

Занятие 20.

**Введение в клиническую микробиологию.
Микробиологическая диагностика инфекций
дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта и
дисбиоза**

prof. Akif Qurbanov

Обсуждаемые вопросы:

- 1. Понятие клинической микробиологии.
- 2. Верхние и нижние дыхательные пути, краткие анатомо-физиологические сведения.
- 3. Нормальная микрофлора верхних дыхательных путей, воспалительные заболевания верхних дыхательных путей и причины их возникновения, правила сбора патологического материала, принципы микробиологической диагностики
- 4. Воспалительные заболевания нижних дыхательных путей и легких, пневмонии, их виды, причины. Атипичные пневмонии.
- 6. Желудочно-кишечный тракт, краткие анатомо-физиологические сведения.
- 7. Понятия о нормальной микрофлоре желудочно-кишечного тракта, дисбиозе и дисбактериозе
- 8. Воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта и причины их возникновения, правила сбора патологического материала, принципы микробиологической диагностики
- 9. Микробиологическое исследование кала и его диагностические показатели
- 10. Микроскопическое исследование кала и его диагностическое значение
- 11. Критерии и микробиологическая диагностика дисбиоза и дисбактериоза
- 12. Значение анаэробной культивации.

Цель занятия:

- ознакомить студентов с целями и задачами клинической микробиологии. Рассказать о нормальной микрофлоре верхних и нижних дыхательных путей и возбудителях воспалительных заболеваний, принципах диагностики этих заболеваний. Дать информацию о нормальной микрофлоре желудочно-кишечного тракта, понятиях о дисбиозе и дисбактериозе, воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного тракта, ознакомить их с возбудителями заболеваний желудочно-кишечного тракта и принципами диагностики данных заболеваний

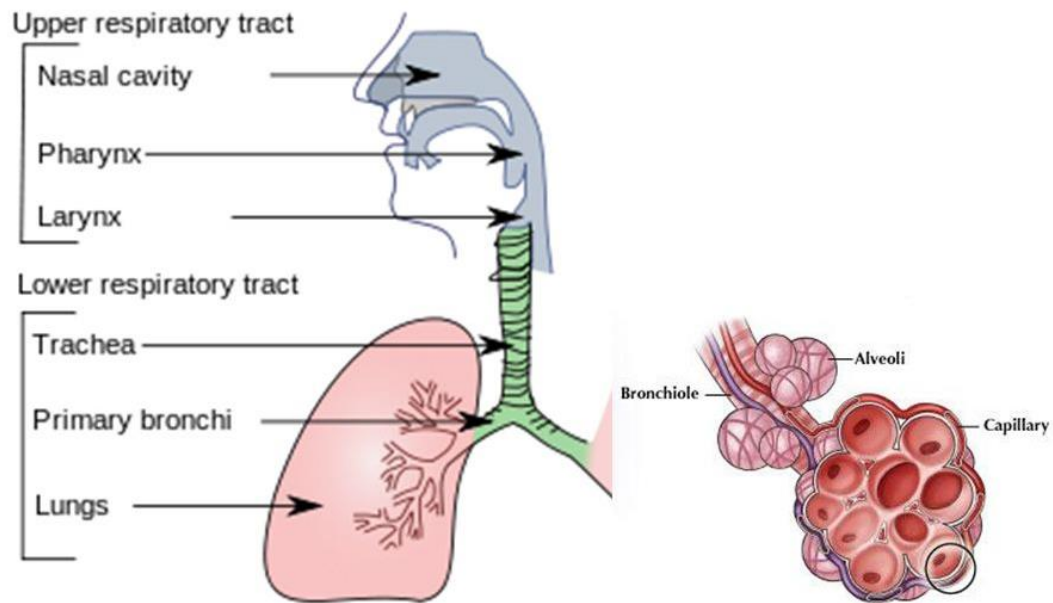
Клиническая микробиология

- Клиническая микробиология изучает микробиологию заболеваний органов и систем организма человека, принципы их микробиологической диагностики.

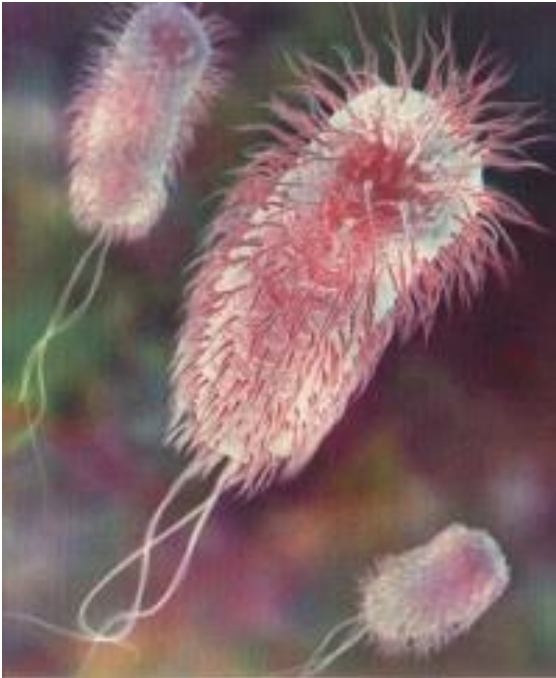
Цели клинической микробиологии

- I. Изучение условно-патогенных возбудителей, их роли в патологии человека
- II. Изучение госпитальных инфекций и факторов, способствующих их развитию
- III. Создание и усовершенствование микробиологических методов диагностики, профилактики и терапии оппортунистических инфекций
- IV. Обеспечение микробиологического контроля противозидемического режима.
- V. Исследование специфических микробиологических проблем в неинфекционных стационарах.

Основы микробиологической диагностики инфекций дыхательных путей



Условно-патогенные микроорганизмы



-это большая группа разных по систематическому положению микроорганизмов, обитающих в норме в различных областях тела человека и способных вызывать заболевания в условиях **иммунокомпрометированного** организма.

-Среди них встречаются бактерии, грибы, простейшие и вирусы

Этапы клинико-микробиологической диагностики

- ☒ формулировка задачи и выбор метода исследования
- ☒ выбор, взятие исследуемого материала, его хранение и транспортировка
- ☒ проведение исследований
- ☒ анализ полученных результатов.

Методы лабораторной диагностики инфекционных болезней



1. Методы, основанные на выявлении инфекционных агентов (бактерий, грибов, вирусов, простейших и т.д.)

- а) микроскопические методы* (в том числе, бактериоскопический), базирующиеся на прямом наблюдении возбудителя в патологическом материале с помощью различных приемов микроскопии;
- б) культуральные методы* (в том числе, бактериологический), главной составляющей которых является культивирование возбудителя на питательных средах, в организме лабораторных животных или на культурах тканей с целью выделения его в чистой культуре и последующей идентификации;

с) методы, позволяющие обнаружить в исследуемом материале продукты, синтезированные микроорганизмами (например, летучие жирные кислоты при диагностике инфекций, обусловленных неспорообразующими анаэробами или токсин, при диагностике ботулизма);

d) иммунологические методы поиска антигенов возбудителей в исследуемом материале;

е) генетические методы, основанные на обнаружении нуклеиновых кислот возбудителя в пробе

Методы лабораторной диагностики заболеваний инфекционной природы



2. **Методы выявления активного иммунного ответа**, чаще всего нарастания титра антител к возбудителю (серодиагностика) или сенсibilизации (аллергодиагностика).
3. **Неспецифические лабораторные тесты**, по характеру отклонения которых можно заподозрить патологические изменения, характерные для инфекционных процессов определенной этиологии (например, изменение активности трансаминаз при вирусных гепатитах)

Выбор метода исследования необходимо проводить с учетом всего комплекса диагностических и лечебных процедур, проводимых данному больному



- *Например, на фоне антибиотикотерапии использование бактериологического метода будет заведомо мало эффективным.*
- *Методы, не позволяющие дифференцировать живые и убитые микроорганизмы (ПЦР, РИФ и др.) следует с осторожностью использовать при контроле излеченности.*

Выбор вида исследуемого материала зависит от вида заболевания и преимущественной локализации возбудителя на данном этапе его развития

- *Классическим примером, подтверждающим значение обоснованного выбора материала в зависимости от этапа патогенеза болезни, является **брюшной тиф**.*

При этой инфекции на разных этапах её развития для бактериологического исследования используют вначале кровь, а затем испражнения.

