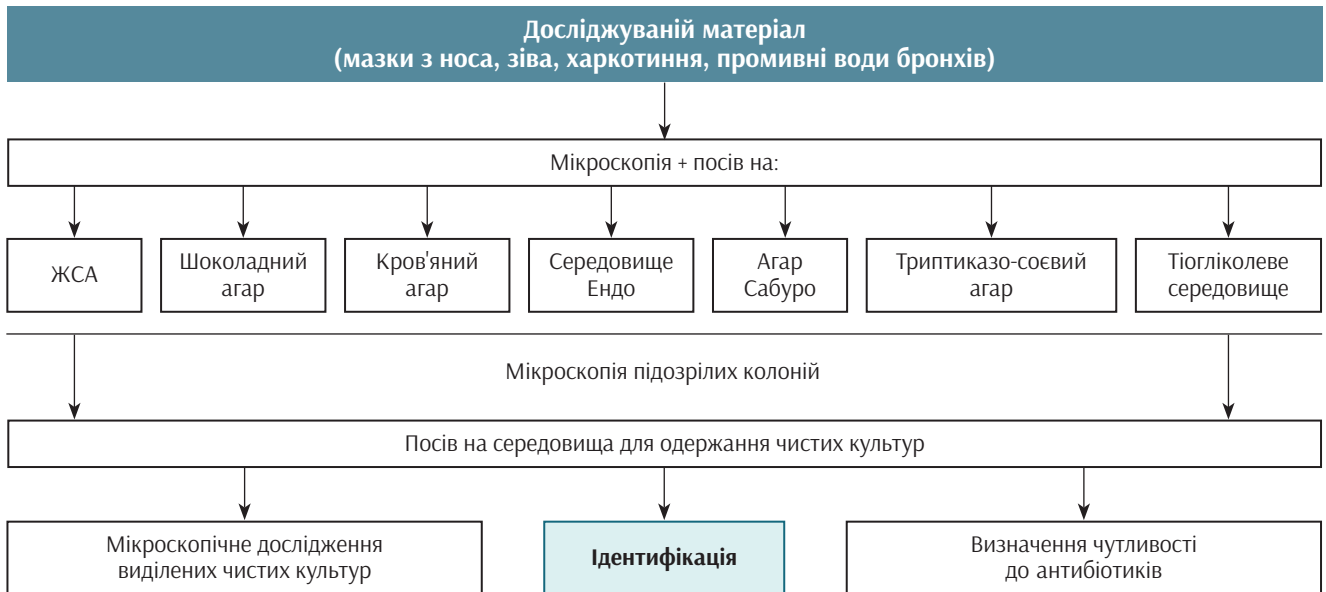


Рис. 17.8. Використання бронхоскопії для забору матеріалу при захворюваннях дихальних шляхів:

- 1 – бронхоскоп; 2 – трахея; 3 – лівий первинний бронх;
- 4 – змінена тканина, зразок для біопсії

Таблиця 17.3.

Схема бактеріологічного дослідження при захворюваннях дихальних шляхів



Отриманий при будь-якому методі забору досліджуваний матеріал спочатку мікроскопують, забарвлюючи його за Грамом, оскільки мікроскопія є важливим орієнтиром для вибору оптимальних поживних середовищ (табл. 17.3).

При перегляді мазків оцінюють загальну картину мікрофлори: наявність стафіло-, мікро- і стрептококів, нейсерій, капсульних пневмококів і клебсієл, грамнегативних паличок, міцелію і бластоспор грибів. При гострій інфекції в харкотинні виявляють бактерії, розміщені поблизу лейкоцитів. Мікроорганізми з ротової порожнини розташовуються навколо епітеліальних клітин, їх до уваги не беруть. Скоріше всього вони свідчать про порушення техніки забору. В таких випадках взяття матеріалу необхідно повторити.

Посіви проводять на кров'яний і шоколадний агар, ЖСА, середовища Ендо і Сабуро, які попередньо підігривають у термостаті. При посіві тампоном матеріал спочатку втирають в середовище на невеликій ділянці (2–3 см²), а потім штрихами по всій поверхні середовища.

Перед посівом харкотиння спочатку виливають у чашку Петрі, вибирають 2–3 гнійні грудочки, тричі відмивають їх від супутньої мікрофлори в стерильному ізотонічному розчині хлориду натрію і наносять на середовище. Посів проводять стерильним скляним шпателем, рівномірно розтираючи матеріал по

поверхні середовища. Через 18–24 год інкубації в термостаті підраховують кількість колоній, виділяють чисті культури та проводять їх ідентифікацію загальноприйнятими методами. Обов'язково визначають їх чутливість до антибактеріальних препаратів.

Як додатковий, використовують і кількісний метод визначення бактерій у харкотинні. Для цього 1 мл харкотиння гомогенізують у 5 мл бульйону чи пептонної води за допомогою скляних бусинок у колбі протягом 20 хв, або в ступках із стерильним кварцевим піском. Потім із гомогенізованого матеріалу готують серійні розведення від 10⁻¹ до 10⁻⁷ і по 0,1 мл із останніх трьох розведень висівають на кров'яний агар. На середовища Ендо і Сабуро сіють 0,1 мл початкового розведення (1:10). Через 24 год інкубації в термостаті підраховують кількість колоній кожного виду мікроорганізмів. Діагностично значущим є виявлення *S. pneumoniae* і *H. influenzae* в концентрації 10⁶ і більше бактерій в 1 мл. Для умовно-патогенних мікроорганізмів така концентрація має значення при 2–3-кратному їх виявленні у посівах з інтервалом у 3–5 днів.

Важливе значення має оцінка кількості колоній і при первинному посіві на щільні середовища. При цьому використовують такі критерії (ступені): перший – ріст поодиноких колоній (до 10); другий – ріст від 10 до 25 колоній; третій – ріст 50 і більше колоній;

четвертий – суцільний ріст, колонії не можна підрахувати.

