

ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТАВЕ
МИКРОФЛОРЫ ПРИ
ДИСБАКТЕРИОЗЕ

Дисбактериоз кишечника

*– это изменение **качественного состава** и популяционного уровня симбиотической микрофлоры кишечника, возникающее под воздействием различных факторов, в том числе нерационального применения антибиотиков.*

характеризуется

исчезновением или уменьшением числа облигатных ее представителей и увеличением популяционного уровня условно-патогенных микробов

ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

- *две фракции*

◆ облигатная

◆ факультативная

ОБЛИГАТНАЯ ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

- главная составляющая любого биоценоза
- концентрация более 10^5 КОЕ/г
- Участвуют в бродильных процессах (образуют кислые продукты)
- *Кишечный биотип – бифидобактерии, лактобациллы, бактероиды, БГКП, пептострептококки, энтерококки*

ОБЛИГАТНАЯ ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

• значение (нормофизиологическое)

❖ Противодействует заселению биотопа случайными м/о

❖ Участвует в процессах

Ферментации

Иммуностимуляции

ФАКУЛЬТАТИВНАЯ ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

- Максимальная концентрация
 - не превышает 10^5 КОЕ/г
- Участвуют в гнилостных процессах (образуют щелочные продукты)
- *Кишечный биотип – стафилококки, стрептококки, бациллы, клостридии, дрожжи и дрожжеподобные грибы, клебсиеллы, протеи, серрации, атипичные кишечные палочки, фузобактерии*

ФАКУЛЬТАТИВНАЯ ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

Значение (нормофизиологическое)

- ❖ Противодействует заселению биотопа случайными м/о
- ❖ Участвует в процессах

□ ферментации

□ иммуностимуляции

ФАКУЛЬТАТИВНАЯ ПОСТОЯННАЯ АУТОМИКРОФЛОРА

- *Значение (патофизиологическое)*

- ❖ Участвует в процессах

- *нагноениях*

- *некрозах и др.*

- При дисбиозах концентрация превышает 10^5 КОЕ/г

- Агрессия по отношению к организму -хозяина

Дисбактериоз кишечника

Различные формы дисбактериоза среди россиян достигло катастрофических масштабов: этой патологией страдает более 90% взрослого населения и свыше 25% детей в возрасте до одного года.

Дисбактериоз кишечника формируется :

- 1. Воздействием патогенных микроорганизмов (механизм которого пока недостаточно ясен) на нормальную кишечную микрофлору у большинства больных острыми кишечными инфекциями*
- 2. Использованием различных препаратов, оказывающих ингибирующее действие не только на патогенную, но и на обычную кишечную микрофлору.*
- 3. Иммунодефицитные состояние, эндокринные нарушения, различные хронические заболевания, нерациональная антибиотикотерапия, ионизирующая радиация, а также ухудшающаяся экологическая обстановка.*

Дисбактериоз кишечника

Следствие дисбактериоза может привести к ю процессов пищеварения:

1. Нарушение всасывания питательных веществ, усвоения железа, кальция, синтеза ряда витаминов;
2. Утрата способности активации различных субстратов и ферментов в кишечном содержимом, развивается гипопроteinемия и бактериемия. Снижение ферментативной активности бифидо- и лактобактерий,
3. Смещение рН в щелочную сторону ведет к торможению процессов утилизации организмом человека биологически активных веществ, что вызывает усиление бродильных и гнилостных процессов.
4. Снижение детоксикационной способности печени, усиливают симптомы интоксикации, подавляют регенерацию слизистой оболочки кишки, тормозят перистальтику и пролонгируют диспептический синдром.

Дисбактериоз кишечника

Основанием для проведения коррекции нарушенной кишечной микрофлоры служат

1. Клинические признаки дисбактериоза
2. **Результаты бактериологического исследования содержимого кишечника, что позволяет оценить тяжесть и характер микрoэкологических нарушений в кишечнике.**

Показания для бактериологической диагностики

1. Длительно протекающие инфекции и расстройства, при которых не удаётся выделить патогенные энтеробактерии;
2. Затяжной период реконвалесценции после перенесённой кишечной инфекции;
3. Дисфункции ЖКТ на фоне или после проведённой антибиотикотерапии или у лиц, постоянно контактирующих с антимикробными препаратами.
4. При болезнях злокачественного роста,
5. У страдающих диспептическими расстройствами, лиц, подготавливаемых к операциям на органах брюшной полости,
6. Недоношенных или травмированных новорождённых,
7. При наличии бактериемии и гнойных процессов, трудно поддающихся лечению (язвенные колиты и энтероколиты, пиелиты, холециститы и др.).