- *Важно осуществить взятие материала в оптимальные сроки.*

Процедуры взятия материала для бактериологического исследования зачастую достаточно технически сложны, а правильность их выполнения имеет решающее значение.



- *Нарушение правил взятия крови ведёт к её **контаминации** микроорганизмами с кожи или из окружающей среды и может стать причиной ошибочного этиологического диагноза.*

Тяжесть процедуры должна оправдывать ценность получаемой информации.

- *Так, наиболее эффективным способом получения мочи для бактериологического исследования, максимально гарантирующим от контаминации посторонней микрофлорой, является **надлобковая пункция мочевого пузыря**.*

*Тем не менее, на практике, **из-за травматичности** для пациента ее **используют редко**, ограничиваясь исследованием средней порции свободно выпущенной мочи.*

Наибольшую сложность представляет трактовка результатов бактериологического исследования в случае обнаружения **условно-патогенных микроорганизмов**, многие из которых являются представителями нормальной микрофлоры .



В этом случае правомочно говорить о доказательстве этиологической роли выделенного микроорганизма, как об особом этапе диагностического исследования.

Критерии диагностической значимости УПМ

- количество микроорганизмов данного вида в материале;
- отсутствие в материале патогенных микроорганизмов;
- выделение данного вида микроорганизмов в монокультуре или в ассоциации с другими;

- повторное выделение одного вида микроорганизмов на протяжении всего заболевания и его исчезновение по мере выздоровления;
- выявленное с помощью серологических исследований нарастание титра антител к данному виду микроорганизмов;
- одновременное обнаружение одного и того же вида микроорганизмов у ряда пациентов со сходной клиникой и сходным источником заражения

Объектом терапии должен быть только истинный возбудитель инфекции!

Если выделяется 2 и более возбудителя – инфекция считается смешанной только при выделении из первично стерильных образцов.

В остальных случаях ведущим считается микроорганизм, преобладающий количественно, а при равном количестве – более патогенный

Если обнаружение микроорганизма в исследуемом материале однозначно говорит о его присутствии в организме больного в момент исследования (конечно, если исключить случайную контаминацию пробы персоналом), то **отрицательный результат не всегда свидетельствует об их отсутствии.**

Анализ результатов исследований включает оценку:

- **достоверности результатов**
- **полноты полученной информации**
- **этиологической значимости
обнаруженных микроорганизмов**

Возбудитель	Заболевание	возбудитель	заболевание	возбудитель	заболевание
S.pyogenes	скарлатина				
M.tuberculosis M.bovis M.africanum	туберкулез			L.pneumophila	Болезнь легионеров
C.diphtheriae	Дифтерия	S.pneumoniae S.pyogenes H.Influenzae S.aureus K.pneumoniae	Неспецифические инфекции ДП	M.pneumoniae	пневмония
B.parapertussis B.pertussis	паракоклюш коклюш			C.pneumoniae	Хронический бронхит, пневмония
				C.psittaci	орнитоз

Верхние дыхательные пути

- Микрофлору верхних дыхательных путей изучают при заболеваниях носа и зева, а также у больных пневмонией, не отделяющих мокроту, и при обследовании на бактерионосительство.
- *Бактериологический метод* — выделение чистой культуры, идентификация, определение чувствительности к антибиотикам.
- При оценке результатов учитывают видовой и количественный состав нормальной микрофлоры, обнаружение микробов не относящихся к нормальной микрофлоре верхних дыхательных путей, или необычно большое количество микробов какого-либо вида

Микробиология инфекций верхних дыхательных путей

- Риниты и синуситы (гайморит, этмоидит и др.) — аденовирусы, риновирусы, коронавирусы и др.
- **Фарингит, или ангина** (воспаление глоточных дужек, мягкого неба и ротовой части глотки) **И ТОНЗИЛЛИТ** (воспаление миндалин)
 - Катаральный фарингит — орто- и парамиксовирусы, аденовирусы, коронавирусы, вирус простого герпеса и вирус Коксаки
 - Гнойный фарингит - примерно в 90% случаев возбудитель *S.pyogenes*, в остальных случаях другие бактерии, в особенности *S.aureus*, *S.pneumoniae*, *C.diphtheriae*, *B.pertussis*, *H.influenzae* и др.
 - **Назофарингит** - *N. meningitidis*, другие бактерии из рода *Neisseria* Ларингит - вирус парагриппа, *C. diphtheriae* и др.

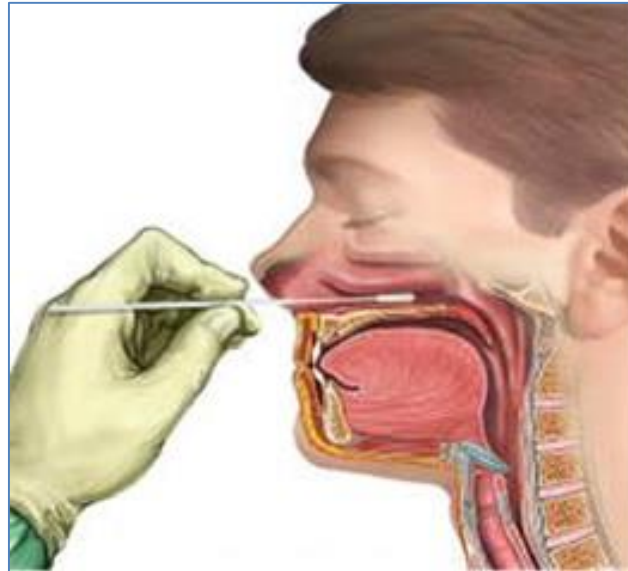
Принципы микробиологической диагностики инфекций верхних дыхательных путей.

- Материал для микробиологической диагностики заболеваний верхних дыхательных путей берется стерильным тампоном.



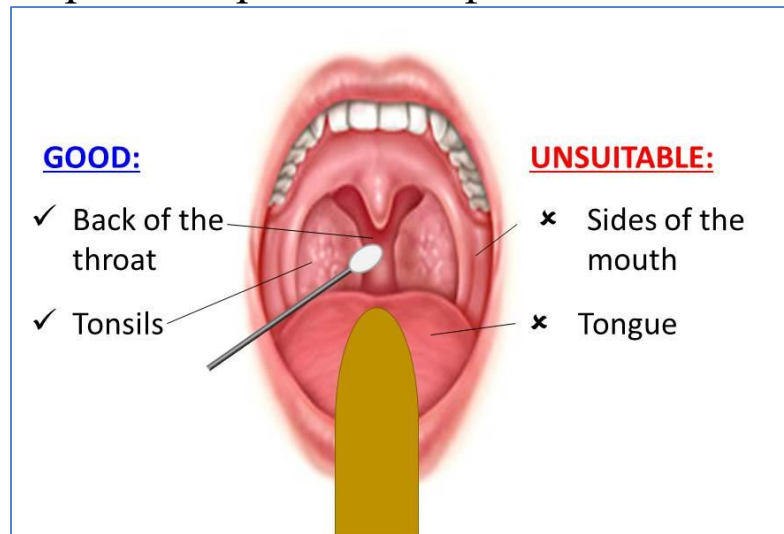
Взятие материала из носовой полости

- Материал из полости носа получают введением ватного тампона в полость носа сначала в вертикальном, а затем в горизонтальном направлении.