Третій-четвертий ступінь, як правило, свідчить про етіологічну роль даного мікроорганізму, перший і другий – про носійство або контамінацію.

Точнішу інтерпретацію результатів проводять таким чином:

- ізоляти з бронхіального секрету, які отримано за малоінвазивними технологіями, можна розцінювати як етіологічно значущі;
- виділення гемокультур *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, звичайно, свідчить про їх роль в етіології бронхолегеневої інфекції;
- наявність мікроорганізмів, які не притаманні природній флорі, або незвично велика кількість мікробів будь-якого виду вказує на їх етіологічну значущість у розвитку захворювання;
- етіологічно значущими концентраціями бактерій у мокротинні, промивних водах бронхів є 10^6 КУО/мл для стрептококів, 10^5 КУО/мл для стафілококів, 10^4 КУО/мл для ентеробактерій та псевдомонад і 10^3 КУО/мл для грибів роду *Candida*;
- ріст мікробів у менших розведеннях може розцінюватися як контамінація мокротиння мікрофлорою верхніх дихальних шляхів.

Слід врахувати, що під час проведення антибактеріальної терапії кількісне обсіменіння мокротиння збудниками зменшується.

При підозрі на вірусні інфекції дихальних шляхів досліджуваний матеріал направляють до вірусологічної лабораторії, де проводять відповідні вірусологічні дослідження.

Гнійно-запальні, ранові та опікові інфекції. Збудниками ранових і гнійних післяопераційних ускладнень є стафіло- і стрептококи, грамнегативні бактерії, клостридії, бактероїди, фузобактерії та ін. Остеомієліти, мастити, омфаліти, отити найчастіше викликають золотистий і епідермальний стафілококи; апендицити і перитоніти – ешерихії, протей, бактероїди, ентерококи, клебсієли, часто в асоціаціях зі стафілококами. Опікові інфекції спричиняють стафілококи, псевдомонади та інші грамнегативні бактерії, представники нормальної мікрофлори шкіри та слизових оболонок.

Матеріал зі шкіри, рани або поверхні опіків беруть двома стерильними тампонами (один – для виготовлення мазків, другий – для посіву). Попередньо шкіра навколо вогнища інфекції обробляється хірургічним милом та 70 % етиловим або ізопропіловим спиртом. Гній, шматочки видалених тканин,

промивну рідину з дренажів забирають у стерильні пробірки при дотриманні правил асептики і протягом години доставляють до лабораторії. При ураженні зовнішнього вуха проводять спочатку обробку шкіри 70 % спиртом, потім беруть матеріал стерильним ватним тампоном. Якщо запальний процес локалізується в середньому або внутрішньому вусі, досліджують пунктат і матеріал, взятий під час операцій. Матеріал із кон'юнктиви, рогівки і повік беруть бактеріологічною петлею (або маленьким тампоном). Забір матеріалу проводить лікар-окуліст.

Виготовлені для мікроскопії мазки фарбують за Грамом (у разі потреби – за методом Романовського – Гімзи або Ціля – Нільсена). При виявленні мікроорганізмів вивчають їх морфологічні особливості та густину обсіменіння. За результатами мікроскопії вибирають поживні середовища і вносять корективи в хід мікробіологічного дослідження.

Посіви матеріалу роблять на 5 % кров'яний агар, цукровий бульйон та середовище для контролю стерильності. Посів на щільні середовища проводять за методом “тампон – петля”. Спочатку тампоном проводять доріжку за діаметром чашки, потім другою стороною тампона засівають ще одну “доріжку” паралельно першій. Після цього матеріал розсівають петлею штрихами, перпендикулярними до “доріжок”. Такий посів дає можливість виділити бактерії у вигляді окремих колоній навіть із мікробних асоціацій. Бажано оцінювати посіви кількісно з відповідних розведень для визначення етіологічно значущої концентрації бактерій.

Посіви на щільні та в рідкі середовища інкубують при 37 °C протягом доби. При виявленні росту окремих колоній відсівають на елективні середовища з метою їх подальшої ідентифікації. Обов'язково відзначають, чи мікроби ростуть у вигляді монокультури, чи в асоціації. При наявності асоціації відзначають переважний ріст того чи іншого представника асоціації. У ряді випадків рекомендують проводити й кількісні дослідження, визначаючи концентрацію мікробів в 1 мл гною, ексудату чи в 1 г видаленої тканини.

При підозрі на наявність у досліджуваному матеріалі грибів, посів додатково проводять ще й на середовище Сабуро і вирощування здійснюють при температурі 22–25 °C протягом 5 діб. При підозрі на наявність нейсерій посіви проводять на сироватковий агар і тіогліколевий бульйон. Інкубацію проводять при 37 °C в ексикаторі з 5–10 % CO₂.

Виділені чисті культури ідентифікують за морфологічними, культуральними, біохімічними та

антигенними властивостями, як це описано у відповідних розділах спеціальної мікробіології.

При інтерпретації результатів враховують можливість контамінації зразка мікроорганізмами, які колонізують шкіру, особливо при використанні тампонів для взяття матеріалу, а не аспірації шприцом. Достовірність результатів суттєво підвищується при використанні кількісних методів посіву, які покращують облік результатів при отриманні змішаних культур.

Урогенітальні інфекції. Цистити, уретрити, пієлонефрити, уросепсис та ін. можуть викликати ста-

філо- і стрептококи, протей, ешерихії, псевдомонади, клебсієли, мікоплазми та інші мікроорганізми (табл. 17.4, 17.5, додаток 1). При бактеріологічному дослідженні важливо правильно взяти пробу, провести якісне і кількісне визначення мікроорганізмів в 1 мл сечі ще до початку антимікробної терапії.

Перед забором сечі необхідно обмити з милом зовнішні статеві органи. У стерильний посуд беруть 3–5 мл середньої порції сечі і засівають біля ліжка хворого або доставляють до лабораторії протягом 30 хв. У разі неможливості негайного дослідження, сечу

Таблиця 17.4.

