



Электронно-дидактический материал
практического типа

Тема: Микробиологическая
диагностика энтеробактерий
Специальность: «Лабораторная диагностика»
Составитель: КРУГЛОВА З. Ф.

Содержание ЭДМ

1. Введение
2. Требования ФГОС
3. Цели занятия
4. Актуализация опорных знаний
5. Изучение нового материала
6. Самостоятельная работа
7. Контрольные вопросы с использованием иллюстративного материала
8. Ситуационные задачи
9. Термины и определения
10. Список литературы

Введение

Учебный материал представлен в соответствии с требованиями Федерального государственного образовательного стандарта ПМ 04 «Проведение лабораторный микробиологических исследований» специальности «Лабораторная диагностика» (базовый уровень образования).

Профессиональные компетенции

- ПК 4.1. Готовить рабочее место для проведения лабораторных микробиологических исследований.
- ПК 4.2. Проводить лабораторные микробиологические и иммунологические исследования биологических материалов, проб объектов внешней среды и пищевых продуктов; участвовать в контроле качества.
- ПК 4.3. Регистрировать результаты проведенных исследований.
- ПК. 4.4. Проводить утилизацию отработанного материала, дезинфекцию и стерилизацию использованной лабораторной посуды, инструментария, средств защиты.

Требования ФГОС

Студент должен

Уметь:

- принимать и регистрировать поступающий исследуемый материал;
- проводить подготовку исследуемого материала, питательных среды других ингредиентов для проведения микробиологического исследования;
- проводить исследования с момента взятия материала до окончательного ответа;
- проводить исследование с применением бактериоскопического, бактериологического и серологического методов;
- проводить обеззараживание отработанного материала.

Цель занятия:

Методическая

Активизация познавательной деятельности студентов.
Использование современных средств обучения при изучении профессиональной дисциплины.

Учебная

Познакомиться с основными возбудителями гнойно-воспалительных заболеваний. Микробиологическая характеристика и диагностика инфекции.

Развивающая

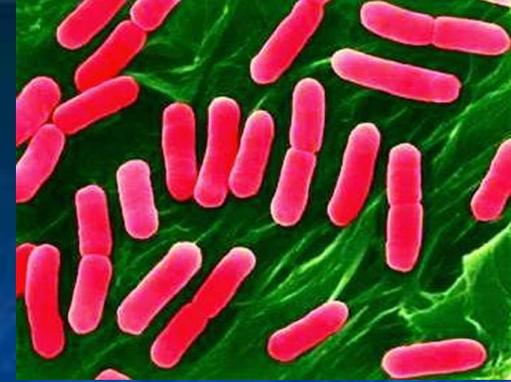
Развитие у студентов интереса к изучаемой дисциплине.

Воспитательная

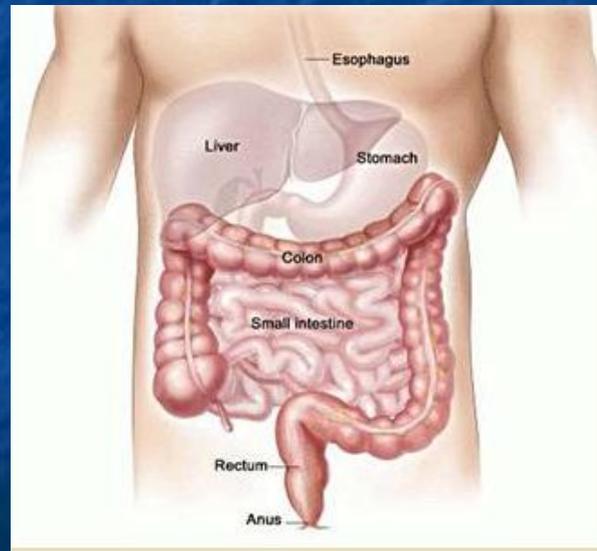
Воспитание у студентов умения логически мыслить.
Анализировать, грамотно формулировать и излагать полученные знания.

Семейство *Enterobacteriaceae*

Энтеробактерии (лат. *Enterobacteriaceae*) — семейство грамотрицательных палочкообразных спор не образующих бактерий, факультативные анаэробы.



Семейство энтеробактерий включает большое число представителей нормальной микрофлоры человеческого организма и, в то же время, значительное количество патогенных микробов.