Взятие материала из носоглотки и зева

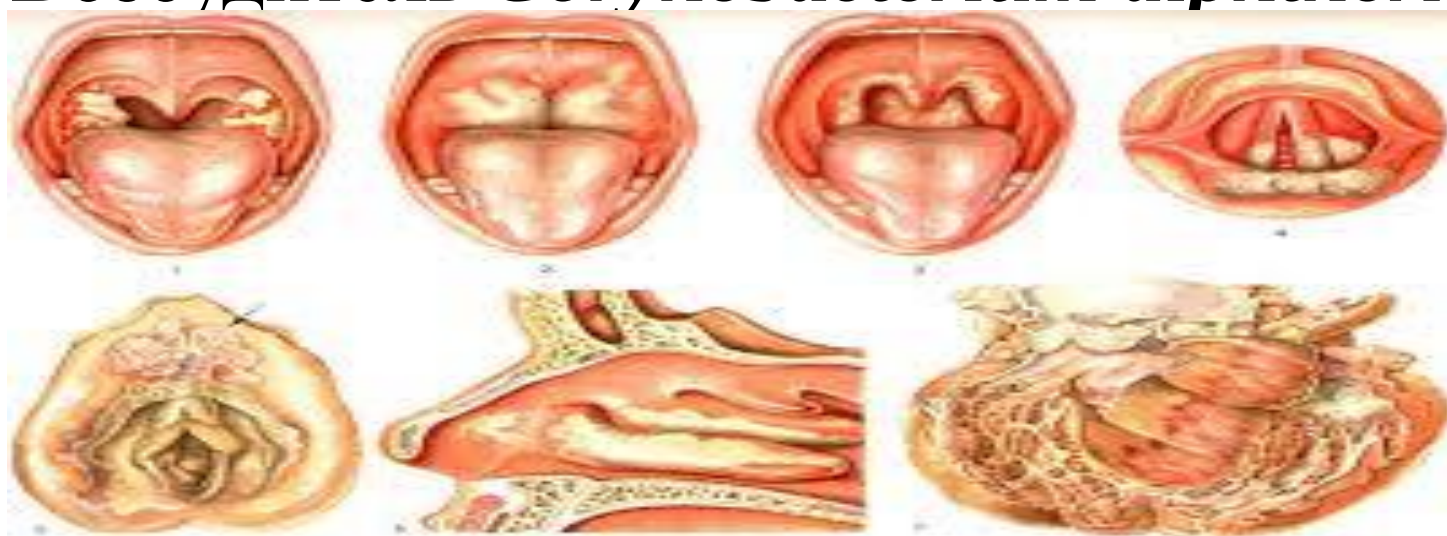
- Материал берут из носоглотки стерильным тампоном, а из гортани ватным тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. В это время язык должен быть зафиксирован шпателем, а тампон не должен касаться других участков слизистой оболочки полости рта.
- В некоторых случаях исследуется промывная вода носоглотки. Для этого больному предлагают полоскать горло стерильным физиологическим



Принципы микробиологической диагностики инфекций верхних дыхательных путей.

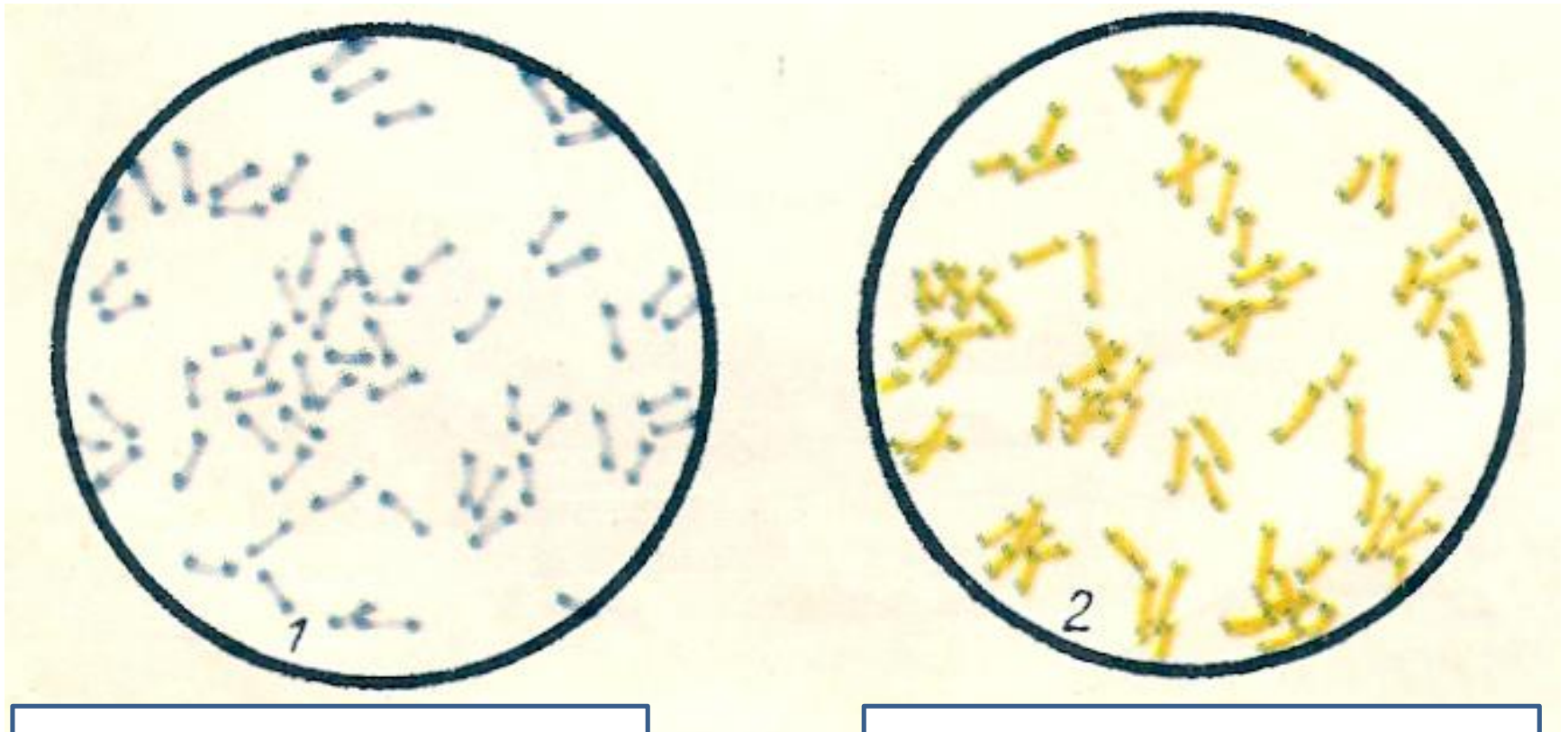
- Мазки, используемые для получения патологического материала, доставляются в лабораторию в короткие сроки в стерильных пробирках.
- Материалы инокулируются в кровяной, шоколадный агары, инкубируются сутки при температуре 37 С, получается чистая культура, проводится идентификация и изучается ее чувствительность к антибиотикам.
- Мазки, приготовленные из оставшегося в тампоне материала, окрашивают по Граму и Нейссеру, а затем подвергают микроскопии.
- Вирусологические исследования проводят путем посева материалов на культуры клеток и куриные эмбрионы.