Посевы изучают на наличие

- патогенных микроорганизмов
- на нарушение соотношения различных видов микробов

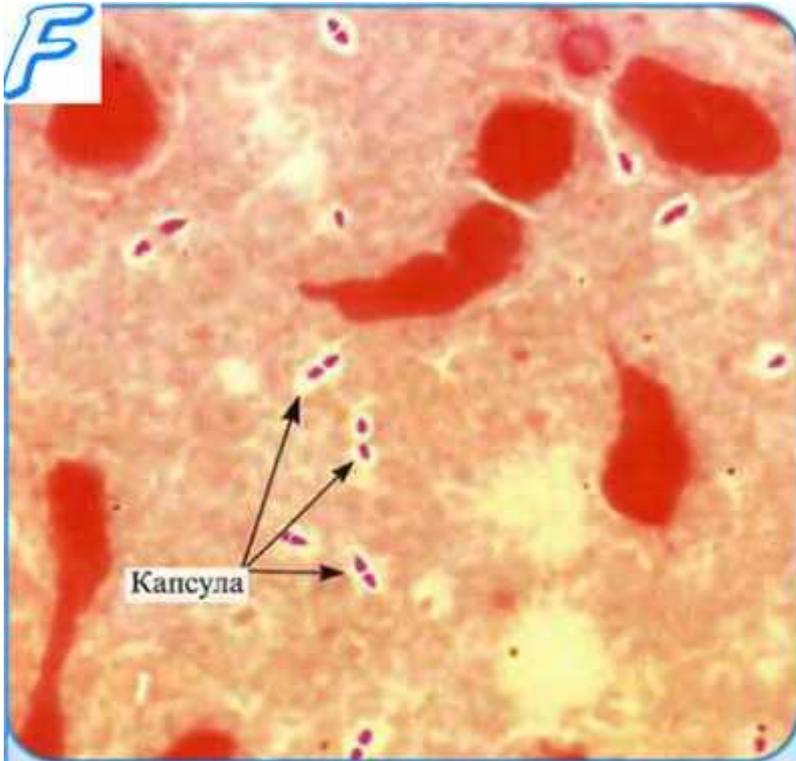


Рис. 3.9 а. Мазок из клинического материала капсулы пневмококка контрастируется окружающей тканью, окраска по Граму

Результаты исследования следует считать объективными

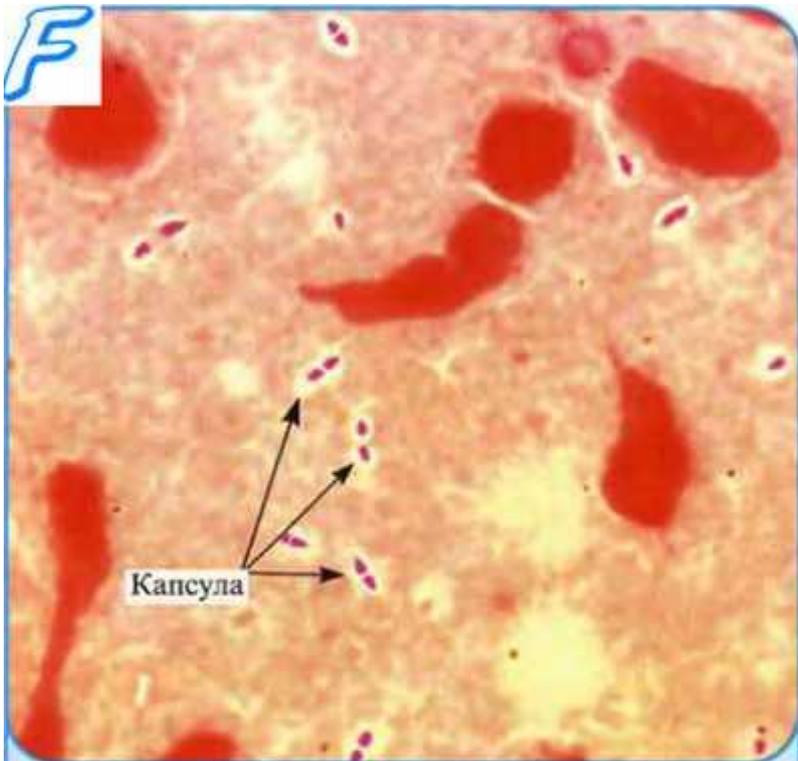


Рис. 3.9 а. Мазок из клинического материала капсулы пневмококка контрастируется окружающей тканью, окраска по Граму

если можно изучить морфологию и подсчитать количество колоний на чашку Петри.

