

МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, ВИРУСОЛОГИЯ И ИММУНОЛОГИЯ

**Под редакцией академика РАН В.В. Зверева,
профессора М.Н. Бойченко**

Том 2



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2017

СОДЕРЖАНИЕ

ЧАСТЬ III. ЧАСТНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ	11
Глава 15. Микробиологическая и иммунологическая диагностика <i>(А.Ю. Миронов)</i>	13
15.1. Характеристика микробиологических и иммунологических лабораторий	13
15.2. Оснащение микробиологических и иммунологических лабораторий	15
15.3. Правила работы в микробиологической лаборатории	16
15.4. Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней	17
15.5. Методы микробиологической диагностики	18
15.5.1. Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций	21
15.5.2. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций	23
15.5.3. Особенности микробиологической диагностики микозов	24
15.5.4. Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций	24
15.6. Принципы иммунологической диагностики болезней человека	25
15.7. Контроль качества лабораторных исследований	25
Задания для самоподготовки (самоконтроля)	26
Глава 16. Частная бактериология	27
16.1. Кокки (<i>О.В. Бухарин, Б.Я. Усвятцов</i>)	27
16.1.1. Аэробные грамположительные кокки	27
16.1.1.1. Стафилококки (род <i>Staphylococcus</i>)	27
16.1.1.2. Стрептококки (род <i>Streptococcus</i>)	33
16.1.1.3. Энтерококки (род <i>Enterococcus</i>)	38
16.1.2. Аэробные грамотрицательные кокки	39
16.1.2.1. Нейссерии (род <i>Neisseria</i>)	39
16.1.3. Анаэробные кокки	44
16.2. Палочки грамотрицательные факультативно-анаэробные	46
16.2.1. Энтеробактерии (семейство <i>Enterobacteriaceae</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>)	46
16.2.1.1. Эшерихии (род <i>Escherichia</i>)	50
16.2.1.2. Клебсиеллы (род <i>Klebsiella</i>)	57
16.2.1.3. Шигеллы (род <i>Shigella</i>)	59
16.2.1.4. Сальмонеллы (род <i>Salmonella</i>)	63
16.2.1.5. Протеи (род <i>Proteus</i>)	75
16.2.1.6. Иерсинии (род <i>Yersinia</i>)	77
16.2.2. Вибрионы (семейство <i>Vibrionaceae</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>)	86
16.2.2.1. Возбудитель холеры (<i>Vibrio cholerae</i>)	86
16.2.2.2. Другие вибрионы	90
16.2.2.3. Аэромонады (род <i>Aeromonas</i>)	91
16.2.3. Гемофильные бактерии (род <i>Haemophilus</i>) (<i>Е.В. Буданова</i>)	92
16.3. Палочки грамотрицательные аэробные	100

16.3.1. Бордетеллы (род <i>Bordetella</i>) (<i>Е.В. Буданова, Е.П. Москаленко, Г.Г. Харсеева</i>).....	100
16.3.2. Бруцеллы (род <i>Brucella</i>) (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	106
16.3.3. Франциселлы (род <i>Francisella</i>) (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	112
16.3.4. Легионеллы (род <i>Legionella</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>).....	116
16.3.5. Коксии. Возбудитель лихорадки Ку (<i>Coxiella burnetii</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>).....	119
16.3.6. Бартонеллы (род <i>Bartonella</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>).....	121
16.3.7. Аэробные неферментирующие грамотрицательные палочки (<i>Е.В. Буданова</i>).....	123
16.3.7.1. Псевдомонады (род <i>Pseudomonas</i>).....	123
16.3.7.2. Буркхольдерии (род <i>Burkholderia</i>).....	130
16.4. Палочки грамотрицательные анаэробные (<i>В.Н. Царев</i>).....	133
16.4.1. Общая характеристика грамотрицательных бесспоровых анаэробных бактерий.....	133
16.4.2. Вейллонеллы (род <i>Veillonella</i>).....	135
16.4.3. Бактероиды (род <i>Bacteroides</i>), превотеллы (род <i>Prevotella</i>), порфиромонады (род <i>Porphyromonas</i>).....	136
16.4.4. Фузобактерии (род <i>Fusobacterium</i>), лептотрихии (род <i>Leptotrichia</i>).....	137
16.5. Палочки спорообразующие грамположительные.....	138
16.5.1. Сибиреязвенные бациллы (род <i>Bacillus</i>) (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	138
16.5.2. Спорообразующие бактерии рода <i>Clostridium</i> (<i>В.Б. Сбойчаков</i>)	144
16.5.2.1. Возбудители газовой гангрены.....	145
16.5.2.2. Возбудитель столбняка <i>Clostridium tetani</i>	150
16.5.2.3. Возбудители ботулизма <i>Clostridium botulinum</i>	156
16.5.2.4. Возбудители псевдомембранного колита (<i>Clostridium difficile</i>).....	157
16.6. Палочки грамположительные правильной формы.....	158
16.6.1. Лактобациллы (род <i>Lactobacillus</i>) (<i>Е.П. Пашков</i>).....	158
16.6.2. Листерии (род <i>Listeria</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>).....	158
16.7. Палочки грамположительные неправильной формы, ветвящиеся.....	161
16.7.1. Коринебактерии (род <i>Corynebacterium</i>) (<i>Д.Н. Нечаев, Е.П. Москаленко, Г.Г. Харсеева</i>).....	161
16.7.1.1. Возбудитель дифтерии <i>Corynebacterium diphtheriae</i>	162
16.7.1.2. Коринеформные бактерии.....	171
16.7.2. Микобактерии (семейство <i>Mycobacteriaceae</i>).....	172
16.7.2.1. Возбудители туберкулеза (<i>Д.Н. Нечаев, В.Б. Сбойчаков</i>).....	172
16.7.2.2. Возбудитель лепры (<i>Д.Н. Нечаев</i>).....	184
16.7.2.3. Нетуберкулезные микобактерии (<i>Д.Н. Нечаев</i>).....	190
16.7.3. Актиномицеты (род <i>Actinomyces</i>) (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	195
16.7.4. Нокардии (род <i>Nocardia</i>) (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	198
16.7.5. Бифидобактерии, зубактерии, пропионобактерии, мобилункусы, гарднереллы (<i>А.Ю. Миронов</i>).....	201
Пропионобактерии.....	201
Мобилункусы (род <i>Mobiluncus</i>).....	202
Гарднереллы (род <i>Gardnerella</i>).....	202