- Дифтерия — токсинемическая инфекция, характеризующаяся фибринозным воспалением зева, носа, интоксикацией, поражением СС, НС, почек и надпочечников.
- Возбудитель *Corynebacterium diphtheriae*



Corynebacterium diptheriae

чистая культура



**Окраска метиленовым
синим по Лёффлеру**

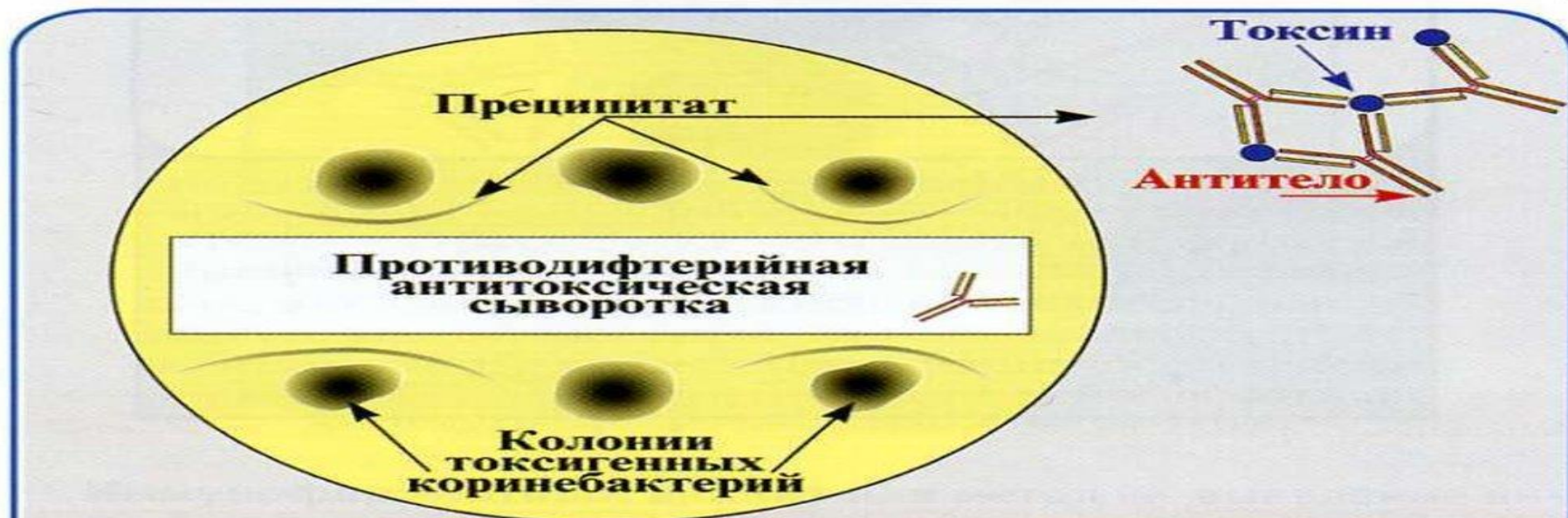
Окраска по методу Нейссера

Микробиологическая диагностика



Тест на токсигенность выделенных бактерий

Модифицированный метод Илека



**Определение токсигенности дифтерийной палочки (преципитация в агаре).
В центре - колонии нетоксигенного штамма.**

Рис. 7.55. Реакция преципитация в агаре для определения дифтерийного экзотоксина

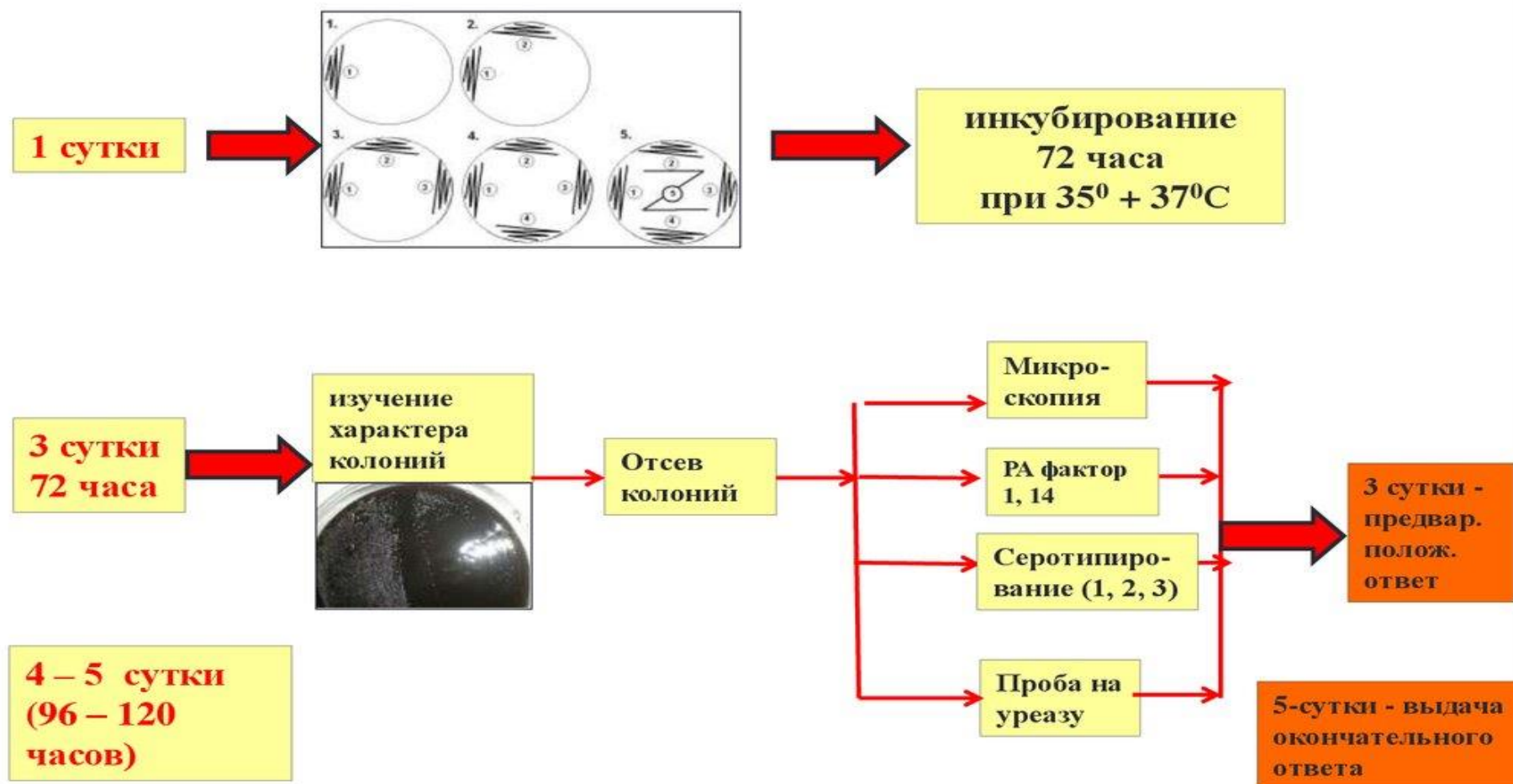


Рис. 36. Коклюш. а - спазматический кашель. б - кровоизлияние в склеру

Коклюш характеризуется поражением верхних дыхательных путей и приступами спазматического кашля.

Возбудители *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*

Схема бактериологической диагностики коклюша



Микробиология инфекций нижних дыхательных путей

- **Трахеиты и бронхиты** - H.influenzae серотипа b, Neisseria, Moraxella, стрептококки и вирусы (орто- и парамиксовирусы, аденовирусы, коронавирусы и др.). Кроме возбудителей острого процесса, при котором воспалительный процесс переходит в хронический, S. pneumoniae, S. aureus, P. aeruginosa, Klebsiella и другие бактерии из семейства Enterobacteriaceae, грибы рода Candida.
- **Пневмонии**
- **Первичные пневмонии** возникают в результате проникновения возбудителя в легочную ткань.
- При **вторичной пневмонии** патологический процесс развивается после какого-либо преморбидного состояния, называемого преморбидным фоном (например, нарушения кровообращения, иммунодефицитные состояния, аспирация рвотных масс и др.).
- В ряде случаев пневмония не является самостоятельным заболеванием, а появляется как симптом какого-либо заболевания. Например, туберкулез легких, системные микозы, орнитоз, Ку-лихорадка, легионеллез и др. Сопровождается пневмонией.