Нормальна мікрофлора сечовивідної системи та потенційні інфекційні збудники її захворювань

Нормальна мікрофлора	Потенційні патогени
α/β -гемолітичні стрептококи	<i>Corynebacterium urealyticum</i>
<i>Bacillus spp.</i>	<i>Enterococcus spp.</i>
Коагулазонегативні стафілококи	Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i>
Дифтероїди (коринебактерії)	<i>Pseudomonas spp.</i>
<i>Lactobacillus spp.</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> (старші чоловіки)
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (молоді жінки)

Таблиця 17.5.

Нормальна мікрофлора репродуктивної системи та деякі можливі збудники захворювань

Біотоп	Нормальна мікрофлора	Збудники захворювань, які передаються статевим шляхом	Інші збудники, які не передаються статевим шляхом
Уретра	Представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> , α/γ -гемолітичні стрептококи, <i>Enterococcus spp.</i> , дифтероїди (коринебактерії), коагулазонегативні стафілококи, анаероби (дистальні відділи, 1–2 см)	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Зовнішні статеві органи та шкіра промежини	Дифтероїди, коагулазонегативні стафілококи, мікрококи, дріжджоподібні гриби, <i>Acinetobacter spp.</i> , представники родини <i>Enterobacteriaceae</i>	Вірус простого герпесу 2-го типу; людський папіломавірус; <i>Treponema pallidum</i> ; <i>Haemophilus ducreyi</i> ; <i>Chlamydia trachomatis</i> серотипів L1–L3	Вірус простого герпесу 1-го типу; <i>Candida spp.</i> ; <i>S. pyogenes</i>
Піхва	<i>Lactobacillus spp.</i> , анаероби, представники родини <i>Enterobacteriaceae</i> , α/γ -гемолітичні стрептококи, <i>Enterococcus spp.</i> , дифтероїди, коагулазонегативні стафілококи (варіює залежно від віку)	Людський папіломавірус	<i>Candida spp.</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> ; <i>S. aureus</i>

Біотоп	Нормальна мікрофлора	Збудники захворювань, які передаються статевим шляхом	Інші збудники, які не передаються статевим шляхом
Канал шийки матки	У нормі стерильний або мінімальна контамінація вагінальною мікрофлорою	Людський папіломавірус; вірус простого герпесу 2-го типу; <i>N. gonorrhoeae</i> ; <i>C. trachomatis</i>	Вірус простого герпесу 2-го типу; цитомегаловірус
Ендометрій, фаллопієві труби, яєчники	У нормі стерильні	<i>N. gonorrhoeae</i> , <i>Chlamydia trachomatis</i>	Змішані аеробно-анаеробні інфекції (висхідні); <i>S. pyogenes</i> , <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. agalactiae</i> ; <i>A. israelii</i> (в осіб з внутрішньоматковими контрацептивами)
Системні інфекції, при яких статеві шляхи є вхідними воротами		Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ), вірус гепатиту В, вірус гепатиту С	

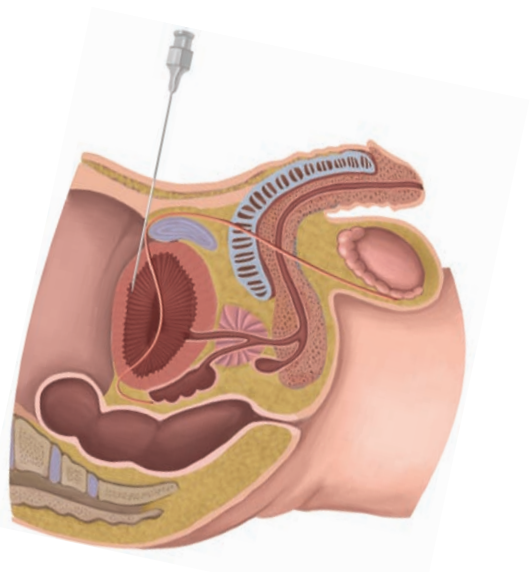


Рис. 17.9. Надлобкова пункція сечового міхура

зберігають у холодильнику не більше 24 год. За потребою в деяких випадках доцільно забирати сечу за допомогою надлобкової пункції сечового міхура (рис. 17.9).

Для посіву сечі біля ліжка хворого рекомендують метод “предметного скла”. Стерильне предметне скло покривають шаром розтопленого агару і після застигання середовища занурюють у стаканчик із сечею, виймають, дають сечі стекти та інкубують скельце в чашці Петрі 18–24 год при 37 °С. Ізольовані колонії ідентифікують.

Для визначення ступеня бактеріурії використовують неселективне середовище, наприклад, кров'яний агар. Однак якість дослідження суттєво підвищується при використанні додаткових селективних середовищ для виділення ентерококів та ентеробактерій (ентерокок-агар, середовища Ендо, Левіна, Мак-Конкі агар та ін.).

Інокулюм в об'ємі 10 або 100 мкл мікропіпеткою наносять у центр чашки Петрі з кров'яним агаром і розподіляють стерильною петлею від центра до краю чашки 4-ма штрихами. Потім перпендикулярними штрихами, які розташовуються близько один до одного, матеріал розподіляють по всій чашці.

Вважають, що при рості 10–100 колоній на чашці з кров'яним агаром кількість мікробів дорівнює 10^3 КУО/мл (при посіві 10 мкл сечі), якщо виросло 100–1000 колоній – 10^4 КУО/мл, а якщо понад 1000, то ступінь бактеріурії більше 10^5 КУО/мл.

Альтернативою цьому методу є метод Гоулда, при якому для посіву використовують калібровану петлю діаметром 2 мм (ємністю біля 0,005 мл), якою проводять секторні посіви (рис. 17.10).