16.8. Спирохеты и другие спиральные изогнутые бактерии.....	204
16.8.1. Трепонемы (род <i>Treponema</i>) (<i>В.Б. Сбойчаков, В.О. Пожарская, М.Н. Бойченко</i>).....	205
16.8.1.1. Возбудитель сифилиса (<i>T. pallidum</i>).....	206
16.8.1.2. Другие патогенные трепонемы и вызываемые ими заболевания	210
16.8.2. Боррелии (род <i>Borrelia</i>) (<i>В.О. Пожарская</i>)	211
16.8.2.1. Возбудители возвратных тифов	211
16.8.2.2. Возбудители болезни Лайма (<i>B. burgdorferi, B. garini, B. afzelii</i>)	213
16.8.3. Лептоспиры (род <i>Leptospira</i>) (<i>М.Н. Бойченко</i>)	215
16.8.4. Кампилобактерии (род <i>Campylobacter</i>) (<i>Несвижский Ю.В, М.Н. Бойченко</i>).....	218
16.8.5. Хеликобактерии (род <i>Helicobacter</i>) (<i>Ю.В. Несвижский</i>)	219
16.9. Риккетсии (семейство <i>Rickettsiaceae</i>) (<i>Н.В. Рудаков</i>)	221
16.9.1. Семейство <i>Rickettsiaceae</i>	222
16.9.1.1. Представители рода <i>Rickettsia</i>	231
16.9.1.2. Возбудители лихорадки цуцугамуши (род <i>Orientia</i>).....	234
16.9.2. Возбудители анаплазмозов человека (семейство <i>Anaplasmataceae</i>).....	235
16.10. Хламидии (семейство <i>Chlamydiaceae</i>) (<i>В.Н. Царев, Г.Н. Усатова, В.С. Крамарь</i>).....	240
16.10.1. Возбудители трахомы, конъюнктивита, урогенитального хламидиоза и др. (<i>C. trachomatis</i>).....	244
16.10.2. Возбудитель пневмонии (<i>C. pneumoniae</i>).....	248
16.10.3. Возбудитель орнитоза (<i>C. psittaci</i>).....	249
16.11. Микоплазмы (семейство <i>Mycoplasmataceae</i>) (<i>Г.Н. Усатова, В.Н. Царев</i>)	251
16.11.1. Возбудители респираторных микоплазмозов.....	252
16.11.2. Возбудители урогенитальных микоплазмозов и уреаплазмоза.....	254
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.1	254
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.2	255
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.3	256
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.4	257
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.5, 16.6.....	258
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.7	259
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.8	261
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.9	262
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к 16.10, 16.11.....	263
Глава 17. Частная вирусология	264
17.1. РНК-содержащие вирусы	264
17.1.1. Пикорнавирусы (семейство <i>Picornaviridae</i>) (<i>Е.П. Пашков</i>).....	264
17.1.1.1. Энтеровирусы.....	265
17.1.1.1.1. Вирусы полиомиелита	267
17.1.1.1.2. Вирусы Коксаки А и В.....	270
17.1.1.1.3. Вирусы группы ЕСНО.....	271