Нижние дыхательные пути

- Бронхиты, трахеиты – *H.influenzae*, *Neisseria*, *M.cattarhalis*, стрептококки
- Пневмонии – *S.pneumoniae*, *H. influenzae*, *M.cattarhalis* (4-15,5%), *E.coli* (15%), *Morganella*, *Proteus* , *Enterobacter* (5%-10%)/
- *Legionella* (1,8-4,5%), *Chlamydia psittaci* – 2%
- *Mycoplasma pneumoniae*
- РС-вирус, аденовирусы, вирусы парагриппа и гриппа, герпесвирусы, риновирусы, ЕСНО-вирусы, коронавирусы

Методы диагностики нижних дыхательных путей

- *Микроскопический* – экспресс диагностика (РИФ, ИФА), окраска по методу Циля-Нильсена и Грама
- *Серологический* целесообразен при вирусных инфекциях. Проводят определение антител в парных сыворотках методом ИФА

Микробиологическое исследование мокроты

- Микроскопический метод. Гнойные частицы мокроты исследуют после промывания изотоническим раствором для освобождения их от микрофлоры верхних дыхательных путей.
- Мазки, приготовленные из мокроты, окрашивают по Граму и, при необходимости, по Цилю-Нельсену (для выявления микобактерий).
- Микроскопия мазков позволяет примерно судить о характере и количестве микрофлоры в мокроте, а также определить направление бактериологического исследования.

Микробиологическое исследование мокроты

- Определить этиологическую роль микроорганизмов относительно сложно, так как мокрота контаминируется микробами при прохождении через верхние дыхательные пути и полость рта.
- Шкала Бартлетта используется для определения пригодности мокроты для микробиологического исследования. Для этого рассчитывается : 1) количество нейтрофилов в одном поле зрения; 2) наличие мышечных волокон; 3) количество эпителиальных клеток в одном поле зрения. Высокое количество нейтрофилов и мышечных волокон является показателем воспалительного процесса и, таким образом, пригодности мокроты для микробиологического исследования. Большое количество эпителиальных клеток свидетельствует не о воспалении, а о контаминации слюной.
- Оценка 1, 2 или 3 указывает на активное воспаление, а оценка 0 или ниже указывает на слабое воспаление или загрязнение слюной.
- Нейтрофилы <10 в одном поле зрения =0 баллов; 10-25 =+1 балл; >25 = +2 балла;

Бактериологический – главная его особенность определение количества микробов

- Посев материала проводят на среды Эндо (для выделения клебсиелл), КА (стрептококков), ЖСА (стафилококков), среды для анаэробов, Сабуро, ША, для микобактерий, микоплазм.
- Исследуемый материал необходимо подвергнуть разведению
- Следует иметь в виду что, инфекция может иметь ассоциативный характер

Staphylococcus aureus

В случае обнаружения на ЖСА колоний золотистого цвета, окруженных радужным венчиком, или зоной гемолиза на КА проводят исследование по выделению чистой культуры

Энтеробактерии

При обнаружении на среде Эндо лактозоположительных колоний, готовят мазки и окрашивают по Граму и Бурри-Гинсу. Далее производят посев на среду Клиглера и проводят идентификацию

Streptococcus pyogenes

Мелкие колонии на КА вокруг которых наблюдается полный гемолиз

Streptococcus pneumoniae

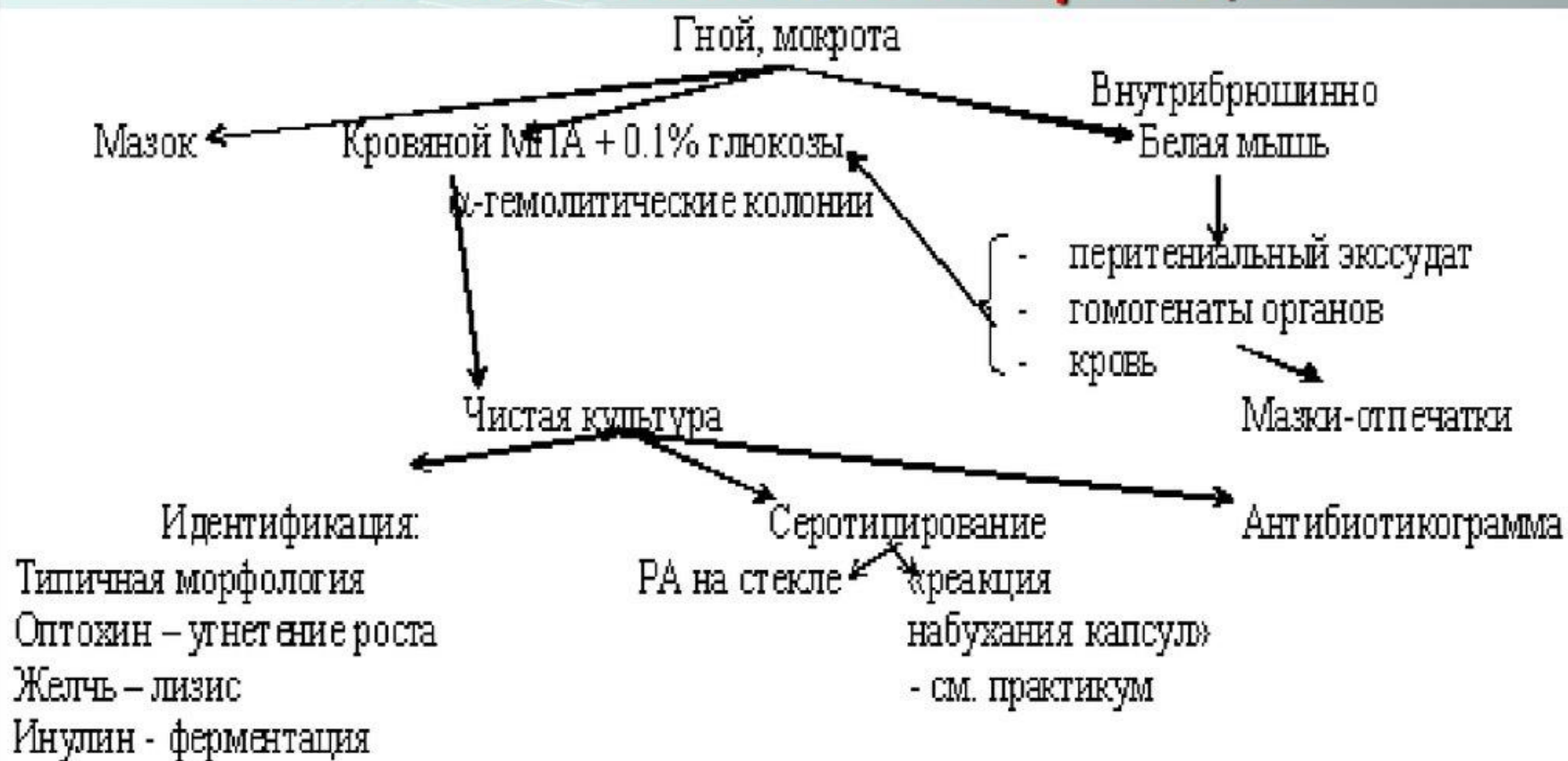
Колонии на КА, окруженные зоной зеленыщего гемолиза рассматривают как пневмококки. Дополнительно проводят тест на чувствительность к желчи, оптохину.