После идентификации проводят пересчёт содержания микроорганизмов каждого вида на 1 г исследуемого материала.

При обнаружении патогенной микрофлоры необходимо изучить ее чувствительность к антибактериальным препаратам и бактериофагам.

При определении чувствительности следует отдавать предпочтение антибиотикам узкого спектра для возможно более направленного подавления патогенов.

Оценка результатов

следует подходить осторожно, поскольку состав кишечной микрофлоры варьирует.

отличать

истинный дисбактериоз от дисбактериальной реакции (сдвиги в составе микрофлоры незначительны, либо кратковременны и не требуют специфической коррекции).

Оценка результатов

указывают

1. Наличие или отсутствие патогенной микрофлоры
2. Указывают состав присутствующих микроорганизмов.
3. Проводят повторные исследования при дисбактериозе.
4. Отражают положительную или отрицательную динамику изменения в составе микробных

Коррекция дисбактериозов

Эубиотики — взвеси бактерий, способные восполнить численность недостающих или дефицитных видов. В отечественной практике широко применяют бактериальные препараты в виде высушенных живых культур различных бактерий, например, коли-, лакто- и бифидобактерины (содержащие соответственно *Escherichia coli*, виды *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*), бификол (содержащий | виды *Bifidobacterium* и *Escherichia coli*), бактисубтил (культура *Bacillus subtilis*)

Лабораторная диагностика КОКЛЮША

Диагностика коклюша

в предсудорожном периоде и в случае микст-инфекции всегда представляла большие сложности из-за отсутствия доступных высокочувствительных и специфичных лабораторных методов.

Золотым стандартом считали бактериологический метод, (процент высеваемости не превышал 40 - 60%). С конца 90-х годов резко снизился процент подтверждаемости коклюша бактериологическим методом (с 39,3% в 1997 г. до 4% в 2001 г.). В настоящее время подтверждаемость диагноза бактериологическим методом не превышает 20%..

Диагностика коклюша

Серологические реакции не являются высокоспецифичными, дают нарастание титров антител в поздние сроки заболевания, низкоинформативны у детей раннего возраста.

Подтверждаемость диагноза с помощью реакции агглютинации (РА) у госпитализированных больных составляет от 6 до 33%.

В практическом здравоохранении для подтверждения диагноза используется неспецифический гематологический метод, позволяющий выявлять в крови больного характерные для коклюша изменения: лейкоцитоз с лимфоцитозом (или изолированный лимфоцитоз) при нормальной СОЭ.

Диагностика коклюша

Новые возможности лабораторной диагностики коклюша :

1. Полимеразной цепной реакции (ПЦР),

2 Реакции непрямо́й иммунофлюоресценции (РНИФ),

3. Иммуноферментного анализа (ИФА).

Диагностика коклюша

Оптимально –

КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ методов

1. Выявления возбудителя в слизи с задней стенки глотки :
бактериологический – БМ, ПЦР, РНИФ
2. Выявление противокклюшных антител в сыворотке крови (РА, ИФА, РНИФ).

Для диагностики коклюша

на ранних сроках заболевания (предсудорожный период и первая неделя периода судорожного кашля)

бактериологический метод в сочетании с РНИФ для выявления антигенов *V.pertussis* и/или ПЦР;

на поздних сроках – ИФА, РА для выявления антител к возбудителю коклюша, возможно – РНИФ и ПЦР.

Эффективность различных лабораторных методов зависит не только от сроков обследования, но и от возраста и вакцинального статуса больных.

Диагностика коклюша

У детей первого года жизни наибольшую диагностическую значимость приобретают *методы выявления антигенов – ПЦР (58,3%) и БМ (26,3%) – в связи с низкой эффективностью серологических методов исследования.*

У детей старше 1 года, в большинстве случаев привитых от коклюша, *наибольшей эффективностью характеризуются серологические методы (РА).*

**Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от
17 марта 2014 г. № 9 "Об утверждении СП 3.1.2.3162-14
Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2.3162-14
"Профилактика коклюша"**

Для лабораторной диагностики коклюша применяют

**бактериологический, серологический и
молекулярно-генетический методы**

ИССЛЕДОВАНИЯ. Выбор метода определяется сроком заболевания.