17.1.1.2. Риновирусы	271
17.1.1.3. Вирусы ящура	272
17.1.1.4. Вирус гепатита А	272
17.1.2. Реовирусы (семейство Reoviridae) (А.С. Быков)	274
17.1.2.1. Ротавирусы (род Rotavirus)	276
17.1.3. Буньявирусы (семейство Bunyaviridae) (Д.Н. Нечаев)	278
17.1.3.1. Вирус геморрагической лихорадки Крым–Конго (ГЛКК)	280
17.1.3.2. Вирусы — возбудители хантавирусных инфекций: геморрагической лихорадки с почечным синдромом (ГЛПС) и хантавирусного легочного синдрома	282
17.1.4. Тогавирусы (семейство Togaviridae) (Д.Н. Нечаев)	284
17.1.4.1. Вирусы рода Alphavirus	284
17.1.4.2. Вирус краснухи	287
17.1.5. Вирусы семейства Flaviviridae (Д.Н. Нечаев)	291
17.1.5.1. Вирус желтой лихорадки	294
17.1.5.2. Вирус клещевого энцефалита	295
17.1.5.3. Вирус лихорадки Западного Нила	298
17.1.6. Ортомиксовирусы (вирусы гриппа) (В.В. Зверев, Н.В. Хорошко) ...	299
17.1.7. Парамиксовирусы (семейство Paramyxoviridae) (А.С. Быков)	307
17.1.7.1. Вирусы парагриппа	309
17.1.7.2. Вирус эпидемического паротита	311
17.1.7.3. Вирус кори и подострого склерозирующего панэнцефалита ..	312
17.1.7.4. Респираторно-синцитиальный вирус человека	314
17.1.8. Рабдовирусы (Rhabdoviridae) (А.С. Быков)	316
17.1.8.1. Вирус бешенства	317
17.1.9. Филовирусы (семейство Filoviridae) (В.В. Зверев, Л.И. Петрова) ..	321
17.1.10. Коронавирусы (семейство Coronaviridae) (В.В. Зверев, Г.Н. Устова)	323
17.1.11. Вирус иммунодефицита человека (В.В. Зверев, Л.И. Петрова)	325
17.1.12. Аренавирусы (семейство Arenaviridae) (А.С. Быков)	331
17.1.12.1. Вирусы лимфоцитарного хориоменингита, Ласса, Хунин, Мачupo, Гуанарито, Сабиа	332
17.1.13. Вирус гепатита Е (В.В. Зверев)	333
17.2. ДНК-содержащие вирусы	334
17.2.1. Аденовирусы (семейство Adenoviridae) (В.В. Зверев, Л.И. Петрова)	334
17.2.2. Герпесвирусы (семейство Herpesviridae) (В.В. Зверев, А.С. Быков)	336
17.2.2.1. Вирус простого герпеса	339
17.2.2.2. Вирус ветряной оспы и опоясывающего герпеса	343
17.2.2.3. Вирус Эпштейна–Барр	345
17.2.2.4. Вирус цитомегалии	347
17.2.2.5. Герпесвирус человека типов 6, 7 и 8	349
17.2.3. Поксвирусы (семейство Poxviridae) (А.С. Быков)	350
17.2.3.1. Вирус натуральной оспы	350
17.2.3.2. Другие поксвирусы, поражающие человека	353

17.2.4. Гепаднавирусы (семейство Hepadnaviridae) (М.Н. Бойченко)	354
17.3. Возбудители парентеральных вирусных гепатитов D, C, G (М.Н. Бойченко).....	361
17.3.1. Вирус гепатита D.....	361
17.3.2. Вирус гепатита C.....	362
17.3.3. Вирус гепатита G.....	363
17.4. Онкогенные вирусы (М.Н. Бойченко)	364
17.4.1. РНК-содержащие онкогенные вирусы.....	364
17.4.2. ДНК-содержащие онкогенные вирусы	367
17.5. Медленные вирусные инфекции и прионные болезни (В.В. Зверев, А.С. Быков).....	371
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к главе 17	376
Глава 18. Частная микология (А.С. Быков, А.Ю. Миронов)	380
18.1. Возбудители поверхностных микозов.....	380
18.2. Возбудители эпидермофитий.....	381
18.2.1. Возбудители микроспории (род <i>Microsporum</i>)	385
18.2.2. Возбудители трихофитии (род <i>Trichophyton</i>).....	386
18.2.3. Возбудитель фавуса (<i>Trichophyton schoenleinii</i>)	387
18.2.4. Возбудитель эпидермофитии паховой (<i>Epidermophyton floccosum</i>)	387
18.2.5. Возбудитель руброфитии (<i>Trichophyton rubrum</i>)	387
18.2.6. Возбудитель эпидермофитии стоп (<i>Trichophyton interdigitale</i>)	388
18.3. Возбудители подкожных, или субкутанных, микозов.....	388
18.3.1. Возбудитель споротрихоза (<i>Sporothrix schenckii</i>)	389
18.3.2. Возбудители хромобластомикоза	390
18.3.3. Возбудители феогифомикоза.....	392
18.3.4. Возбудители мицетомы.....	392
18.4. Возбудители системных, или глубоких, микозов	393
Кокцидиоидоз.....	393
Адиаспиромикоз	396
Гистоплазмоз.....	398
Бластомикоз	401
Паракокцидиоидоз	404
Криптококкоз	406
18.5. Возбудители оппортунистических микозов.....	410
18.5.1. Возбудители кандидоза (род <i>Candida</i>)	410
18.5.2. Возбудители зигомикоза	412
18.5.3. Возбудители аспергиллеза (род <i>Aspergillus</i>).....	414
18.5.4. Возбудители пенициллиоза (род <i>Penicillium</i>).....	415
18.5.5. Возбудители фузариозов (род <i>Fusarium</i>)	416
18.5.6. Возбудитель пневмоцистоза (<i>Pneumocystis jiroveci</i>)	417
18.6. Возбудители микотоксикозов.....	418
Глава 19. Частная протозоология (А.С. Быков)	423
19.1. Саркодовые (амебы)	423
19.1.1. Возбудитель амебиаза (<i>Entamoeba histolytica</i>).....	423