Выделенные культуры стрептококков также типируют с помощью РА

Haemophilus influenzae

**В случае роста внутри зон гемолиза на КА (феномен сателлизма).
Устанавливают потребность в X и V при росте,**

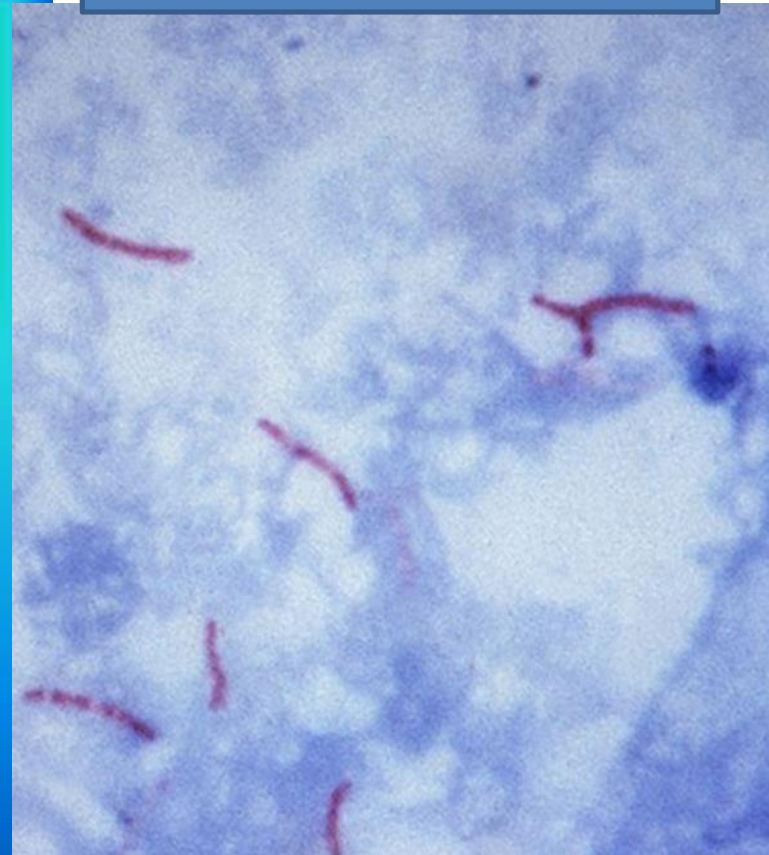
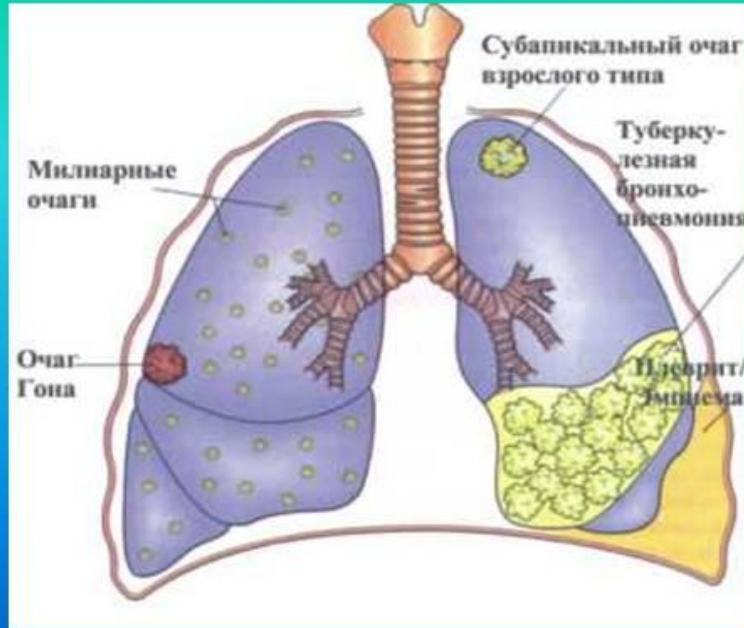
Микробиологическая диагностика пневмококковой инфекции



Туберкулез первично хроническое заболевание человека и животных, сопровождающееся поражением органов дыхания, лимфоузлов, кишечника, костей и суставов, глаз ЦНС, половых органов и пр.

M.tuberculosis
Окраска по методу Циля-Нильсена

Туберкулез легких



Алгоритм диагностики туберкулеза в лабораториях с комплексом бактериологических и ПЦР исследований

Диагностика туберкулеза

Бактериоскопия

- Световая
- Люминесцентная
- LED - микроскопия

Выявление

Культуральные методы

- На плотных средах
- Bactec MGIT 960

Определение ЛУ к ПТП I и II ряда

- ID – тест
- Посев на кровяной агар

Дифференциация МТК от НТМ

- Sensititre TREK Diag

Определение ЛУ НТМ

Мол-ген методы

- ПЦР
- ДНК-стрипы
- Биочипы
- GeneXpert
- Секвенирование

Видовая идентификация микобактерий

MyShared

ЛЕГИОНЕЛЛЕЗ

- РИФ для обнаружения антигена в исследуемом материале
- ИФА позволяет определить антиген в исследуемом материале
- Реакция коагглютинации
- РНИФ – определение титра антител в сыворотке крови

Респираторные микоплазмы

**Мазки из носоглотки, мокрота, лаважная жидкость,
сыворотка крови**

**Возможен
культуральный метод**

**Парные
сыворотки в
РНГА и ИФА**

РИФ

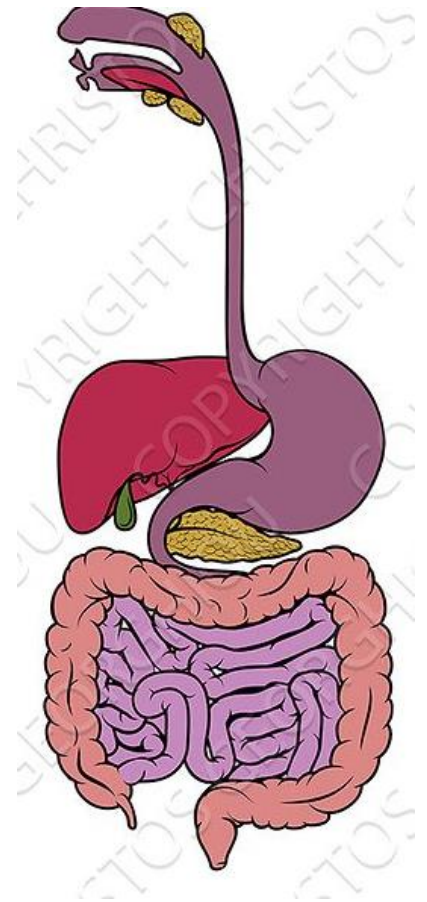
**ПЦР, ДНК-
гибридизац
ия**

семейство	род	вирус
Paramyxoviridae	Respirovirus	ВПГЧ серотипы: 1,3
	Pneumovirus	РС-вирус
	Rubulavirus	Вирус паротита, ВПГЧ серотипы : 2, 4a, 4b
	Morbillivirus	Вирус кори
Coronaviridae	Coronavirus	коронавирусы
Picornaviridae	Rhinovirus	риновирусы
Reoviridae	Orthoreovirus	Респираторные реовирусы
Adenoviridae	Mastadenovirus	аденовирусы.: серотипы 3,4,7

Диагностика ОРВИ

- Экспресс диагностика - обнаружение антигенов при помощи РИФ, ИФА
- Вирусологический – выделение на культуре клеток, курином эмбрионе
 - Индикацию вирусов* проводят по характеру ЦПД, образованию включений, цветной пробе гибели эмбрионов, реакциям гемагглютинации и гемадсорбции.
 - идентификацию вирусов* проводят при помощи серологических реакций (РСК, РПГА, РН, ИФА, РТГА)
- Серологический - выявление антител в парных сыворотках методом ИФА, РН, РТГА

Микробиологическая диагностика инфекций и дисбиозов желудочно- кишечного тракта



Микробиология заболеваний полости рта

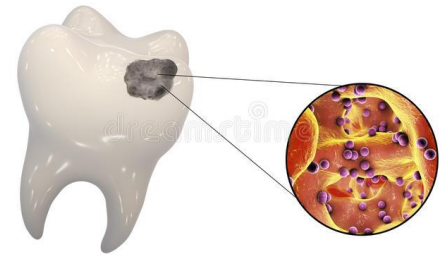
- Среди заболеваний полости рта выделяют заболевания ее мягких тканей и зубов.
- **Стоматит** – это воспаление слизистой оболочки полости рта. Различают катаральный и язвенно-гангренозный стоматит. Катаральный стоматит представляет собой поверхностное воспаление слизистой оболочки, в его этиологии преобладают стафилококки, нейссерии, гемофильные бактерии, условно-патогенные коринебактерии. В этиологии язвенно-гангренозного стоматита преобладают преимущественно анаэробы - фузобактерии, бактероиды, пептострептококки, велонеллы, актиномицеты и спирохеты Винсента.