Энтеробактерии — возбудители заболеваний

Энтеробактерии являются причиной большого числа различных заболеваний человека. Ниже перечислены лишь некоторые:

Escherichia coli (кишечная палочка) — ряд патогенных серотипов могут быть причиной различных инфекционных заболеваний, протекающих с интоксикацией, лихорадкой, обычно с поражением желудочно-кишечного тракта (различные диареи, в том числе диарею путешественников, геморрагический колит, гемолитико-уремического синдром и другие), реже — мочевыводящих, желчевыводящих путей, других органов или с развитием сепсиса энтерогеморрагическая кишечная палочка была причиной кишечной инфекции 2011 года со смертельными исходами в Германии и других странах Европы

Klebsiella pneumoniae и *klebsiella oxytoca* — возбудители пневмонии, заболеваний мочевыводящих путей, мозговых оболочек, суставов, глаз, а также бактериемии и септикопиемии

Klebsiella ozaenae — возбудитель озены — зловонного насморка, характеризующимся атрофическим процессом слизистой оболочки и костных стенок полости носа

Klebsiella rhinoscleromatis — возбудитель склеромы, гранулематозного поражения слизистой оболочки носа и верхних дыхательных путей

Энтеробактерии — возбудители заболеваний

Salmonella enterica enterica серотип *typhi* — возбудитель брюшного тифа

Salmonella enterica enterica серотипы *paratyphi A*, *paratyphi B*, *paratyphi C*

Возбудители паратифов А, В и С.

Salmonella enterica, в том числе серотипы *Salmonella typhimurium* и *Salmonella enteritidis* и многие другие (но не перечисленные выше *typhi* и *paratyphi A*, *B* и *C*), — возбудители сальмонеллеза

Shigella dysenteriae, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei* — возбудители дизентерии

Yersinia enterocolitica — возбудитель иерсиниоза (острого инфекционного заболевания, преимущественно желудочно-кишечного тракта)

Yersinia pseudotuberculosis — возбудитель псевдотуберкулеза

Yersinia pestis — возбудитель чумы

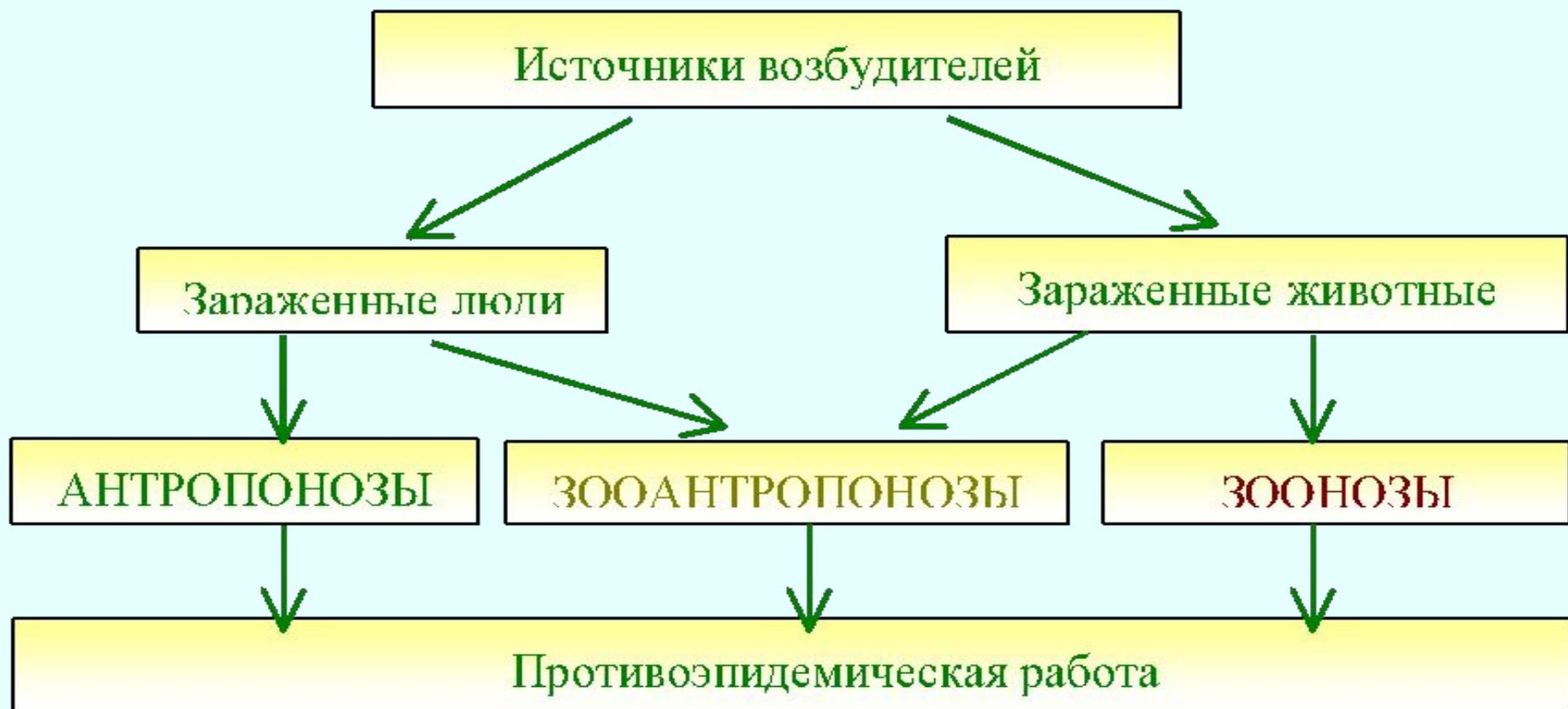
Энтеробактерии — возбудители заболеваний

Энтеробактерии — представители родов *Citrobacter*, *Ewardsiella*, *Enterobacter*, *Echerichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Yersinia* могут вызывать инфекции мочеполовой сферы (в том числе циститы, пиелонефриты, острые и хронические простатиты, эпидидимиты и орхиты и т.п.).