Спочатку платиновою петлею проводять посів сечі (30–40 штрихів) на агар в секторі А. Петлю стерилізують у полум'ї пальника і проводять нею 4 штрихових посіви з сектора А в сектор 1, потім із сектора 1 у сектор 2, далі із сектора 2 в сектор 3, кожний раз стерилізуючи петлю. Чашки інкубують протягом доби при 37 °С, після чого підраховують кількість колоній,

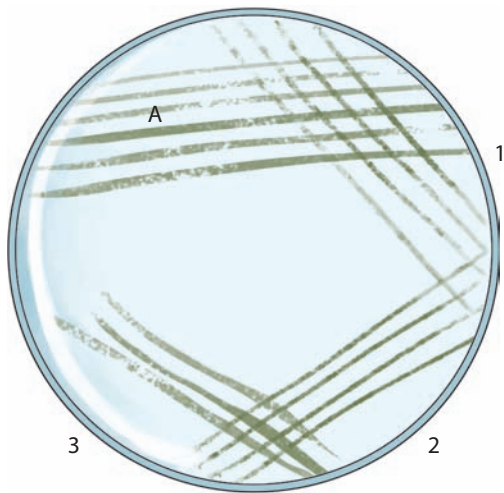


Рис. 17.10. Схема повторних посівів каліброваною петлею

що вирости в різних секторах. Ступінь бактеріурії визначають за спеціальною таблицею (табл. 17.6).

Метод секторних посівів дає можливість не тільки визначати ступінь бактеріурії, але й виділяти збудника в чистій культурі.

В 1 мл сечі здорової людини міститься не більше 10^4 бактерій (критичне число 10^5 мікробів). При виявленні 10^6 – 10^8 і більше бактерій в 1 мл сечі наявність інфікування сечовивідних шляхів вважають безсумнівною.

Для визначення локалізації інфекційного процесу в нирках чи сечовому міхурі проводять катетеризацію останнього. За допомогою катетера випускають всю сечу і промивають сечовий міхур розчином антибіотика (неоміцин), потім тричі з інтервалом 10 хв беруть проби сечі для бактеріологічного дослідження. Якщо інфекційний процес уражує нирки, в усіх трьох пробах сечі будуть знаходитись бактерії, кількість яких зростає в кожній наступній порції. При інфекції тільки сечового міхура сеча залишається стерильною.

Гнійно-запальні процеси жіночих статевих органів (уретрити, вульвовагініти, цервіцити, ендометрити, бартолініти тощо) можуть викликати як облигатні анаероби (бактероїди, пептострептококи, трепонеми, клостридії), так і факультативні анаероби (гарднерели, ентерококи, стафілококи, ешерихії, клебсієли, протеї, псевдомонади та ін.), дріжджоподібні гриби кандиди.

Основою мікробіологічної діагностики цих захворювань є виділення та ідентифікація мікроорганізмів і встановлення їх етіологічної ролі. Бактеріологічні дослідження мікрофлори жіночих статевих органів мають певні труднощі, оскільки вона часто змінюється в різні періоди життя жінки. Лише порожнина і придатки матки в нормі стерильні. Забір матеріалу для дослідження проводить акушер-гінеколог (рис. 17.11).

Зразки матеріалу з уретри беруть ранком до сечовипускання бактеріологічною петлею або ложечкою

Таблиця 17.6.

Визначення інтенсивності бактеріурії за Гоулдом

А	Кількість колоній в секторах			Кількість бактерій в 1 мл сечі
	1	2	3	
1–6	–	–	–	< 1000
8–20	–	–	–	3000
21–30	–	–	–	5000
31–60	–	–	–	10 000
70–80	–	–	–	50 000
100–150	5–10	–	–	100 000
Не підраховуються	20–30	–	–	500 000
– –	40–60	–	–	1 млн
– –	100–140	10–20	–	5 млн
– –	Не підраховується	30–40	–	10 млн
– –	– –	60–80	Поодинокі колонії	100 млн

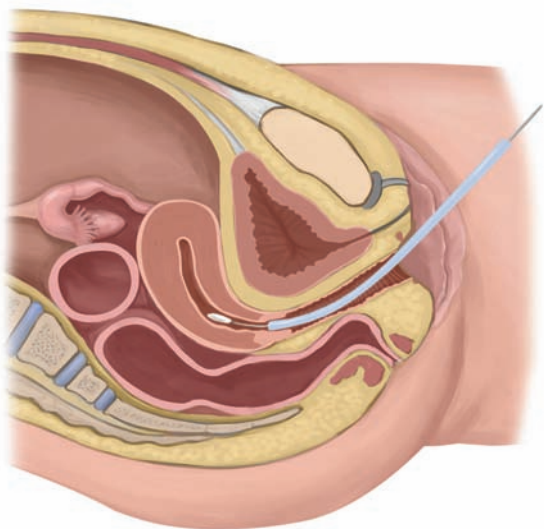


Рис. 17.11. Забір матеріалу з порожнини матки

Фолькмана. З вульви, піхви і шийки матки матеріал забирають ватним тампоном до проведення мануального дослідження. Для взяття матеріалу з порожнини матки використовують пристрої, що можуть розкриватись і закриватись на певній глибині (напр. шприц-аспіратор). При запаленні придатків матки матеріал беруть за допомогою пункції або при оперативному втручанні. Слід пам'ятати, що більшість збудників швидко гине в зовнішньому середовищі. У зв'язку з цим посіви необхідно проводити негайно або вносити проби в тіогліколеве чи гліцеринове середовище.

Одночасно із взяттям матеріалу для посіву готують окремими тампонами 2–3 мазки для мікроскопії, обережно розподіляючи матеріал на стерильних скельцях м'якими рухами, не застосовуючи грубого втирання, висушують при кімнатній температурі. Мазки направляють до лабораторії в чашках Петрі або покривають чистими предметними скельцями. При такій техніці виготовлення мазків зберігається справжній розподіл і кількісне співвідношення компонентів досліджуваного матеріалу, створюється можливість виявляти внутрішньоклітинне розташування бактерій (нейсерії).

Мазки фарбують за Грамом і мікроскопують під імерсійним об'єктивом. Відмічають кількість епітеліальних клітин, лейкоцитів, характер мікрофлори та визначають ступені чистоти вагінального секрету. Виявлення в мазках трихомонад, мікоплазм, уреоплазм, міцелію або бластоспор грибів має важливе діагностичне значення.