Микробиология заболеваний полости рта

- *Гингивит* – это воспаление слизистой оболочки и ткани десен, преимущественно вызываемое микроорганизмами, входящими в состав зубного налета, в том числе спирохетами, бактериями рода *Prevotella*. Гингивостоматит Венсана, характеризующийся резкой гиперемией десны и образованием очагов некроза, вызывается фузобактериями (*F. nucleatum*), спирохетами (*T. vinsantii*), а также бактериями рода *Prevotella*. Определенную роль в этиологии гингивита могут играть стафилококки, стрептококки, пептококки, велонеллы, актиномицеты, бактероиды.

Микробиология заболеваний полости рта

- *Кариес* – на первой стадии начинается с образования пятен (бляшек) на поверхности эмали зуба (эмалевом слое). В основном они состоят из желатиноподобного осадка высокомолекулярных углеводов - глюканов, к которым прилипают кислотообразующие бактерии. Глюканы в основном секретируются стрептококками (*S. mutans*) (возможно, в ассоциации с актиномицетами).
- На второй стадии стрептококки и лактобактерии производят большое количество кислоты ($\text{pH} < 5,0$), расщепляя углеводы в этих местах. Такая высокая концентрация кислот вызывает деминерализацию эмали и образование кариеса.



Микробиология заболеваний полости рта

- **Пульпит** – это воспаление пульпы зуба, которое обычно возникает в результате проникновения микроорганизмов в пульпу после кариеса. В ассоциацию вовлечено больше лактобактерий, стрептококков, бактероидов, пептострептококков, бактероидов, велонелл, протеасом и клостридий.
- **Периодонтит.** Возникает в результате проникновения микроорганизмов из воспаленной пульпы в мягкие и твердые семена, покрывающие зуб – пародонт. Как правило, микроорганизмы в ассоциации синтезируют ферменты (гиалуронидазу, нейраминидазу, коллагеназу), которые расщепляют отдельные компоненты соединительной ткани и углубляют воспалительный процесс.

Микробиология заболеваний полости рта

- Проникновение микроорганизмов в ткани, покрывающие зубы, может привести к патологии пародонта — *пародонтиту* и *пародонтозу*. В патогенезе этих заболеваний, сопровождающихся гингивитом и альвеолярным гнойным воспалением важное значение имеют иммунопатологические процессы.
- Патологии пародонта сопровождаются наличием воспалительно-дистрофических процессов, протекающих в тканях, покрывающих зубы, распадом коллагена, рассасыванием альвеолярных отростков, костных отростков, потерей зубов. Анаэробы (*Porphyromonas*, *Prevotella*, *Fusobacterium* и *Actinobacillus*) играют важную роль в пародонтальных инфекциях.



Микробиология гастритов

- Воспаление слизистой оболочки желудка может быть вызвано различными экзогенными и эндогенными факторами.
- Во многих случаях гастрит проявляется воспалительными заболеваниями кишечника – такими, как гастроэнтерит и гастроэнтероколит. В этиологии острого гастрита определенное значение имеют сальмонеллы, являющиеся возбудителями пищевых отравлений.
- *H. pylori* вызывает интенсивное воспаление слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, нарушая целостность эпителиальной оболочки. Острая инфекция проявляется гастродуоденитом, сопровождающимся болями в эпигастрии и тошнотой. Позднее могут развиваться хронический гастрит, язва желудка и двенадцатиперстной кишки. Подтверждена роль *H. pylori* в развитии рака желудка и лимфомы желудка.

Микробиология острых кишечных инфекций

- Острые кишечные инфекции могут быть вызваны бактериями, вирусами и простейшими.
- Клиническими проявлениями заболевания являются энтерит, гастроэнтерит, колит, энтероколит и гастроэнтероколит.
- Диарея является одним из основных клинических симптомов острых кишечных инфекций.
- Бактерии, вызывающие острые кишечные инфекции - *E. coli*, *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Vibrio parahaemolyticus* и *Plesiomonas shigelloide*, *C. difficile*.
- К вирусам, вызывающим острые кишечные инфекции, относятся *Norwalk* из семейства *Caliciviridae*, а также вирусы Саппоро, Аденовирусы, Ротавирусы.
- Инвазивные простейшие, вызывающие острые кишечные инфекции. Паразиты из рода *Entamoeba histolytica*, *Balantidium coli*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium*, *Isospora* и *Sarcocystis*, *Blastocystis*
- Возбудителями пищевых отравлений являются *Clostridium botulinum*, *S. aureus*, *C. perfringens*, *B. cereus*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Choleraesuis*.

Дисбиоз и дисбактериоз

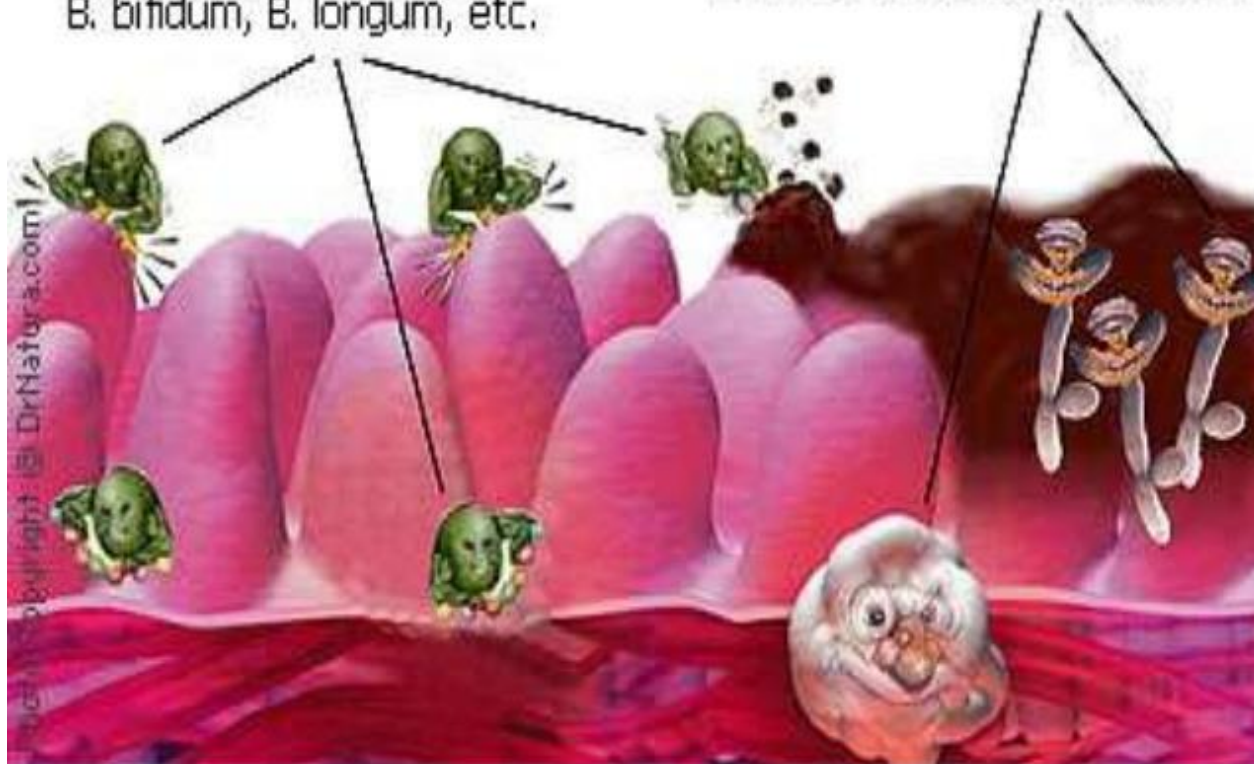
- Существует определенный баланс между представителями облигатной и факультативной микрофлоры, составляющими нормальную микрофлору организма. Прежде всего, этот баланс связан с антагонистическим действием представителей облигатной микрофлоры на факультативную микрофлору.
- Нарушение этого баланса между облигатными и факультативными микроорганизмами в результате воздействия различных факторов приводит к возникновению состояния, называемого дисбиозом и дисбактериозом.