Энтеробактерии могут быть причиной вагинитов (воспаления влагалища), цервицитах (воспаления канала шейки матки), других воспалительных гинекологических заболеваниях.

Энтеробактерии во влагалище обычно выявляются у пациенток, не соблюдающих правила личной гигиены.

Эпидемиология.





Антропонозы — это инфекционные заболевания, при которых источником инфекции может быть только **человек.**

Антропонозы

Брюшной тиф

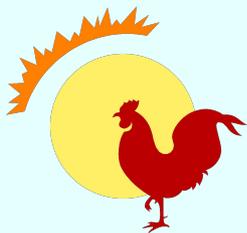
Паратиф А

Эшерихиоз

Шигеллезы

Холера

Вирусные гепатиты А, Е



Зооантропонозы — это инфекционные заболевания, при которых источником инфекции могут быть как **человек** так и **животные** или **птицы**.

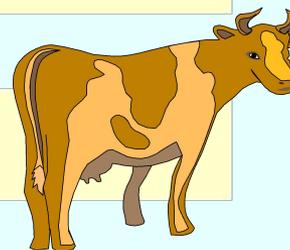


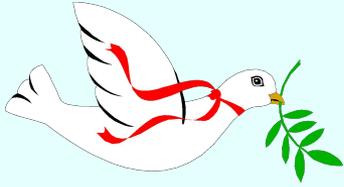
Зооантропонозы

Сальмонеллезы

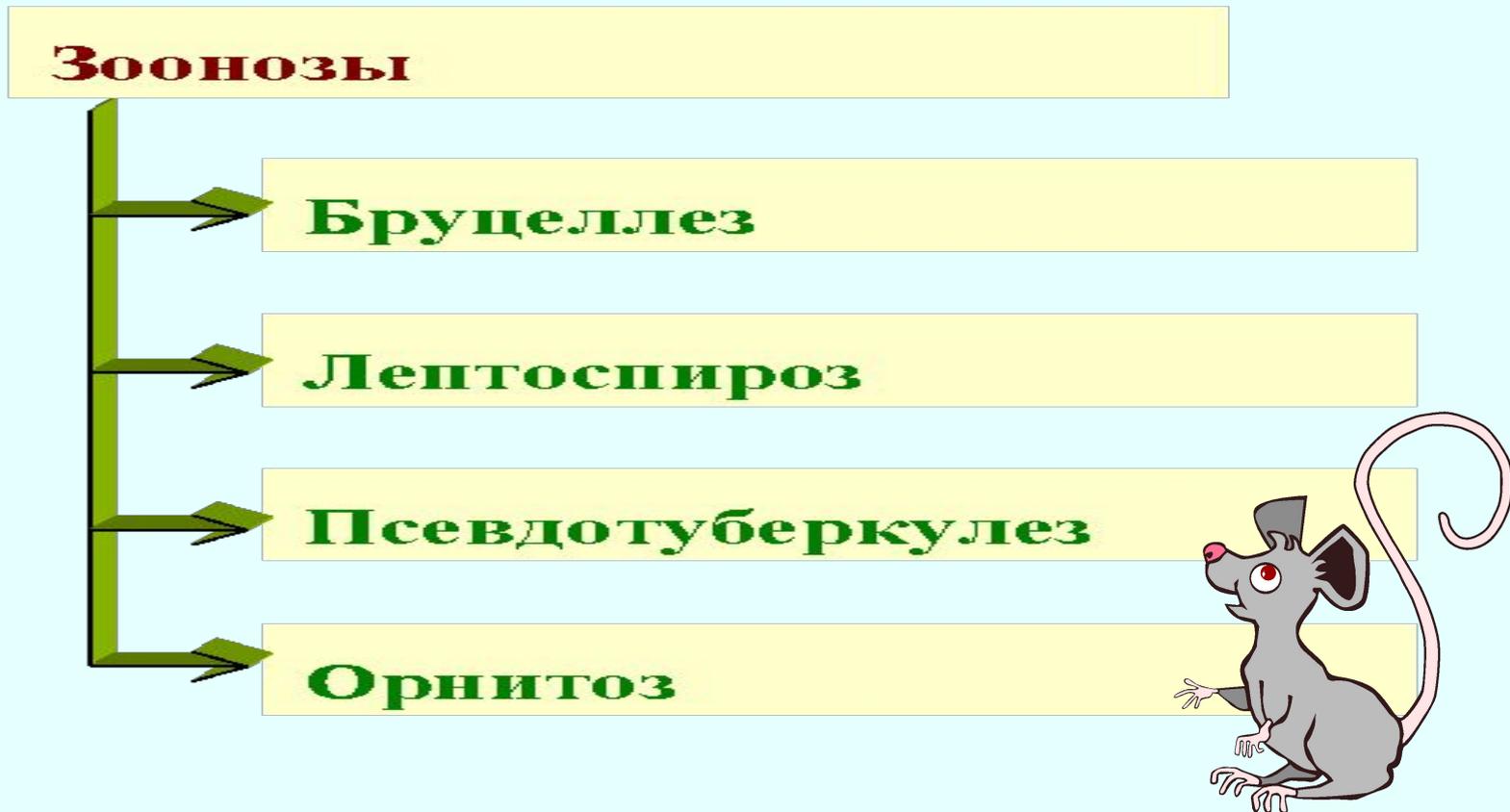
Паратиф
В

Иерсиниоз





Зоонозы — это инфекционные заболевания, при которых источником инфекции могут быть только **животные** или **птицы**.



Причины распространения кишечных инфекций

Условия и факторы, способствующие распространению кишечных инфекций, многообразны. Ими являются как невыявленные источники возбудителей инфекции, так и множественные **пути и факторы передачи возбудителей**.