Для виділення факультативних анаеробів посіви проводять тампоном за допомогою штрихового методу на кров'яний агар і середовище Ендо, потім сіють тим же тампоном у цукровий бульйон. При підозрі на наявність анаеробів посіви проводять у тіогліколевий бульйон та середовище Кітта – Тароцці. В разі виявлення міцелію або бластоспор грибів посіви роблять на агар Сабуро. При дослідженні шматочків тканин їх спочатку стерильно розтирають у ступці з піском, додаючи бульйон або 0,85 % розчин хлориду натрію. По 0,1 мл гомогенату засівають на щільні середовища, а також у цукровий бульйон.

Посіви вирощують у термостаті при 37 °С (на агарі Сабуро – при 22–25 °С), щодня перевіряючи наявність росту. Підраховують кількість різних видів колоній та їх співвідношення. При помутнінні бульйону виготовляють мазки й за результатами мікроскопії роблять висіви на щільні середовища (кров'яний агар, Ендо, ЖСА). Потім виділяють чисті культури, ідентифікують їх і визначають чутливість до антибіотиків.

При дослідженні матеріалу з ділянок, де в нормі вегетує своя мікрофлора, важливе значення має кількісна оцінка різних видів бактерій при первинному посіві. При цьому використовують такі критерії (ступені):

I – дуже слабкий ріст – ріст тільки в рідких середовищах; на щільних середовищах росту немає.

II – слабкий ріст – на щільному агарі ріст до 10 колоній.

III – помірний ріст – на щільному агарі ріст більше 100 колоній.

Перший і другий ступені росту вказують частіше на стороннє забруднення, третій і четвертий – на етіологічну роль даного мікроорганізму.

Негативний результат дослідження видають при відсутності росту на всіх середовищах протягом 72 год (на агарі Сабуро – впродовж 5 діб).

Оцінюючи етіологічну значущість збудників опортуністичних інфекцій, беруть до уваги наступне:

- при заборі матеріалу однократною катетеризацією кількість етіологічно значущих бактерій знижується. Етіологічно значущими вважають мікроорганізми в концентрації 10^2 КУО/мл;
- якщо сечу отримують через постійний катетер, кількість бактерій 10^4 КУО/мл при наявності клінічних проявів інфекції сечовивідних шляхів і 10^5 КУО/мл при відсутності клінічних проявів розглядається етіологічно значущою;
- у зразках сечі, яку отримано при надлобковій пункції сечового міхура, будь-який ступінь бактеріурії має клінічне значення.

Якщо виділяється два мікроорганізми, роль кожного оцінюють, виходячи з його ступеня патогенності й частоти висівання.

Орієнтовно можна використати ще такі критерії:

- якщо ступінь бактеріурії не перевищує 10^3 КУО/мл сечі та її виявляють однократно, це свідчить про відсутність запального процесу, вона є результатом контамінації сечі;
- якщо бактерії знаходять повторно у таких самих кількостях, це може свідчити про персистуючу хронічну інфекцію; при цьому необхідно повторити дослідження, оцінити наявність у сечі лікарняних штамів бактерій, їх вірулентні можливості;
- бактеріурія 10^4 КУО/мл розцінюється як сумнівний результат, а ступінь бактеріурії в 10^5 КУО/мл сечі свідчить про наявність запального процесу. Наявність зміни ступеня бактеріурії в процесі захворювання використовується для контролю за перебігом процесу та ефективністю антимікробної терапії.

Інфекції центральної нервової системи. Клінічно захворювання центральної нервової системи зустрічаються не так часто, як попередні інфекції, однак у більшості випадків вони мають тяжчий перебіг, викликають серйозні ускладнення і навіть смерть хворого. Це зумовлено особливостями анатомічного розташування органів нервової системи, будовою та властивостями тканин і важливістю нервової системи для людини. Хоча гематоенцефалічний бар'єр і формує непроникність ЦНС для мікроорганізмів, однак у той же час він непроникний і для клітин-фагоцитів, імунoglobулінів та багатьох лікарських засобів. Особливість патогенезу інфекцій центральної нервової системи полягає в тому, що умовно-патогенні мікроорганізми, які розмножуються у первинних вогнищах інфекції, при зниженні опірності організму, порушенні кооперації клітин в імунній відповіді, імунодефіцитах все ж таки здатні долати цей бар'єр, проникаючи сюди гематогенним шляхом або за ходом периферичних нервів. Інколи можливе інфікування при травмах ЦНС.

У людини можуть розвиватися інфекційні ураження будь-якої тканини нервової системи, наприклад, енцефаліти (паренхіма мозку), менінгіти (ураження мозкових оболонок), мієліти (ураження тканин спинного мозку), епідуральні та субдуральні абсцеси мозку та мозочка, септичний кортикальний тромбоз та ін.

Найчастіше збудниками захворювань є *H. influenzae* типу b, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, α -гемо-

літичні стрептококи *S. agalactiae*, β -гемолітичні стрептококи *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *L. monocytogenes*, *Moraxella* spp., *Actinomyces israelii*, *Nocardia asteroides*, гриби *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Absidia* spp., *Mucor* spp., *Rhizopus* spp., *Conidiobolus* spp. та ін. (додаток 2).

Абсцеси мозку та енцефаліти – найсерйозніші захворювання ЦНС. Енцефаліти найчастіше спричиняються вірусами, хоча можуть бути й бактеріальної етіології, наприклад, *Mycoplasma pneumoniae*. Віруси простого герпесу 1-го типу і віруси оперізуючого герпесу викликають спорадичні енцефаліти.