Бактериологический метод используют на ранних сроках заболевания в первые 2-3 недели независимо от приема антибиотиков.

Серологический метод (ИФА) необходимо применять с 3-й недели болезни.

По решению лечащего врача проводится повторное исследование крови через 10-14 дней.

Молекулярно-генетический метод используют на любых сроках от начала заболевания, независимо от проведения больному антибиотикотерапии.

Молекулярно-генетический метод наиболее эффективен у детей раннего возраста.

**Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от
17 марта 2014 г. № 9 "Об утверждении СП 3.1.2.3162-14
Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.2.3162-14
"Профилактика коклюша"**

5.2. Взятие и транспортирование патологического материала для лабораторной диагностики коклюша осуществляют в установленном порядке ([приложение 1](#) к настоящим санитарным правилам).

1. Взятие, транспортирование и лабораторное исследование материала на коклюш проводят согласно нормативным документам по лабораторной диагностике коклюша.

2. Исследуемым материалом является *слизь из верхних дыхательных путей, осаждающаяся при кашле на задней стенке глотки, которую забирают натощак или через 2-3 ч после еды, до применения полоскания или других видов лечения.*

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

3. Взятие материала проводится медицинским персоналом лечебно-профилактических и детских организаций, прошедшим **соответствующий инструктаж**. *Материал берут в специально выделенном для этих целей помещении лечебно-профилактических и детских организаций. В отдельных случаях материал может быть взят на дому. Взятие материала осуществляют с использованием шпателя при хорошем освещении с задней стенки глотки, не касаясь тампоном языка и внутренних поверхностей щек и зубов.*
4. Для бактериологической диагностики взятие материала проводится: *заднеглоточным тампоном, "кашлевыми пластинками"*.

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

Заднеглоточным тампоном материал забирают как с диагностической целью, так и по эпидемическим показаниям.

Метод "кашлевых пластинок" используют только с диагностической целью при наличии кашля.

У детей грудного возраста патологический материал забирают заднеглоточным тампоном.

Для взятия материала используют либо тампоны, изготовленные в лаборатории, либо стерильные тампоны из хлопка или вискозы на алюминиевой основе в индивидуальной пластиковой пробирке. *При извлечении из пробирки конец тампона изгибают под тупым углом (110-120°).*

Взятие патологического материала производят *двумя тампонами: сухим и смоченным забуференным физиологическим раствором.* Взятие материала сухим тампоном стимулирует кашель и повышает возможность выделения возбудителя при взятии материала вторым влажным тампоном. *Материал с сухого тампона засевают на чашку Петри с питательной средой обязательно на месте взятия, а с влажного тампона посев производят после доставки тампона в лабораторию.*

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

Взятие материала "кашлевыми пластинками" производят на 2 чашки с питательной средой, поднося во время приступа кашля чашку с питательной средой на расстоянии 10-12 см так, чтобы капельки слизи из дыхательных путей попали на поверхность среды. Чашку в таком положении держат некоторое время (в течение 6-8 кашлевых толчков), при непродолжительном покашливании чашку подносят повторно. На питательную среду не должны попадать слюна, рвотные массы, мокрота. Затем чашку с питательной средой закрывают крышкой и доставляют в лабораторию. Тампоны и посевы с патологическим материалом доставляют в лабораторию в сумках-термосах, обязательно оберегая его от прямых солнечных лучей и сохраняя при температуре 35-37°C, не позднее 2-4 ч после взятия материала.

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

5. Для молекулярно-генетического исследования патологический материал с задней стенки ротоглотки собирают последовательно **двумя сухими стерильными зондами из полистирола с вязкими тампонами**, которые объединяют в одну пробу.

После взятия рабочую часть зонда с тампоном помещают на глубину 1,5 см в стерильную одноразовую пробирку с 0,5 мл транспортной среды или стерильного физиологического раствора (оба тампона помещают в одну пробирку). Рукоятку зонда с тампоном опускают вниз и отламывают, придерживая крышкой пробирки. Пробирку герметично закрывают и маркируют.