Зоозоозы и **зооантропоозы** зависят в своем распространении: от *условий* получения продуктов *животного* происхождения, т.е. от организации вскармливания и содержания животных и птицы, от *условий выращивания и хранения* продуктов *растительного* происхождения, от *доступности* продовольственных складов и овощных баз для синантропных **рызунов**.



Механизм передачи возбудителей кишечных инфекций — **ФЕКАЛЬНО-ОРАЛЬНЫЙ.**

Установлено, что *уровень заболеваемости* острыми кишечными инфекциями и различные *характеристики проявлений* эпидемического процесса во многом зависят от конкретных **путей реализации** механизма передачи.

Ряд закономерно повторяющихся признаков позволяет выделять черты **водных, пищевых** и **контактно-бытовых** вспышек острых кишечных инфекций.

Знание этих признаков облегчает расшифровку механизма возникновения вспышек. Определяющая роль путей и факторов передачи в распространении кишечных инфекций делает их главным объектом в организации и проведении профилактических и противоэпидемических мероприятий.

Механизм передачи возбудителей кишечных инфекций — ФЕКАЛЬНО-ОРАЛЬНЫЙ

ПУТИ (ФАКТОРЫ) ПЕРЕДАЧИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

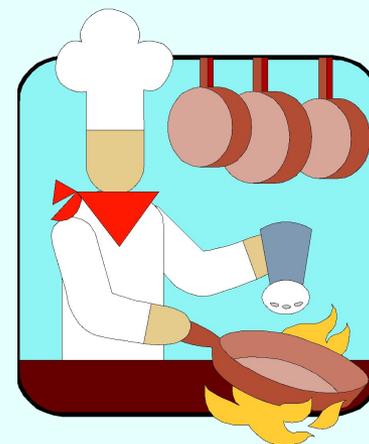
Водный



ПИЩЕВОЙ



КОНТАКТНО-БЫТОВОЙ



МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕРЕЗ ВОДУ

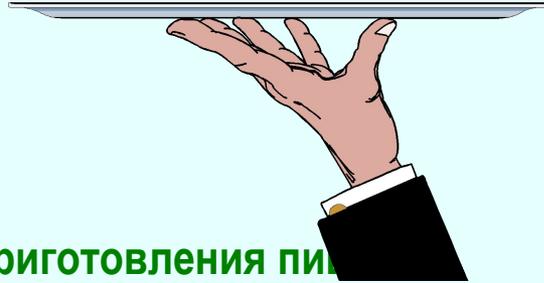
ВОДНЫЙ ПУТЬ

- Нарушение очистки сточных вод
- Небеззараженная питьевая вода
- Сброс небеззараженных сточных вод
- Аварии канализации и водопровода



МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕРЕЗ ПИЩУ

ПИЩЕВОЙ ПУТЬ



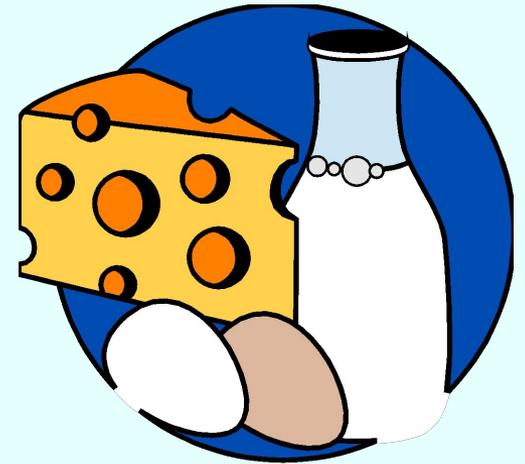
Нарушение технологии приготовления пищи



Приготовление пищи больным или бактериовыделителем



Использование зараженных продуктов



МЕХАНИЗМ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ЧЕРЕЗ ПРЕДМЕТЫ БЫТОВОЙ ОБСТАНОВКИ

КОНТАКТНО-БЫТОВОЙ ПУТЬ

**Фекальное загрязнение предметов
при нарушении санитарного режима**

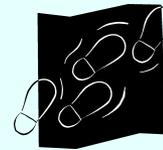


ПРОЯВЛЕНИЕ ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА



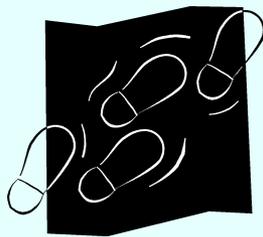
КОНТАКТНО-БЫТОВОЙ ПУТЬ ПЕРЕДАЧИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

СПОРАДИЧЕСКАЯ ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ



ВСПЫШКИ (РЕДКО)

ПОСТЕПЕННОЕ УВЕЛИЧЕНИЕ ЧИСЛА БОЛЬНЫХ



ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭПИДЕМИЧЕСКОГО ПРОЦЕССА ПРИ РАЗНЫХ ПУТЯХ ПЕРЕДАЧИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

Водный



Полиэтиологичность:

- ГАСТ. ЭНТЕР.
- ШИГЕЛЛЕЗЫ
- БРЮШНОЙ ТИФ, ПАРАТИФЫ
- ГЕПАТИТЫ: ни А, ни В
А,

РАЗНЫЕ СЕРОВАРЫ,
ФАГОВАРЫ, БИОВАРЫ
ВОЗБУДИТЕЛЕЙ,
АТИПИЧНЫЕ
ВАРИАНТЫ БАКТЕРИЙ

Пищевой



1 СЕРОВАР
1 ФАГОВАР
1 БИОВАР
ВОЗБУДИТЕЛЯ

Контактно-бытовой



Чаще
1 вариант
возбудителя

ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ И ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ ПРИ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Наибольшее значение имеет **санитарный контроль** за эпидемиологически значимыми объектами: канализационной сетью и очистными сооружениями, источниками водоснабжения и водопроводной сетью. В сфере особого внимания находятся предприятия, связанные с заготовкой, хранением, приготовлением и реализацией пищевых продуктов (общественное питание, торговля), а также дошкольные детские учреждения, учебные и лечебные учреждения.

Планирование профилактической работы основано на учете миграции и возрастной структуры населения, рождаемости, доли многодетных семей и детей, посещающих дошкольные детские учреждения.

При **эпидемиологическом надзоре** за кишечными инфекциями проводится **анализ** и устанавливается **связь** заболеваемости с санитарно-гигиеническими условиями, с качеством проводимых мероприятий.

ПРОФИЛАКТИКА КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ



При всем многообразии инфекций и несхожести некоторых черт эпидемиологии главным в работе является **комплекс санитарно-гигиенических мер**, направленных на **устранение** путей и факторов передачи.

Противоэпидемические мероприятия в конкретных очагах **антропонозных кишечных инфекций** на врачебном участке предусматривают весь комплекс мер, направленных на:

- на **устранение** путей и факторов передачи возбудителей;
- на **обезвреживание** и **изоляцию** источников инфекции;
- на **защиту**, **предупреждение** и **раннее выявление** болезни у лиц, общавшихся с больным.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ И ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

1. Устранение путей и факторов передачи возбудителей.
2. Выявление источников инфекции.
3. Работа с восприимчивыми лицами.



УСТРАНЕНИЕ ПУТЕЙ И ФАКТОРОВ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ

ВОДНЫЙ



**ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ
СТОЧНЫХ ВОД**

**ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ
ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ**



ПИЩЕВОЙ



**КОНТРОЛЬ ЗА ЗДОРОВЬЕМ
ПИЩЕВИКОВ**

**СОБЛЮДЕНИЕ ТЕХНОЛОГИИ
ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПИЩИ**

**СОБЛЮДЕНИЕ УСЛОВИЙ
ХРАНЕНИЯ ПРОДУКТОВ**

**СОБЛЮДЕНИЕ СРОКОВ
РЕАЛИЗАЦИИ ПРОДУКТОВ**

КОНТАКТНО- БЫТОВОЙ



**САНИТАРНОЕ
СОДЕРЖАНИЕ
ТУАЛЕТОВ**

**САНИТАРНЫЕ
УСЛОВИЯ
В ЖИЛИЩЕ**

**БОРЬБА
С МУХАМИ**



Выявление источников инфекции



Больные (бактериовыделители)