Анаеробні бактерії – анаеробні стрептококи, *Porphyromonas melaninogenica*, *Bacteroides* spp., *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium* spp., і *Propionibacterium acnes* – можуть спричинити абсцеси мозку. Висівають також аеробні мікроорганізми – α/γ -гемолітичні стрептококи, *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *S. milleri*, *Streptococcus* групи *anginosus/constellatus*, представники родини *Enterobacteriaceae*, неферментуючі мікроорганізми, *Nocardia* spp., гриби *Cladosporium bantianum* (*Xylohypha bandana*). Некротизуючі енцефаліти можуть спричинити гриби зигоміцети.

Деколи виникають глистні та протозойні ураження мозку, які спричиняють *Taenia solium*, *Toxoplasma gondii* та ін. Останніми роками все частіше реєструються енцефаліти, викликані вільноживучими амебами (акантамеби, неглерії, баламутії).

Основним матеріалом для мікробіологічного дослідження при менінгітах є спинномозкова рідина, яку забирають у хворого з дотриманням усіх правил асептики та антисептики при люмбальній пункції до початку антибактеріальної терапії (рис. 17.12).

Ліквор набирають повільно в 3 пробірки, які герметично закриваються: для мікробіологічного, клінічного та біохімічного аналізів. На мікробіологічне дослідження посилають другу пробірку, бажано центрифужну, або пробірку з наймутнішим вмістом. Спинномозкову рідину зразу доставляють у лабораторію, поки вона тепла. При відсутності такої можливості матеріал зберігають при 37°C , адже охолодження ліквору нижче 37°C призводить до загибелі менінгококів. Після попереднього центрифугування відбирають надосадову рідину, яку використовують для визначення антигенів серологічними методами, наприклад, зустрічним імуноелектрофорезом. Осад вивчають бактеріоскопічно, фарбуючи за методами Грама, Ціля – Нільсена, Романовського – Гімзи, метиленовим синім (рис. 17.13).

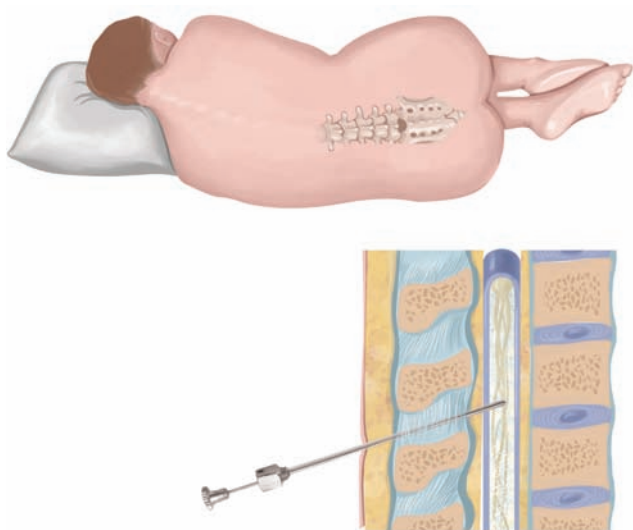


Рис. 17.12. Схема проведення спинномозкової пункції

Однак слід пам'ятати, що підтверджувати діагноз тільки за мікроскопією не рекомендується. Тому в подальшому 1–2 краплі осаду засівають на прогріті в термостаті чашки Петрі із сироватковим і шоколадним агаром. Матеріал, який залишився, засівають у 0,1 % поживний напіврідкий агар, який виступає як середовище збагачення. Чашки інкубують при 37 °С. Перевірку росту проводять через 18–24 год, а в подальшому – щоденно до появи росту. Надалі отримують чисту культуру збудника і роблять її ідентифікацію. При відсутності росту протягом 7 днів видається негативний результат.

Для експрес-діагностики використовуються імунологічні методи. Частіше латекс-аглютинація, яка базується на виявленні специфічних поверхневих ліпополісахаридних антигенів збудників безпосередньо в спинномозковій рідині. Насамперед це стосується *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *S. agalactiae*. Для діагностики використовують також ПЛР, ІФА, зустрічний імуноелектрофорез.

Враховуючи, що спинномозкова рідина в нормі стерильна, випадки виділення з неї умовно-патогенних та інших мікроорганізмів переконливо доводять їх етіологічну роль.

Інфекції шлунково-кишкового тракту. Етіологічна структура гострих кишкових інфекцій надзвичайно різноманітна. Їх викликають грамнегативні та грампозитивні, аеробні, факультативно-анаеробні та анаеробні мікроорганізми. Серед них слід відзначити *E. coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *P. stuarti*, *P. alcalifaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Plesiomonas shigelloides*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Clostridium perfringens*, *C. difficile*, *Bacillus cereus* та інші.

Викликані ними захворювання мають характер мікробної інтоксикації (стафілококова, клостридіальна), частіше специфічного процесу, наприклад, ешерихіоз, кампілобактеріоз (табл. 17.7, 17.8, додаток 1).

Грампозитивні бактерії в організмі продукують екзотоксин (*S. aureus*, *C. perfringens*), грамнегативні при їх загибелі виділяють ендотоксин. Останній

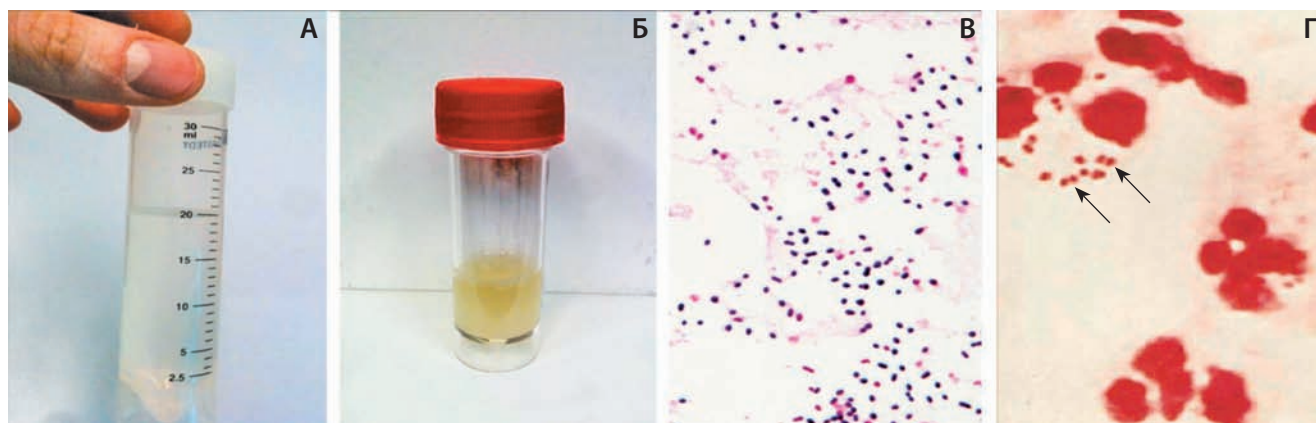


Рис. 17.13. Спинномозкова рідина:

А – нормальна; Б – у хворого з менінгітом; В – *S. pneumoniae*; Г – *N. meningitidis*

Таблиця 17.7.

Найчастіші клінічні синдроми шлунково-кишкового тракту та найважливіші їх етіологічні чинники
(Е. Копетан, 2006)

Синдром	Бактерії	Віруси	Найпростіші	Коментар
Запальна діарея, включаючи дизентерію	<i>Shigella spp.</i> , ентероінвазивні <i>E. coli</i> , ентерогеморагічні <i>E. coli</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> , <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Clostridium difficile</i>	Немає	<i>Entamoeba histolytica</i>	Залучається товста кишка, у фекаліях часто лейкоцити
Незапальна діарея	Ентеротоксигенні <i>E. coli</i> , ентероагрегативні <i>E. coli</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Норовіруси, ротавіруси, кишкові аденовіруси, астровіруси тощо	<i>Giardia lamblia</i> , <i>Cryptosporidium parvum</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Cyclospora cayetensis</i> , мікроспоридія	Залучається проксимальна частина тонкої кишки, у фекаліях лейкоцити, як правило, відсутні
Діарея при системних захворюваннях, включаючи черевний тиф	<i>Salmonella typhi</i> , інші <i>Salmonella spp.</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Campylobacter spp.</i>	Немає	Немає	Залучається дистальна частина тонкої кишки, у фекаліях можуть бути лейкоцити та мононуклеари

Таблиця 17.8.

Асоціація шлунково-кишкових інфекцій з певними мікробами

Фактор	Етіологічний чинник
Туризм і вживання води з невідомих джерел	<i>Giardia lamblia</i>
Молочні продукти	<i>Salmonella spp.</i> , <i>Campylobacter spp.</i> , <i>Yersinia spp.</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>
Морські узбережжя	Галофільні вібріони, наприклад, <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio vulnificus</i>
Яйця, картопляні салати, кондитерські вироби	<i>S. aureus</i>
Яйця	<i>Salmonella spp.</i>
Свіжі фрукти	<i>Cryptosporidium spp.</i> , <i>Cyclospora spp.</i>
Смажений рис	<i>Bacillus cereus</i>
Гамбургери	<i>E. coli</i> O157: H7
Особи з імунодефіцитом	<i>Cryptosporidium spp.</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Mycobacterium avium complex</i> , <i>Strongyloides stercoratis</i> (суперінфекція), <i>Cytomegalovirus</i> , <i>Candida spp.</i>
Молюски	<i>Vibrio spp.</i> , норовіруси, <i>hepatitis A virus</i>

зумовлює не тільки локальний цитотоксичний ефект щодо ентероцитів, периферичних судин, нервового апарату кишечника й інших органів, але й спричиняє загальні патологічні ефекти, зокрема лейкопенію, яка пізніше змінюється лейкоцитозом, гарячку, активацію системи комплементу, дисеміновану внутрішньосудинну коагуляцію. Виразений симптомокомплекс

цих та деяких інших явищ зумовлює формування ендотоксичного шоку. Перебіг хвороби може набувати хронічного характеру, розвиваються некротичний ентероколіт, септичні стани.

Збудниками харчових інтоксикацій є ентеротоксигенні стафілококи, палички ботулізму та інші види клостридій. Харчові токсикоінфекції здатні викликати

численні види ентеробактерій, псевдомонад, вібріонів, бацил, кампілобактерії та ін. Часто виникають внутрішньолікарняні випадки сальмонельозів. Окрім того, їх можуть викликати ротавіруси та криптоспоридії.

Забір матеріалу від пацієнтів з діареєю – нескладна процедура. Зразки для знаходження всіх патогенних агентів слід забирати в чисті (не обов'язково стерильні), краще спеціальні контейнери, які щільно закриваються кришкою. Вони повинні бути вільними від слідів дезінфікуючих розчинів та слідів іонів металів. Контамінацію їх сечею також бажано не допускати. Якщо передбачається наявність кишкових найпростіших, таких як *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* або *Cryptosporidium spp.*, невеликі частини фекалій повинні бути поміщені в консервант, наприклад, полівініловий спирт і 10 % формалін. Зразки фекалій для знаходження вірусів не повинні додаватися до транспортного середовища, тому що віріони можуть бути зруйновані.

Деколи для забору матеріалу можуть бути використані ректальні тампони, особливо у немовлят і сильно ослаблених і виснажених дорослих. Ректальні тампони можуть бути ефективніші, ніж фекалії для знаходження деяких штамів шигел, позаяк ці мікроорганізми чутливі до охолодження і висушування. Ректальні мазки також ефективніші при дослідженні наявності *Clostridium difficile* у госпіталізованих хворих. Матеріал ректальним тампоном забирають зразу за анальним сфінктером, не допускаючи прямого контакту з каловими масами в прямій кишці. Матеріал із тампонів повинен бути відразу засіяний на поживне середовище або поміщений у транспортне середовище для запобігання висушування. Ректальні тампони також використовують для діагностики ректальної гонококової інфекції.