19.2. Жгутиконосцы.....	426
19.2.1. Лейшмании (род <i>Leishmania</i>).....	426
19.2.2. Трипаносомы (род <i>Trypanosoma</i>).....	430
19.2.3. Лямблии, или жиардии (род <i>Lambliа</i> , или <i>Giardia</i>).....	432
19.2.4. Трихомонады (род <i>Trichomonas</i>).....	433
19.3. Споровики.....	435
19.3.1. Плазмодии малярии (род <i>Plasmodium</i>).....	435
19.3.2. Бабезии (род <i>Babesia</i>).....	440
19.3.3. Токсоплазмы (род <i>Toxoplasma</i>).....	441
19.3.4. Криптоспоридии (род <i>Cryptosporidium</i>).....	444
19.4. Реснитчатые.....	446
19.4.1. Балантидии (род <i>Balantidium</i>).....	446
19.5. Микроспоридии (тип <i>Microspora</i>).....	447
19.6. Бластоцисты (род <i>Blastocystis</i>).....	449
Задания для самоподготовки (самоконтроля) (к главам 18, 19).....	450
Глава 20. Клиническая микробиология (А.Ю. Миронов)	452
20.1. Понятие о внутрибольничной инфекции.....	452
20.2. Понятие о клинической микробиологии.....	453
20.3. Этиология оппортунистических инфекций.....	453
20.4. Эпидемиология оппортунистических инфекций.....	456
20.5. Патогенез оппортунистических инфекций.....	457
20.6. Клиническая картина оппортунистических инфекций.....	457
20.7. Микробиологическая диагностика.....	459
20.7.1. Правила забора, хранения и транспортировки материала.....	461
20.7.2. Выделение возбудителей оппортунистических инфекций.....	462
20.7.3. Критерии этиологической роли выделенной культуры.....	463
20.8. Лечение.....	464
20.9. Профилактика.....	464
Задания для самоподготовки (самоконтроля) к главе 20.....	465
Ответы к тестам 2-го тома	467
Предметный указатель	473

СОДЕРЖАНИЕ КОМПАКТ-ДИСКА

Микрофлора полости рта и ее роль в патологии человека

(дополнение к главе 4) *В.Н. Царев, Г.Н. Усатова*

Санитарная микробиология (дополнение к главе 4, разделу 4) *В.Б. Сбойчаков*

Механизмы персистенции бактерий и формирования бактерионосительства

(дополнение к главе 8) *О.В. Бухарин, Б.Я. Усвятцов*

Роль макроорганизма в инфекционном процессе (дополнение к главе 8,

разделу 4) *О.В. Бухарин, Б.Я. Усвятцов*

Особенности диагностики анаэробных инфекций (дополнение к главе 15,

разделу 3) *А.Ю. Миронов*

Микробиологическая диагностика клостридиозов (дополнение к главе 16,

разделу 5) *В.Б. Сбойчаков*

Арбовирусные и робовирусные инфекции (дополнение к главе 17)

Д.Н. Нечаев, В.В. Зверев, А.С. Быков

Глава 15

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА

15.1. Характеристика микробиологических и иммунологических лабораторий

Вся работа с микробами проводится в лабораториях, которые в зависимости от основных задач могут быть научно-исследовательскими, диагностическими или производственными.

В системе органов здравоохранения имеются:

- клинико-диагностические лаборатории общего или специального (биохимическая, бактериологическая, иммунологическая, цитологическая и др.) типов, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений;
- бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора (ГСН);
- санитарно-бактериологические лаборатории ГСН;
- санитарно-химические лаборатории ГСН;
- центральные (ЦНИЛ), проблемные, отраслевые, учебные лаборатории вузов;
- специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированные и работают с той или иной группой микробов.

С вирусами работают в вирусологических лабораториях, располагающих соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер

приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Иммунологические исследования проводятся в иммунологических лабораториях, хотя отдельные виды исследований могут выполняться и в микробиологических лабораториях, например серодиагностика инфекционных болезней.

Лабораторная работа с патогенными микробами проводится в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключающих возможность заражения персонала и утечку микробов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микробами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий и окружающего населения, обусловила разработку классификации микробов, разбив их на 4 группы по степени их биологической опасности (классификация ВОЗ). В России в соответствии с рекомендациями ВОЗ патогенные микробы также делят на 4 группы: 1-я группа — возбудители особо опасных инфекций; 2-я группа — возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека; 3-я группа — возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы; 4-я группа — условно-патогенные микробы — возбудители оппортунистических инфекций. Нумерация групп микробов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к 1-й группе относятся микробы самой низкой патогенности, а к 4-й группе — особо опасные.