- 4 **Обследование пищевиков по эпидемическим показателям.**
- 4 **Контроль за больными острыми кишечными инфекциями.**
- 4 **Контроль за выделителями возбудителей.**

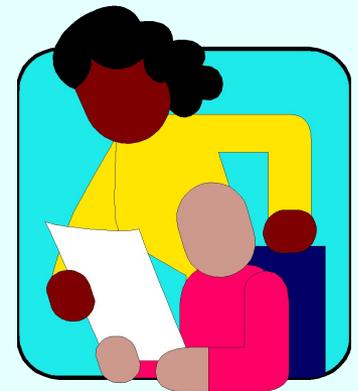


РАБОТА С ВОСПРИИМЧИВЫМИ ЛИЦАМИ



САНИТАРНОЕ ПРОСВЕЩЕНИЕ

- Привитие гигиенических навыков населению
- Гигиенический режим при приготовлении пищи
- Раннее обращение к врачу при болезни



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

- 4 МЕРЫ В ОТНОШЕНИИ БОЛЬНОГО.
- 4 МЕРЫ ПО ПРЕРЫВАНИЮ МЕХАНИЗМА ПЕРЕДАЧИ.
- 4 РАБОТА С КОНТАКТНЫМИ ЛИЦАМИ.



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В ОЧАГЕ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

МЕРЫ В ОТНОШЕНИИ БОЛЬНОГО



Госпитализация

Клинические показания

- ⇒ Тяжесть течения
- ⇒ Сопутствующие заболевания

Эпидемиологические показания

- ⇒ Профессиональные группы, связанные с пищевыми продуктами
- ⇒ Персонал дошкольных детских учреждений
- ⇒ Лица, живущие в общежитии

Изоляция дома

1. Нетяжелые формы болезни
2. Хорошие санитарно-бытовые условия
3. Санитарная грамотность и культура больного



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В ОЧАГЕ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

МЕРЫ ПО ПЕРЕРЫВУ МЕХАНИЗМА ПЕРЕДАЧИ



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ В ОЧАГЕ АНТРОПОНОЗНЫХ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

РАБОТА С КОНТАКТНЫМИ ЛИЦАМИ

МЕРЫ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Санпросвет. работа по профилактике острых кишечных инфекций

Наблюдение в течении инкубации

- Термометрия
- Пальпация живота
- Осмотр стула

Бактериологическое исследование кала у «пищевиков»

Сообщение по месту работы

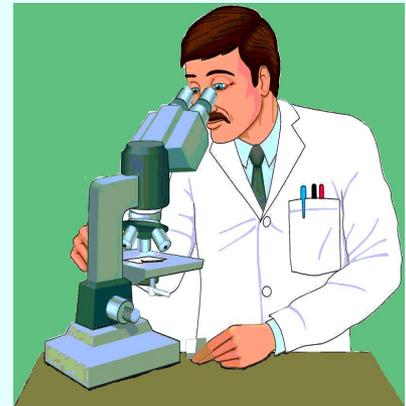


ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

САНИТАРНЫЙ КОНТРОЛЬ

ЗА ЭПИДЕМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ОБЪЕКТАМИ

- Источники водоснабжения
- Очистные сооружения
- Водопроводная сеть
- Канализационная сеть
- Предприятия общественного питания
- Предприятия торговли пищевыми продуктами
-

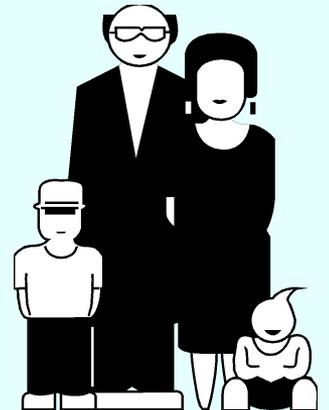


ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

ОЦЕНКА

СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

- Рождаемость
- Возрастная структура населения
- Доля многодетных семей
- Доля детей, посещающих дошкольные детские учреждения
- Плотность населения
- Миграция



ПРОФИЛАКТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ НАДЗОР

- Связь заболеваемости и санитарно-гигиенических условий
- Качество и эффективность мероприятий
- Прогноз заболеваемости



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКАЯ РАБОТА ПРИ ЗООАНТРОПОЗНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

Исполнители

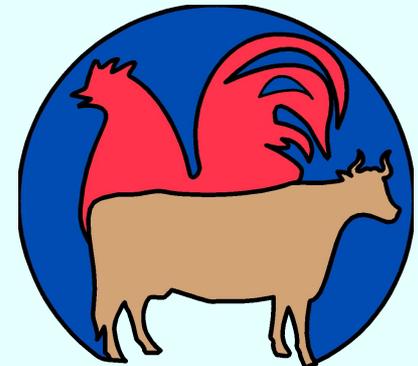
ЛЕЧЕБНАЯ СЛУЖБА



**САНИТАРНО-
ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ
СЛУЖБА**



**ВЕТЕРИНАРНО-
САНИТАРНАЯ СЛУЖБА**



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКАЯ РАБОТА ПРИ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ



ЛЕЧЕБНАЯ СЛУЖБА



РАБОТА В ЭПИДЕМИЧЕСКОМ ОЧАГЕ



- ВЫЯВЛЕНИЕ БОЛЬНЫХ
- ГОСПИТАЛИЗАЦИЯ ПО КЛИНИЧЕСКИМ И ЭПИДЕМИЧЕСКИМ ПОКАЗАНИЯМ
- ОРГАНИЗАЦИЯ ТЕКУЩЕЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ
- ЗАБОР МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
- НАБЛЮДЕНИЕ И ОБСЛЕДОВАНИЕ ОБЩАВШИХСЯ ЛИЦ

ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКАЯ РАБОТА ПРИ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

ОБЪЕКТЫ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ

ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ОЧАГ

ВОДОИСТОЧНИКИ

ПРЕДПРИЯТИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И
ОБЩЕСТВЕННОГО ПИТАНИЯ, ОВОЩЕХРАНИЛИЩА И ДР.



ПРОТИВОЭПИДЕМИЧЕСКАЯ РАБОТА ПРИ ЗООАНТРОПОНОЗНЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ

РАБОТА САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ В ЭПИДЕМИЧЕСКОМ ОЧАГЕ



1. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБСЛЕДОВАНИЕ ОЧАГА
2. ВЫЯВЛЕНИЕ ИСТОЧНИКОВ, ФАКТОРОВ ПЕРЕДАЧИ
3. ИССЛЕДОВАНИЕ ПОДОЗРИТЕЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ
4. НАБЛЮДЕНИЕ И ОБСЛЕДОВАНИЕ ОБЩАВШИХСЯ ЛИЦ
5. ОРГАНИЗАЦИЯ ЗАКЛЮЧИТЕЛЬНОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ

РАБОТА САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ НА ПРЕДПРИЯТИЯХ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ОБЩЕСТВЕННОГО ПИТАНИЯ, ОВОЩЕХРАНИЛИЩАХ И ДР.



САНИТАРНО-ПРОСВЕТИТЕЛЬСКАЯ РАБОТА

КОНТРОЛЬ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА

БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ПРОДУКТОВ И ВОДЫ

ЗАЩИТА ПРОДУКТОВ ОТ ГРЫЗУНОВ



РАБОТА САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ С ВОДОИСТОЧНИКАМИ



КОНТРОЛЬ СОДЕРЖАНИЯ



Систематика энтеробактерий

Энтеробактерии (*Enterobacteriaceae*) входят в порядок энтеробактерии (лат. *Enterobacteriales*), класс гамма-протеобактерии (лат. γ *proteobacteria*), тип протеобактерии (лат. *Proteobacteria*), царство бактерии.

Семейство энтеробактерии включает в свой состав следующие роды: *Alishewanella*, *Alterococcus*, *Aquamonas*, *Aranicola*, *Arsenophonus*, *Averyella*, *Azotivirga*, *Brenneria*, *Buchnera*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Cedecea*, *Citrobacter* (цитробактер), *Dickeya*, *Edwardsiella*, *Enterobacter* (энтеробактер), *Erwinia*, *Escherichia* (эшерихии), *Ewingella*, *Grimontella*, *Hafnia*, *Klebsiella* (клебсиеллы), *Kluuyvera*, *Leclercia*, *Leminorella*, *Moellerella*, *Morganella*, *Obesumbacterium*, *Pantoea*, *Pectobacterium*, *Photorhabdus*, *Plesiomonas*, *Pragia*, *Proteus* (протей), *Providencia*, *Rahnella*, *Raoultella*, *Salmonella* (сальмонеллы), *Samsonia*, *Serratia*, *Shewanella*, *Shigella* (шигеллы), *Sodalis*, *Tatumella*, *Thorsellia*, *Tiedjeia*, *Trabulsiella*, *Wigglesworthia*, *Xanthomonas*, *Xenorhabdus*, *Xylella*, *Yersinia* (иерсинии), *Yokenella*. Роды *Blochmannia* и *Phlomobacter* рассматриваются как кандидаты в семейство *Enterobacteriaceae*.