Для виявлення збудників захворювань в різних ділянках кишкового тракту використовують переважно бактеріологічний метод дослідження. При ураженні шлунка найоптимальнішим вважають забір біоптатів під час фіброгастроскопії. Взяті проби вміщують у стерильний ізотонічний розчин і направляють до лабораторії. Але найчастіше в якості досліджуваного матеріалу для діагностики кишкових інфекцій

забирають фекалії, блювотні маси і промивні води шлунка.

Бактеріологічне дослідження потрібно розпочинати не пізніше 0,5–1 год після взяття матеріалу. Якщо це неможливо, проби слід заморозити і дослідити не пізніше 24 год. Іноді для транспортування доцільно використовувати консервуючі рідини (30 % гліцерин, селенітовий бульйон тощо). Промивні води необхідно досліджувати негайно. При великій кількості їх краще процентрифугувати і дослідити осад. Жовч беруть за допомогою зондування окремими порціями (А, В, С) у три стерильні пробірки. Взяті проби направляють до лабораторії не пізніше 1–2 год. Матеріал із тонкої кишки відбирають за допомогою фібродуоденоскопа або спеціальним зондом, що відкривається і закривається в заданому місці. Мікроорганізми товстої кишки вивчають при дослідженні фекалій. Мазок із прямої кишки беруть тампоном або трубкою Цімана. При ураженні нижніх відділів товстого кишечника можна взяти матеріал безпосередньо з місця ураження за допомогою ректороманоскопа, але цей метод останнім часом використовують рідко. Частіше для цього застосовують фіброколоноскопію.

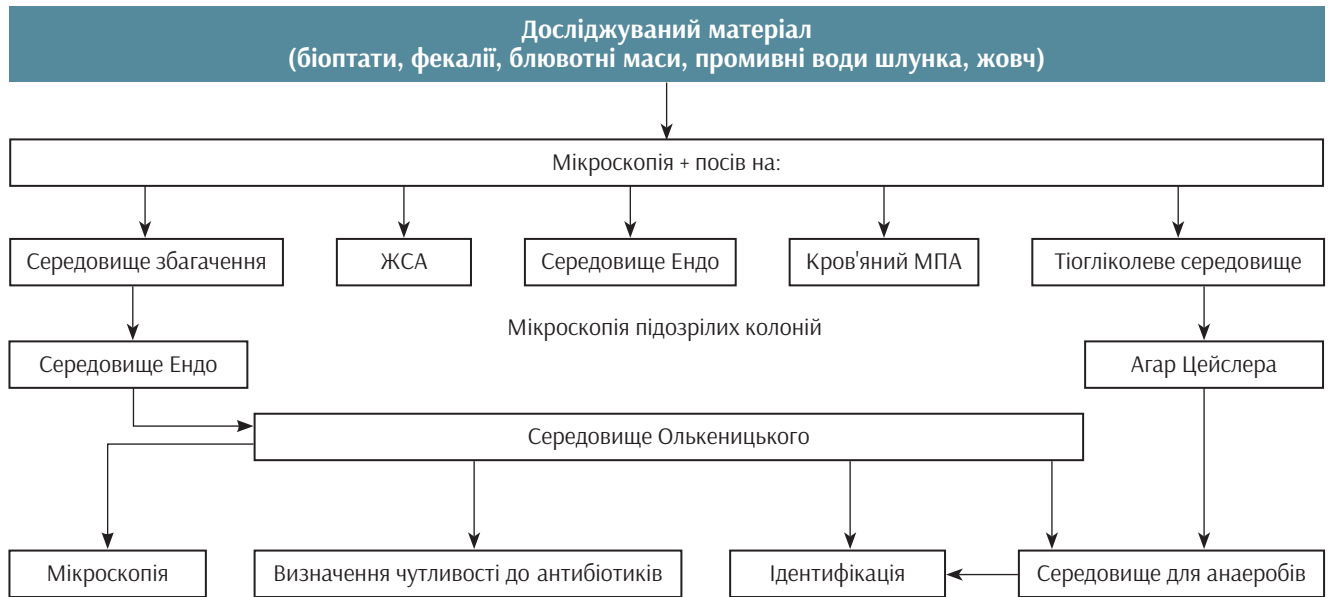
Посіви досліджуваного матеріалу проводять на щільні та рідкі елективні середовища, виділяють чисті культури, визначають їх чутливість до антибіотиків (табл. 17.9).

При оцінці результатів бактеріологічного дослідження необхідно звертати увагу не тільки на видовий склад мікробіоценозу кишечника у даного хворого, а й на кількісне співвідношення окремих його співчленів.

Якщо з випорожнень виділяють патогенні ентеробактерії, гемолітичні ешерихії та гемолітичні стафілококи, які у здорових людей відсутні, це має важливе діагностичне значення. Для визнання етіологічної ролі представників нормального мікробіоценозу важливо порівнювати їх титр з концентрацією відповідних мікроорганізмів у здорових дітей і дорослих. При ураженнях, викликаних іншими видами, необхідно проводити дослідження у відповідності з методикою виділення кожного збудника.

Таблиця 17.9.

Схема бактеріологічного дослідження при кишкових інфекціях



Навчальне видання

Климнюк Сергій Іванович
Ситник Іван Олександрович
Широбоков Володимир Павлович та ін.

Практична мікробіологія

Навчальний посібник

За загальною редакцією В. П. Широбокова та С. І. Климнюка

Редактор *О. В. Марчук*
Технічний редактор *К. О. Маркиш*
Коректор *Л. Я. Шутова*
Художник-ілюстратор *В. О. Кокряцька*
Комп'ютерна верстка: *О. С. Парфенюк*

Підписано до друку 19.11.18. Формат 84×108/16. Папір офсетний.
Гарнітура Arsenal. Друк офсетний. Ум. друк. арк. 60,48. Зам. № 1010.

ПП “Нова Книга”
21029, м. Вінниця, вул. М. Ващука, 20
Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготівників
і розповсюджувачів видавничої продукції
ДК № 2646 від 11.10.2006 р.
Тел. (0432) 56-01-87. Факс 56-01-88
E-mail: info@novaknyha.com.ua
www.novaknyha.com.ua