В соответствии с делением микробов на группы по степени биологической опасности лаборатории также делят на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют 3 категории микробиологических лабораторий:

- базовые (основные или общего типа) лаборатории, которые в связи с конкретными особенностями работы могут быть оборудованы различными защитными устройствами;
- режимные (изолированные) лаборатории и лаборатории особого режима (максимально изолированные).

Безопасность работ в лабораториях всех категорий обеспечивается выполнением распорядка и правил работы в лаборатории, выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению, обеспечением лабораторий соответствующим оборудова-

нием, медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников, обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

15.2. Оснащение микробиологических и иммунологических лабораторий

Помещения базовой лаборатории должны быть просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок, пол должны иметь гладкую, легко моющуюся поверхность, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам, обычно используемым в лаборатории. Поверхность рабочих столов должна быть водонепроницаемой, устойчивой к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию. Лабораторная мебель должна быть прочной. Пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступно для уборки. В лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания отходов.

Оборудование базовой лаборатории должно ограничивать или предупреждать контакт микробиолога с инфекционным материалом, должно быть изготовлено из прочных материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии. Оборудование должно быть сконструировано и установлено так, чтобы оно легко подвергалось чистке, обеззараживанию и проверке.

Лабораторию оснащают микроскопом, автоклавом, термостатами, сушильными, стерилизационными шкафами, аппаратом для свертывания сыворотки, дистиллятором, центрифугами, лабораторными весами, рН-метром, ФЭК, магнитной мешалкой, моечной ванной.

Рабочие помещения лаборатории должны быть снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и т.п. В некоторых кабинетах оборудуются боксы и вытяжные шкафы.

В число обязательных помещений входят лаборатории кишечных, капельных инфекций, санитарно-бактериологическая, серологическая, а также вспомогательные помещения: средоварка, моечная, стерилизационная (чистая и грязная), регистратура, кладовые, санузел для сотрудников, виварий. В лабораториях с пунктами для обследования на носительство микроорганизмов дополнительно оборудуют приемную, процедурную, туалеты для забора

материала. Располагают помещения таким образом, чтобы грязный и чистый потоки не перекрещивались и не соприкасались.

В отношении помещений режимных лабораторий должны соблюдаться те же требования, которые предусмотрены для базовой лаборатории. Кроме того, лаборатория этого типа должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается. Устройства для мытья рук должны быть снабжены приспособлениями для открывания воды ножной педалью или локтем. Окна должны быть закрыты и заклеены. Входные двери в лабораторные помещения должны быть самозакрывающимися и запирающимися на замок. Вытяжная вентиляция проектируется так, чтобы наиболее низкое давление создавалось в помещениях самой высокой опасности инфицирования. В этом случае движение воздуха будет происходить из вспомогательных помещений в направлении основного рабочего помещения. Отработанный воздух выбрасывается в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры. При оснащении режимных лабораторий оборудованием руководствуются рекомендациями, разработанными для базовых лабораторий, с тем дополнением, что вся работа с инфекционным материалом в них проводится в защитных боксах. В режиме максимально изолированных лабораторий существует ряд особенностей для обеспечения максимальной биологической безопасности персонала, населения и окружающей среды. Вход в лабораторию и выход из нее осуществляются через санитарный пропускник. При входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, при выходе перед переодеванием обязательна целевая санитарная обработка (душ, дезинфектанты) персонала. Для снижения риска попадания инфекционного материала в окружающую среду применяют боксирование. С помощью **боксов** (настольных, ламинарных) создают физические барьеры для предотвращения возможных контактов работающего персонала с инфекционным материалом.

15.3. Правила работы в микробиологической лаборатории

Основные правила работы в базовой лаборатории включают:

- запрет работ с пипеткой при помощи рта;
- запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;

- поддержание чистоты и порядка;
- дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;
- мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
- проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
- обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием.

15.4. Принципы микробиологической диагностики инфекционных болезней

Наиболее важное место в лабораторной диагностике инфекционных болезней занимает специфическая микробиологическая диагностика, которую проводят в бактериологической, вирусологической, иммунологической и других лабораториях. Она состоит из трех этапов: преаналитического, аналитического и постаналитического.

Первым этапом микробиологической диагностики является *преаналитический*, включающий взятие материала для исследования. Выбор исследуемого материала определяется патогенезом и клинической картиной инфекционного заболевания. Исследуемый материал берут по возможности в асептических условиях, помещают в стерильную посуду и как можно быстрее доставляют в лабораторию (желательно в течение 1 ч). В некоторых случаях посев материала проводят у постели больного. Иногда допускается непродолжительное хранение материала в регламентированных условиях. Исследуемый материал сопровождается документом, в котором обязательно указываются время взятия, характер материала, его источник и точно определяется цель исследования.