Допускается хранение материала в течение трех суток при температуре 2-8° С. Пробирку с патологическим материалом помещают в индивидуальный полиэтиленовый пакет и доставляют в лабораторию в сумках-термосах при температуре 4-8°С, сопроводив документацией.

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

6. Для серологического исследования (ИФА) взятие крови производят обязательно натошак из вены в объеме 3-4 мл или из подушечки третьей фаланги среднего пальца в объеме 0,5-1,0 мл (у детей младшего возраста) в одноразовую пластиковую пробирку без антикоагулянта.

Взятие крови из локтевой вены для получения сыворотки производят одноразовой иглой (диаметр 0,8-1,1 мм) в пробирку без антикоагулянта или одноразовый шприц объемом 5 мл. При заборе в шприц кровь из него аккуратно (без образования пены) переносят в одноразовую стеклянную пробирку. Капиллярную кровь берут из пальца в асептических условиях в пробирки без антикоагулянта, отстаивают при комнатной температуре в течение 30 мин или помещают в термостат при 37°C на 15 мин. Затем проводят центрифугирование в течение 10 мин при 3000 об./мин, после чего сыворотку переносят в стерильные пробирки.

Каждую пробирку маркируют, помещают в полиэтиленовый пакет и доставляют в лабораторию, сопроводив документацией, в сумках-термосах при температуре 4-8°C, исключая в зимнее время ее замораживание.

Сыворотку крови хранят при комнатной температуре в течение 6 часов, при температуре 4-8°C в течение 5 суток, при температуре не выше -20°C - до 3 месяцев. Многократное замораживание/оттаивание сыворотки крови недопустимо.

Требования

к взятию и транспортированию материала для лабораторной диагностики коклюша

7. Исследуемый материал должен быть пронумерован и иметь сопроводительную документацию, где указывается: фамилия, имя, отчество; возраст; адрес обследуемого лица; название учреждения, направляющего материал; дата заболевания; метод лабораторной диагностики; наименование материала и метод его взятия; дата и время взятия материала; цель обследования; кратность обследования; подпись лица, взявшего материал.

8. *Медицинские работники*, осуществляющие взятие патологического материала, *проходят инструктаж не реже 1 раза в год*. Врачи клинической лабораторной диагностики повышают квалификацию на курсах тематического усовершенствования по лабораторной диагностике коклюша.

Методы разделения
биологического материала, их
сущность и значение

Материалом для лабораторного исследования может быть любой биологический субстрат

- Выделения человеческого организма - мокрота, моча, кал, слюна, пот, отделяемое из половых органов.
- Жидкости, получаемые с помощью прокола или откачивания, - кровь, экссудаты и транссудаты, спинномозговая жидкость.
 - Жидкости, получаемые с помощью инструментально-диагностической аппаратуры, - содержимое желудка и двенадцатиперстной кишки, жёлчь, бронхиальное содержимое.
- * Тропонины - высокочувствительные и высокоспецифичные биологические маркёры некроза мышцы сердца, развивающегося при инфаркте миокарда.
 - Ткани органов, получаемые методом биопсии*, - ткани печени, почек, селезёнки, костного мозга; содержимое кист, опухолей, желёз.

Методы посева всех видов
клинического материала
(петля, тампоны, бусы,
шпатель, капельно)

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ И
МЕДИЦИНСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ПРИКАЗ от 19 января 1995 г. N 8

О развитии и совершенствовании деятельности
лабораторий клинической микробиологии
(бактериологии) лечебно-профилактических
учреждений

(В ред. Приказа минздрава РФ от 25.12.1997 n
380)

Методы посева тампоном на питательную среду

Материал - ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ
ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ (НОС,
ГЛОТКА) И УХА

У края чашки тампон, смоченный бульоном, хорошо втирают в среду, после чего делают посев штрихами по всей чашке или сектору. Тем же ватным тампоном делают мазки на предметных стеклах для микроскопического исследования. Посевы помещают в термостат при 37 °С.

Методы посева стеклянным шпателем на питательную среду

Материал - **Проба мокроты**

Мокроту выливают в стерильную чашку Петри, запаянными стеклянными палочками отбирают 2 - 3 комочка, которые промывают в стерильном физиологическом растворе или мясопептонном бульоне (рН 7,2 - 7,4). Рекомендуется также гомогенизация мокроты перед посевом. **В этом случае мокроту отбирают в стеклянную банку с бусами**, в лаборатории мокроту смешивают в соотношении 1:2 с физиологическим раствором или мясопептонным бульоном и встряхивают до разбивания комочков. Из материала делают мазки на двух предметных стеклах для бактериоскопического исследования. Стерильным стеклянным шпателем производят посев двух-трех гнойных комочков или двух-трех капель гомогената, растирая материал по поверхности чашек Петри с питательной средой.