Friendly Bacteria

L. acidophilus, *L. salivarius*,
L. casei, *L. thermophilus*,
B. bifidum, *B. longum*, etc.

Unfriendly Bacteria

Pathogenic bacteria & fungi,
such as *Candida albicans*, etc.



Дисбиоз и дисбактериоз

- Иногда дисбиозы классифицируют по локализации (полость рта, кишечник, детский тракт и др.).
- Под дисбактериозом в первую очередь понимают дисбактериоз кишечника. Развитие дисбактериоза связано со снижением количества облигатной микрофлоры, входящей в состав нормальной микрофлоры. Увеличивается количество условно-патогенных микроорганизмов — *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Hafnia olvei*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Candida* и т.д., возникают соответствующие заболевания, вызванные его распространением. Заболевания, вызванные этими микроорганизмами, обычно проявляются кишечными инфекциями.

Дисбиоз и дисбактериоз

- По своей этиологии различают кандидозный, стафилококковый и др. происхождения дисбиозы.
- Благодаря механизмам саморегуляции состав микрофлоры достаточно стабилен. Поэтому необходимо отличать настоящий дисбактериоз и дисбиоз от временных дисбактериальных и дисбиотических реакций. В последних случаях изменения нормальной микрофлоры носят кратковременный характер и не требуют коррекции. При истинном дисбиозе и дисбактериозе изменения состава и функции нормальной микрофлоры носят длительный характер. Сопровождаются различными нарушениями – диареей, запорами, колитами, злокачественными опухолями, аллергией, гиповитаминозами, гипо- и гиперхолестеринемией, гипо- и гипертензией, кариесом, артритом, различными патологиями печени и др.

Факторы, вызывающие дисбиоз и дисбактериоз:

- Большую роль играет широкое и бесконтрольное применение противомикробных препаратов.
- Кроме того, другие факторы – сопутствующие заболевания, особенно кишечные инфекции, глистные и паразитарные инвазии, гормональная и химиотерапия, стрессы и др. факторы тоже играют роль.
- Современная эпоха, когда условия окружающей среды становятся все более напряженными, сопровождается широким распространением дисбактериозов.

Механизмы развития дисбиоза и дисбактериоза

- Развитие дисбиоза связано со снижением количества облигатной микрофлоры, входящей в состав нормальной микрофлоры.
- В результате в составе факультативной микрофлоры условно-патогенные микроорганизмы - стафилококки, протей, синегнойная палочка грибы рода *Candida*.
- По своей этиологии различают грибковые, стафилококковые и др. происхождения дисбиозы.
- Иногда дисбиозы классифицируют по локализации (полость рта, кишечник, матка и др.).

Заболевания, связанные с дисбиозом и дисбактериозом

- Длительные изменения состава и функции нормальной микрофлоры вызывают симптомы, сопровождающие различные расстройства.
- Среди них диарея, запор, колит, злокачественные опухоли, аллергия, гиповитаминоз, гипо- и гиперхолестеринемия, гипо- и гипертензия, кариес, артрит, различные патологии печени и др..

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- В качестве материала для исследования используют фекалии, рвотные массы, промывание желудка и др.
- В ряде случаев исследуются пищевые продукты и сырье, вызывающие заболевания, особенно при пищевых отравлениях.
- Материал следует исследовать в первые часы после его получения; в противном случае материал помещают в консервант (фосфатно-глицериновую смесь и др.).
- Микробиологическое исследование фекалий проводят микроскопическим, бактериологическим, паразитологическим и вирусологическим методами.

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- *Микроскопическое* исследование проводят путем микроскопии нативных, иногда окрашенных раствором Люголя, измельченных капельных препаратов, приготовленных из фекалий.
- Микроскопическое исследование применяют для оценки пищеварения, состояния нормальной микрофлоры, признаков воспаления, а также для диагностики простейших и гельминтозов.
- Мазки, приготовленные из взвеси фекалий в физиологическом растворе, можно подвергать микроскопии после окраски по Граму и по Цилю-Нильсену.
- Мазки, окрашенные по Граму, выявляют крупные грамположительные бактерии, *C. difficile*, стафилококки и грибы *Candida*
- Кислотоустойчивые простейшие *Cryptosporidium* и *Isospora* можно обнаружить с помощью окрашивания по Цилю-Нильсену.

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- **Бактериологическое** исследование кала применяют для диагностики дисбактериоза, помимо выявления бактерий-возбудителей кишечных инфекций.
- Рутинные исследования проводят посевом взвеси фекалий в физиологическом растворе на питательные среды.
- Используют дифференциально-диагностические среды для получения энтеробактерий (Энгл, Левина) , висмут-сульфитный агар для сальмонелл, кровяной, желточно-солевой агар для стафилококков, мясо-пептонный агар для псевдомонад и бацилл, среду Сабуро для грибов.
- Посев фекалий проводят на поверхность твердой питательной среды 4-секторным методом посева бактериологической петлей. Этот метод позволяет получить чистую культуру, а также получить предварительную информацию о количестве различных микроорганизмов.

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- При оценке этиологической роли полученных культур большое значение имеет определение их количества, точнее количества колоний, образовавшихся на поверхности питательной среды.
- Для этого важно учитывать количество инокулированного материала и степень разведения. Количество микроорганизмов рассчитывают по количеству 1 г фекалий.

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- Общее количество кишечных палочек в 1 г образца кала;
- Относительное количество гемолитических кишечных бактерий;
- Наличие и относительное количество условно-патогенных бактерий, в том числе *Proteus* и грибов *Candida*;
- Количество бифидобактерий, лактобактерий и бактероидов.

Принципы микробиологической диагностики инфекций желудочно-кишечного тракта.

- *Вирусологические* тесты используются для выявления вирусов Norwalk, а также аденовирусов. Свежевыделенный кал или ректальные тампоны в антибиотической среде на 30 мин. после хранения инокулируют в культуры тканей - первичную культуру почек обезьяны, культуру диплоидных фибробластов эмбриона человека.
- Для выявления калицивирусов и ротавирусов в фекалиях применяют иммуноэлектронную микроскопию и ЗПР.

Лечение дисбиоза и дисбактериоза

- Прежде всего, это делается путем выявления и устранения факторов, которые его вызывают.
- Одним из важных условий является удаление условно-патогенной микрофлоры (избирательная деконтаминация), развивающейся на этом фоне.
- Пробиотики (эубиотики) используются для восстановления микрофлоры.
- используются эубиотики - в основном являются облигатными представителями нормальной микрофлоры кишечника - бифидобактериями, лактобактериями, кишечными бактериями, энтерококками и др..
- С этой целью применяют бактериальные препараты в виде лиофилизированного сухого порошка, таблеток, а также экстрактов.

Острые кишечные инфекции

ВИРУСНЫЕ

Аденовирусы 40 и 41
Ротавирусы

ПРОТОЗОЙНЫЕ

Амебиаз
Балантидиаз
Гiardioз
Криптоспоридоз
Бластоцистоз

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ

Шигеллы (дизентерия)
Сальмонеллы (брюшной тиф)
Кампилобактерии (энтероколит)
Йерсинии (кишечный йерсиниоз и псевдотуберкулез)
C.difficile(псевдомембранозный колит)
Холерный вибрион(холера)

ПИЩЕВЫЕ ТОКСИКОИНФЕКЦИИ

- *C.botulinum* - ботулизм
- *C.perfringens* *тип А* - пищевая токсикоинфекция
- *C.perfringens* *тип С* – некротический энтерит
- *B.cereus* –пищевое отравление (гастроэнтерит)
- *S.aureus* –пищевое отравление энтеротоксином

Микробиологическая диагностика

- Исследуют испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты.
- методы диагностики –
- *Бактериоскопический*
- *Бактериологический*
- *Вирусологический (культивирование в культуре клеток, тканей)*
- *Серологический (обнаружение антигенов и антител)*

Криптоспоридии в мазке, окрашенном по Циль-Нильсену