Материалом для исследования в медицинской микробиологии служат различные биологические и патологические жидкости организма (кровь, гной, моча, мокрота, ликвор, испражнения, рвотные массы, промывные воды и т.п.) и ткань — материал биопсии от живого или аутопсии от трупа. В санитарной микробиологии на исследование берут объекты окружающей среды (воздух, воду, пищевые продукты и т.п.) или смывы с них. При заборе материа-

ла для микробиологического исследования необходимо соблюдать следующие правила:

- материал берут непосредственно из очага инфекции или исследуют соответствующее отделяемое (гной, мочу, желчь и т.п.);
- количество материала должно быть достаточным для проведения исследования и его повторения в случае необходимости;
- материал берут по возможности в начальном периоде болезни, так как именно в этот период возбудители выделяются чаще, их больше, они имеют более типичную локализацию;
- материал берут до начала антимикробной химиотерапии или через определенный промежуток времени после приема антибактериального препарата, необходимый для его выведения из организма;
- следует предупредить возможность попадания в материал антимикробных препаратов (дезинфектанты, антисептики, антибиотики);
- транспортировку материала в лабораторию следует проводить в максимально короткие сроки, в условиях, исключающих гибель неустойчивых видов микробов, или помещать его в специальные транспортные среды;
- при транспортировке должны соблюдаться все правила биологической безопасности;
- к материалу прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (фамилия, имя, отчество больного, номер истории болезни, клинический диагноз и т.д.).

15.5. Методы микробиологической диагностики

Аналитический этап включает микроскопический, культуральный, биологический, серологический и аллергологический методы микробиологической диагностики.

Микроскопический метод заключается в приготовлении препаратов (нативных или окрашенных простыми или сложными методами) из исследуемого материала и их микроскопии с применением различных видов микроскопической техники (световая, темнопольная, фазово-контрастная, люминесцентная, электронная и др.). В бактериологии микроскопический метод получил название бактериоскопического, в вирусологии — вирусоскопического.

Культуральный метод заключается в посеве исследуемого материала на искусственные питательные среды, культуры клеток или куриные эмбрионы с целью выделения и идентификации чистой культуры возбудителя или возбудителей. В бактериологии культуральный метод получил название **бактериологического**, в микологии — **микологического**, в протозоологии — **протозоологического**, в вирусологии — **вирусологического**.

Биологический метод (экспериментальный или биопроба) заключается в заражении исследуемым материалом чувствительных лабораторных животных или других биологических объектов (куриные эмбрионы, культуры клеток). Его используют для выделения чистой культуры возбудителя, определения типа токсина, активности антимикробных химиотерапевтических препаратов и т.д.

Серологический метод заключается в определении титра специфических антител в сыворотке крови больного, реже — в обнаружении микробного антигена в исследуемом материале. С этой целью используются иммунные реакции.

Аллергологический метод заключается в выявлении инфекционной аллергии (ГЗТ) на диагностический микробный препарат-аллерген. С этой целью ставят кожные аллергические пробы с соответствующими аллергенами.

Диагностическая ценность этих методов неравнозначна. Ведущим методом микробиологической диагностики является **бактериологический метод**, так как он позволяет выделять и идентифицировать микроб-возбудитель, т.е. первопричину болезни. Остальные методы менее информативны, так как они позволяют обнаружить в организме изменения, обусловленные наличием в нем микроба. Второе место по значимости занимает **серологический метод**, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. Информативность трех остальных методов невысокая, и они обычно служат дополнением к бактериологическому и серологическому методам. Так, микроскопия исследуемого материала далеко не всегда позволяет увидеть и идентифицировать микробы под микроскопом. Их удастся обнаружить только при высокой обсемененности ими материала. Даже обнаружив бактерии под микроскопом, идентифицировать их до вида морфологически нельзя. Как известно, все видовое многообразие бактерий сводится к 4 основным морфологическим формам: кокки, палочки, извитые и ветвящиеся формы. Поэтому по микро-

скопической картине можно весьма ориентировочно отнести увиденные бактерии к крупному таксону, например грамположительным коккам. Только в единичных случаях, когда бактерии имеют уникальную морфологию, микроскопически можно определить их родовую принадлежность. Информативность микроскопического метода грибов и простейших выше, так как грибы и простейшие, являясь эукариотами, имеют более крупные размеры и более характерную морфологию.

Диагностические возможности биологического метода ограничены тем, что к большинству возбудителей антропонозных инфекций человека лабораторные животные невосприимчивы, поэтому вызвать у них экспериментальную инфекцию не представляется возможным.

Возможности аллергологического метода ограничены тем, что большинство микробов в организме человека не вызывают ГЗТ.

Поскольку микробиологические исследования являются одним из наиболее дорогих видов лабораторных исследований, перед микробиологом стоит задача постановки достоверного микробиологического диагноза с наименьшей затратой времени, сил и средств. Поэтому для постановки диагноза используют 1–5 методов диагностики, чтобы выбранный набор методов гарантировал правильность ответа.

Особое значение приобретают методы экспресс-диагностики, которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени (от нескольких минут до нескольких часов) с момента доставки исследуемого материала в лабораторию. К числу экспресс-методов относятся РИФ, ИФА, РИА, ПЦР, использование биочипов, хроматография и др. Особенности диагностики анаэробных инфекций изложены в материалах диска.

Наряду с традиционными классическими методами микробиологической диагностики в последние годы все большее значение приобретают молекулярно-биологические методы диагностики (ДНК-зонды, ПЦР, лигазная цепная реакция — ЛЦР, хроматография, электрофорез, иммуноблот, биочипы и др.).