Методы посева петлей на питательную среду

Материал - Моча

перед посевом тщательно перемешивают, набирают полную петлю мочи, наносят в чашку Петри с кровяным или простым агаром, предварительно разделенную на 4 сектора: А, I, II и III. При этом в участке среды сектора А делают **посев 40 штрихами**, равномерно втирая материал по всей поверхности, затем, не беря нового материала, этой же петлей делают посев штрихами на питательную среду в секторе I (3 - 4 штриха), из него в сектор II, из сектора II в сектор III. Каждый раз перед посевом на следующий сектор петля прожигается и материал для посева захватывается из предыдущего сектора. Чашки с посевом ставят в термостат на 24 часа при 37 °С.

Методы капельного посева на питательную среду Для количественного учета микроорганизмов.

1. Материал для исследования (мазки из носа, зева и других полостей, экссудаты, содержимое плевральной полости, промывание воды бронхов и др.) помещают в пробирки с 5 мл агаризованного буфера (диаметр пробирки 20 мм) и тремя стеклянными бусами и подвергают встряхиванию на шутель-аппарате в течение 15 минут.
2. Готовят 10-кратные разведения в том же буфере до соотношения 1:10 и используют для посева материала из носа из 1-й и 3-й пробирок, а для других материалов из 1-й, 3-й, 5-й, 7-й пробирок. Посев осуществляют капельным способом по 1 капле на 4 сектора питательной среды, разлитой на чашку Петри. Через 18 - 24 часа производят количественный учет выросшей микрофлоры, проводят идентификацию и определение антибиотикочувствительности.

Посевы бактериологические

Нанесение (внесение) петлей, пипеткой или др. инструментом содержащего бактерии материала на (в) питательные среды в целях выделения чистой культуры, ее накопления, хранения, а также определения количества и многообразных свойств.

Проводиться

- 1. Для достижения поставленной цели (напр., получения изолированных колоний)**
- 2. Не допустить контаминации посевного материала и питательных сред микробами окружающей среды, а также заражение людей и контаминацию окружающих объектов микробами, находящимися в посевном материале.**

Делают на плотные или жидкие среды, чашки Петри, пробирки, колбы, матрацы, ферментеры и др.

Техника посева на чашки Петри бактериологической петлей

петлю прокалывают на пламени, охлаждают, берут каплю посевного материала, левой рукой приоткрывают один край чашки, вносят внутрь ее петлю, около одного из краев круговыми движениями петли делают площадку и засевают материал на всю поверхность среды параллельными штрихами с интервалом 4 - 5 мм.

Если в материале находится большое количество микробов, то материал аналогичным образом засевают на половине чашки, затем петлю прожигают, чашку поворачивают на 90° и на оставшейся части среды проводят перпендикулярные штрихи петлей, захватывая часть предыдущего посева.

Еще один вариант посева петлей заключается в том, что чашку со средой мысленно делят на 4 - 5 радиальных секторов и одной и той же петлей поочередно делают посевы на всех секторах.

Техника посева шпателем

берут 3 чашки с плотной средой. На середину первой петлей или пипеткой вносят каплю посевного материала и круговыми движениями шпателя или чашки производят сплошной посев. Этим же шпателем, не стерилизуя его, распределяют материал по второй и третьей чашкам. Методика позволяет получить изолированные колонии, но менее экономична, чем остальные.

Техника посева тампоном

первоначально тампоном, поворачивая его разными сторонами, проводят на чашке со средой диагональную дорожку шириной 1-2 см, затем штрихами петли через дорожку засевают среду по обе ее стороны. Во втором варианте один из радиальных секторов чашки засевают тампоном, а затем поочередно остальные секторы - петлей с заходом каждый раз на уже обработанную тампоном поверхность.

Техника посева штампом-репликатором

В лунки основания штампа-репликатора пипеткой наливают по 0,1 мл бульонных или смывов агаровых культур. Крышку штампа накладывают на основание таким образом, чтобы штыри окунулись в лунки с культурой, после чего делают отпечатки (реплики) на поверхности плотной среды одной или нескольких чашек. При такой методике на одной чашке может быть испытано на чувствительность к антибиотикам, ферментацию сахаров или др. свойства одновременно 25 - 50 культур. На отпечатках вырастают однородные по величине и форме участки роста.