Молекулярно-биологические методы диагностики основаны на идентификации ДНК и РНК, специфичных для данного вида микробов, и включают гибридизацию на основе ДНК-зондов и диагностику на основе ПЦР.

Постаналитический этап микробиологической диагностики заключается в клинической интерпретации результатов лабораторных исследований. При этом лечащий врач должен оценить этиологическое значение выделенных от больного микробов, скорректировать на основании данных микробиологического мониторинга проводимую больному эмпирическую антимикробную химиотерапию и др.

15.5.1. Методы микробиологической диагностики бактериальных инфекций

В бактериологии для обнаружения возбудителя в исследуемом материале используют бактериоскопический, бактериологический, биологический методы.

Достоинствами бактериоскопического метода являются простота, быстрота, экономичность. Однако он находит ограниченное применение, так как может быть использован лишь при наличии каких-либо морфологических или тинкториальных особенностей возбудителя и достаточном его содержании в исследуемом материале. Данный метод является ориентировочным.

Основной и самый точный метод диагностики бактериальных инфекций бактериологический, который используют почти при всех заболеваниях, несмотря на его недостатки: длительность исследования (от 4–5 дней до 2 мес), опасность (так как накапливается чистая культура возбудителя), сравнительную дороговизну. В том случае, если в исследуемом материале предполагается содержание возбудителя в достаточном количестве, посев материала производят на плотные питательные среды для получения изолированных колоний. При незначительном содержании микробов исследуемый материал прежде засевают на жидкие питательные среды — среды обогащения. Идентификацию выделенной чистой культуры производят по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим, антигенным и токсигенным свойствам (в зависимости от вида возбудителя). Определение перечисленных свойств позволяет установить вид возбудителя. С целью эпидемиологического маркирования производят внутривидовую идентификацию выделенной культуры: определяют ее фаговар, биовар и др. Кроме того, для назначения рационального лечения, как правило, определяют чувствительность выделенной культуры к антибиотикам.

При микробиологической диагностике заболеваний, вызванных условно-патогенными микробами, представителями нормальной микрофлоры, обязательным является определение количества возбудителей в исследуемом материале.

Биологический метод неэкономичен, негуманен, поэтому находит ограниченное применение. В качестве экспериментальных животных используют белых мышей, морских свинок, кроликов, обезьян и других животных.

Диагноз инфекционного заболевания возможно установить также с помощью серологического метода, позволяющего обнаружить либо специфические антитела в сыворотке больного, либо специфические антигены непосредственно в исследуемом материале. Антитела к возбудителю заболевания появляются, как правило, к концу первой недели болезни. Невозможность обнаружить их в первые дни заболевания является серьезным недостатком метода, особенно в тех случаях, когда заболевание протекает остро. Кроме того, при многих болезнях требуются изучение антителообразования в динамике и выявление увеличения количества антител, что также не позволяет быстро поставить диагноз. Недостатком метода является и то, что с его помощью нельзя точно идентифицировать возбудителя и определить его антибиотикограмму. Но в то же время это совершенно безопасный, относительно недорогой метод, позволяющий за короткое время поставить диагноз. В настоящее время при ряде болезней определяют не только количество, но и классы иммуноглобулинов.

При некоторых заболеваниях серологический метод применяют для выявления специфических антигенов в исследуемом материале. Поскольку специфические антигены, входящие в состав возбудителя, находятся в патологическом материале с первых минут болезни, этот вариант серологического метода применяют для ускоренной (в течение первого дня болезни) или даже экспресс-диагностики (в течение нескольких часов) инфекционных заболеваний.

В качестве вспомогательного при небольшой группе инфекционных заболеваний используют аллергологический метод, позволяющий выявить повышенную чувствительность к специфическому антигену (аллергену), которым является возбудитель заболевания.

15.5.2. Методы микробиологической диагностики вирусных инфекций

В вирусологии методы лабораторной диагностики вирусных инфекций имеют свою специфику, учитывая особенности биологии вирусов. Используются вирусоскопический, вирусологический и серологический методы лабораторной диагностики.

Вирусоскопический метод заключается в обнаружении вируса в исследуемом материале под микроскопом. Чаще используют электронный микроскоп, реже — люминесцентный. Световая микроскопия из-за ничтожно малых размеров вирусов практически не применяется. Лишь для обнаружения крупных вирусов, используя методы сверхокраски, можно применить световой микроскоп. Кроме того, с помощью светового микроскопа можно выявить внутриклеточные включения, которые образуются в пораженных клетках при некоторых инфекциях.

Вирусологический метод заключается в заражении исследуемым материалом чувствительной биологической модели (лабораторные животные, куриные эмбрионы или культуры клеток), индикации вируса и его последующей идентификации. При заражении лабораторных животных индикация вирусов производится, как правило, по клинической картине болезни, патолого-анатомическим изменениям ориентировочно и окончательно, например, с помощью реакции гемагглютинации. Эта же реакция позволяет выявить вирусы в курином эмбрионе, видимых изменений при вскрытии которого, как правило, не наблюдается. В культуре клеток наличие вируса определяют по цитопатическому действию (в том числе образованию внутриклеточных включений), гемадсорбции, феномену бляшкообразования, реакции гемагглютинации, отсутствию изменения окраски индикатора. Идентификация вируса осуществляется с помощью серологических реакций (РПГА, РТГА, РН, РСК, ИФА и др.). Вирусологический метод позволяет точно определить природу возбудителя, но он требует достаточно времени (5–7 дней и более), значительных материальных затрат и небезопасен.