Техника посева бляшкой

При определении некоторых св-в иссл. к-р бактерий (гемолиз, токсигенность, лецитиназная активность и др.) на плотных средах производят плотный посев на ограниченном участке среды в виде прямоугольника, овала, круга размерами 0,5 - 0,8x1 - 1,5 см. Между бляшками следует выдерживать расстояние в несколько см. (в зависимости от теста).

Техника посева сплошным газоном

стерильной пипеткой в чашку со средой вносят 1 мл 1 - 2-миллиардной культуры, осторожными круговыми движениями чашки покрывают культурой всю без исключения поверхность среды, чашку слегка наклоняют и пипеткой отсасывают остатки культуры. Полученный сплошной газон подсушивают и используют для тех или иных целей, напр. для нанесения типовых фагов.

Техника посева в пробирки со скошенной средой

прямой посев иссл. материала на скошенную среду делают редко, напр., при выделении микобактерий. Чаще на скошенные среды переносят к-ру из др.пробирки или с колоний на чашках. Для этого обе пробирки держат в левой руке (пробирка с засеянной средой находится ближе к туловищу лаборанта) в наклонном положении между большим и указательным пальцами так, чтобы поверхность среды можно было наблюдать. Петля - в правой руке. Пробки обеих пробирок вынимают, зажимая их между мизинцем и ладонью (гипотенором). В таком положении они остаются до конца посева. Края пробирок обжигают, петлю прокалывают, охлаждают о стенку пробирки, слегка прикасаются ею к росту к-ры на поверхности питательной среды, переносят петлю, не прикасаясь к стенкам, во вторую пробирку и делают сплошной штриховой посев. Петлю прокалывают, ставят в штатив, края пробирок прокалывают и закрывают пробками.

Техника посева в конденсационную воду

Выбирают свежескошенную среду, содержащую на дне каплю конденсационной жидкости. Иссл. к-ру забирают петлей, открывают пробку, обжигают края пробирки, осторожно, не касаясь среды и стенок, вносят в конденсационную воду. У выражение подвижных к-р рост бактерий с конденсационной воды распространяется на влажную поверхность косяка. С верхней части роста бактерий производят пересев в конденсационную воду второй пробирки и т.д. Методика позволяет получить чистую к-ру подвижных бактерий, напр., протей (способ Шукевича), возбудителя столбняка (способ Файлдса).

Техника посева в верхнюю часть скошенной среды: материал или к-ру с соблюдением всех указанных выше технических приемов наносят в виде бляшки на верхнюю часть свежескошенной среды. Пробирки помещают в термостат в вертикальном положении и наблюдают за сползанием к-ры вниз по поверхности скошенной части, к-рое характерно для слизистых штаммов.

Техника посева в толщу плотной среды

к 15-20 мл расплавленной и охлажденной до 48°C плотной питательной среды Добавляют 1 мл иссл. материала или иссл. к-ры (одно или несколько разведений в зависимости от цели). К-ру и среду смешивают энергичными круговыми движениями флакона, выливают в стерильную чашку, распределяют ровным слоем по всей поверхности, дают затвердеть на ровной горизонтальной поверхности и помещают в термостат. Колонии вырастают в толще и на поверхности среды и, если среда прозрачная, могут быть легко подсчитаны. Таким же образом, посев может быть произведен в толщу столбика плотной среды в пробирке.

Техника посева уколом в столбик плотной или полужидкой среды

используют высокий столбик плотной среды, напр., при культивировании анаэробов; столбик полужидкой питательной среды, напр., при изучении сахаролитических св-в на полужидких средах; полускошенные плотные среды, напр., при накоплении и предварительной идентификации выделенной к-ры в трехсахарном агаре. Во всех случаях бактер. петлей с посевным материалом делают прокол среды с поверхности до дна. Пробирку рекомендуют держать дном вверх, чтобы не наступала контаминация среды воздушной микрофлорой.

Посев в жидкие среды в пробирках или флаконах производят обычно стерильным и пастеровскими или градуированными пипетками. В пробирки материал можно засеивать и бактер. петлей.

Информативное исследования на носительство *S. aureus*

Носительство -

сохранение в организме практически здорового человека возбудителей инфекционных болезней и выделение их во внешнюю среду.