Особенностью серологического метода в вирусологии является исследование парных сывороток. Первую сыворотку берут у больного в острый период в начале болезни, хранят при температуре 4–8 °С, а вторую сыворотку берут через 10–14 дней. Сыворотки

исследуют одномоментно. О болезни свидетельствует сероконверсия, т.е. нарастание титра антител во второй сыворотке по отношению к первой. Диагностической является сероконверсия в 4 раза и выше. Так как многие вирусные болезни протекают остро, этот вариант серологического метода обычно применяют для ретроспективной диагностики.

Ведущим методом лабораторной диагностики вирусных инфекций является вирусологический.

Ускоренная и экспресс-диагностика вирусных болезней производится так же, как при бактериальных инфекциях.

15.5.3. Особенности микробиологической диагностики микозов

Для диагностики грибковых инфекций обычно используют микроскопический метод. Микологический метод заключается в посеве патологического материала на специальные питательные среды, выделении чистой культуры возбудителя и ее идентификации по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. Особенностью данного метода является его продолжительность — несколько недель из-за медленного роста грибов. Обнаружение антител при серологическом исследовании возможно со 2–4-й нед болезни. При некоторых заболеваниях выявляют специфические антигены в исследуемом материале. Аллергологический метод используют редко. Нередко при микозах применяют гистологический метод, заключающийся в обнаружении элементов гриба (споры, конидиальные головки и т.п.) в органах и тканях, пораженных грибами. С этой целью готовят гистологические тонкие или ультратонкие срезы тканей, окрашивают их специальными гистологическими и гистохимическими методами и исследуют с применением световой, а в случае необходимости и электронной микроскопии.

15.5.4. Особенности микробиологической диагностики протозойных инфекций

Микроскопическое исследование патологического материала заключается в приготовлении как нативных препаратов («толстая капля»), так и мазков, окрашенных по методу Романовского—Гимзе, и является основным методом диагностики заболеваний, вызванных простейшими. В некоторых случаях применяют серологический и аллергологический методы диагностики.

15.6. Принципы иммунологической диагностики болезней человека

Иммунодиагностика — раздел иммунологии, изучающий и разрабатывающий методы диагностики инфекционных и неинфекционных болезней, связанных с функцией иммунной системы.

Многие инфекционные заболевания в настоящее время претерпели существенные изменения, что выражается в увеличении удельного веса легких, стертых и бессимптомных форм, росте аллергического компонента, высокой частоте микст-инфекций. Это затрудняет традиционную диагностику заболеваний, поэтому значимость иммунодиагностики, направленной на поиск антигенов возбудителя или специфических иммунных сдвигов в организме больного, возрастает.

Под иммунореактивностью (иммунный статус, иммунный профиль) понимают способность иммунной системы к иммунному ответу в данный момент времени. Ее характеризуют концентрация иммуноглобулинов, количество лимфоцитов и лейкоцитов, соотношение Т- и В-клеток и функциональные показатели, в частности способность иммунокомпетентных клеток отвечать на стимуляцию.

15.7. Контроль качества лабораторных исследований

Важным элементом работы микробиологической и иммунологической лаборатории является получение точных и сопоставимых результатов анализов, для чего необходимо осуществлять контроль качества проводимых исследований. Контроль качества может быть внутрилабораторным и внешним.

Внутрилабораторный контроль качества — система контрольных мер, которые проводятся в отдельной лаборатории персоналом этой лаборатории и направлены на обеспечение соответствующего качественного уровня работы лаборатории.

Внешний контроль качества — система контрольных мер, которые проводятся в рамках единой Федеральной системы внешней оценки качества (ФСВОК) лабораторных исследований группами экспертов и направлены на обеспечение правильной организации технологических процессов производства лабораторных исследований.

Федеральная система внешней оценки качества лабораторных исследований состоит из разделов, в рамках каждого из которых

выполняется оценка качества определенного вида лабораторных исследований. В структуру ФСВОК входят экспертные группы по разработке и проведению внешнего контроля качества в различных видах лабораторных исследований.

Задания для самоподготовки (самоконтроля)

- А.** Назовите метод микробиологического исследования, позволяющий установить вид возбудителя:
 - 1. Аллергический.
 - 2. Микроскопический.
 - 3. Культуральный.
 - 4. Биологический.
- Б.** Назовите основную задачу бактериологического метода исследования.
- В.** У больного с подозрением на вирусную инфекцию на 7 день заболевания была взята сыворотка, в которой обнаружены специфические противовирусные антитела. Оцените достоверность полученного результата исследования.
- Г.** Назовите тип лаборатории, в которую следует направить материал от больного с подозрением на особо опасную инфекцию.