У здоровых носителей золотистые стафилококки встречаются в основном в полости носа.

По последним исследованиям

в течение первой недели жизни 90% новорожденных являются назальными (в полости носа) носителями золотистых стафилококков.

В первые 2 года жизни только у 20% детей обнаруживаются золотистые стафилококки в полости носа,

к 4-6 годам они обнаруживаются у 30-50%.

у взрослых колеблется в пределах 12-50%.

Носительство -

Хотя именно полость носа является основным местом обитания золотистого стафилококка, они могут обитать в области промежности, в гортани, в подмышечных областях и на волосистой части кожи головы, в желудочно-кишечном тракте.

Золотистый стафилококк обнаруживается во влагалище у 5-15% женщин после наступления первых менструаций.

Во время менструаций частота носительства возрастает до 30%, что играет важную роль в развитии токсического шока.

Носитель - служит источником инфекции - т.е. «заражать» стафилококком других людей..

Носительство -

бывает

- **транзиторным (преходящим)**
- **постоянным,**

что зависит от особенностей вида, состояния организма и конкурирующей микрофлоры.

У постоянных носителей один вид золотистого стафилококка обнаруживают в течение многих месяцев и лет.

Длительные наблюдения свидетельствуют о том, что приблизительно 20% (12-30%) людей относятся к постоянным носителям, 30% (16-70%) - к транзиторным, а у 50% (16-69%) золотистый стафилококк не обнаруживают.

Носительство -

предрасполагают

**частые контакты с источником инфекции
постоянные нарушения целостности кожных покровов.**

носителей особенно много среди

медицинских работников,

инъекционных наркоманов,

**больных с хронической почечной недостаточностью, нуждающихся в
диализе,**

страдающих сахарным диабетом

хроническими кожными заболеваниями.

Носительство золотистого стафилококка - важный фактор риска стафилококковой инфекции, т.к. при любом снижении иммунитета возможно возникновение стафилококковой инфекции, которая может проявить себя в любом месте.

Носительство стафилококка у медицинского персонала

Стафилококковая инфекция почти «традиционно» считается

инфекцией госпитальной.

Именно в больницах (и других лечебных учреждениях) концентрируются носители стафилококка, как больные, так и внешне здоровые.

Именно там стафилококк «находит» себе новых «хозяев» - ведь практически у любого больного человека есть какое-либо снижение иммунитета, а значит по отношению к микробу такой человек более «гостеприимен».

Больничные условия могут способствовать выживанию самых совершенных с биологической точки зрения стафилококков, т.е. генетически устойчивых к антибиотикам.

Носительство стафилококка у медицинского персонала

Среди больных, поступивших в стационар, 20-30% из них становятся носителями преимущественно больничных видов золотистых стафилококков.

Особенно это касается больных, леченных антибиотиками, больных диабетом, пациентов, находящихся на гемодиализе, иммунодефицитных больных, а также больных инфекционными заболеваниями.

Госпитальные виды золотистых стафилококков ответственны за многие гнойные заболевания и раневые инфекции в клиниках. Так, среди носителей золотистого стафилококка в носоглотке раневая инфекция после операций на сердце возникает чаще, чем среди остальных больных.

Носительство стафилококка у медицинского персонала

Среди медицинского персонала назальное носительство золотистого стафилококка может достигать 35% . Носительство золотистых стафилококков у медицинского персонала способствует распространению этих микроорганизмов в окружающей среде, поэтому носительство золотистых стафилококков среди медицинского персонала **должно быть выявлено и пролечено, что поможет контролировать стафилококковые вспышки в стационаре.**

Как проходит процедура исследования:

1. Из передних отделов носа забирается материал ватным стерильным тампоном
2. Помещается в пробирку с 0,5 мл физиологического раствора хлорида натрия.
3. Тампон ополаскивается в растворе путем встряхивания пробирки в течение 10 минут, затем отжимается о стенки пробирки и удаляется.
4. Пипеткой переносится 0,1 мл исследуемого смыва на чашку Петри с желточно-солевым агаром и тщательно растирается шпателем.
5. Учет выросших колоний производится через 2 суток роста в термостате.
6. Учитывают все выросшие колонии.
7. Однородные колонии изучают на наличие лецитиназной активности, способности коагулировать плазму и разлагать маннит с целью определения их принадлежности к виду *Staphylococcus aureus*.