- **Бактериологическую диагностику ОКИ, вызванных эшерихиями проводят в соответствии:**
- **1). Приказом МЗ СССР № 475 от 16.08.89 года « О мерах по дальнейшему совершенствованию профилактики заболеваемости ОКИ»**
- **2). МУ «По микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериям» - 1984г. Москва**
- **3). СП 3.1.1.1117-02 г. «Профилактика острых кишечных инфекций».**
- **4). МУ 4.2.2039-05 г. «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».**

- **Лабораторное исследование включает:**
- **1) Бактериологический метод**
- **2) Серологический метод**
- **Бактериологическое исследование направлено на выделение и типирование возбудителя в посевах кала и других биологических секретах и экскретах организма больного.**
- **2) Серологическое исследование проводится с применением специфических диагностикумов в различных реакциях (РА, РНГА, ИФА и т.п.)**

Материал для лабораторного исследования

Бактериологическому исследованию на наличие энтеробактерий (ЭН) подвергают различный материал. При сборе материала необходимо учитывать клинические проявления заболевания, его сроки, предполагаемый диагноз, преимущественную локализацию. Основным материалом при исследовании служит **отделяемое кишечника**. Однако ЭН вызывают заболевания и вне кишечной локализации. Следовательно, материалом для бактериологического исследования могут быть не только испражнения, но и кровь, отделяемое зева, носа, желчь, пунктаты, соскобы, гной, экссудат, отделяемое мочеполовых органов, грудное молоко, биоптаты и др.

Материал для лабораторного исследования

Материал собирают в стерильную посуду, которую снабжают наклейкой с указанием Ф.И.О. обследуемого и наименованием исследуемого материала.

В сопроводительном документе указывают учреждение, направляющее материал, анкетные данные обследуемого: Ф.И.О., возраст, место работы, должность, дату заболевания, диагноз или другие показания для обследования, наименование материала, час взятия пробы, цель исследования, первичность или повторность исследования (при повторных исследованиях необходимо указать дату и результат первичного обследования), фамилию и должность лица направляющего материал.

Материал для лабораторного исследования

Судно до сбора материала дезинфицируют растворами хлора с последующей тщательной отмывкой горячей водой до полного удаления хлора. Испражнения собирают после дефекации из судна, горшка, специального лотка, с пеленки с помощью стеклянной стерильной палочки, проволочной петли или деревянного шпателя. При наличии в испражнении слизи, хлопьев, гноя их следует включить в отбираемую пробу.

С целью обнаружения сальмонелл для посева следует брать материал из последней порции испражнений, происходящих из верхних отделов кишечника.

Материал для лабораторного исследования

Кровь на исследование берут одноразовым шприцом с соблюдением правил асептики из локтевой вены в объеме 2-20 мл (в зависимости от срока заболевания, тяжести клинического течения и возраста больного). Взятую кровь тут же засекают во флакон или колбу с питательной средой (10-20% желчный бульон, среду Рапопорт, в соотношении 1:10 с целью уменьшения бактерицидного/бактериостатического действия крови на возбудитель заболевания).



Материал для лабораторного исследования

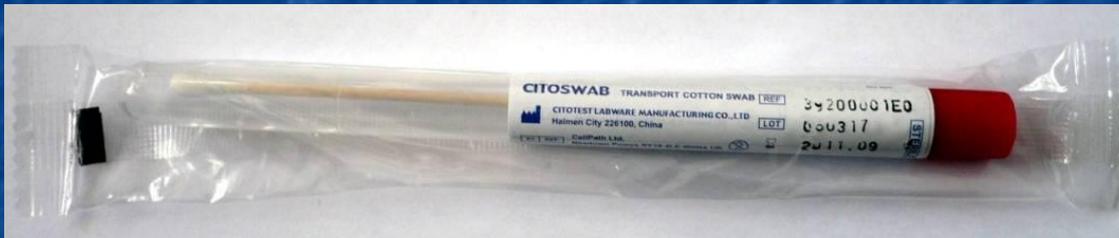
Желчь (дуоденальное содержимое). Возможность проведения дуоденального зондирования определяет врач - клиницист. В отдельные стерильные пробирки собирают порции. А, В, С

Моча. После обмывания наружных половых органов и спуска первой порции мочи собирают 20-30 мл. мочи в стерильную баночку (флакон). Доставленную в лабораторию мочу перед посевом центрифугируют и засевают осадок или используют для посева нативную мочу.

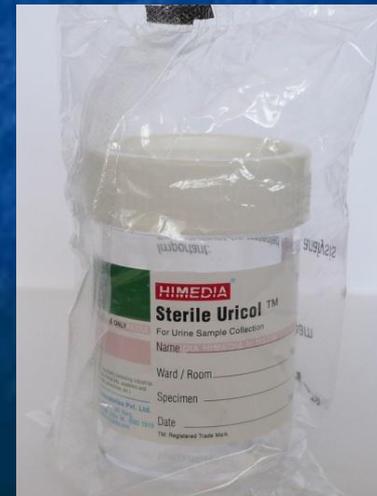


Материал для лабораторного исследования

- Гной, пунктаты органов, экссудат получают с помощью стерильного шприца или зонд-тампона
- Слизь из зева, носа, уха забирают с зонд-тампона.



- Мокроту собирают натошак после туалета рта.



Материал для лабораторного исследования

- **Спинномозговую жидкость** получают при люмбальной пункции в объеме 3-5 мл и помещают в стерильную пробирку. При транспортировке материала предохраняют его от охлаждения.
- **Рвотные массы и промывные воды желудка** берут для исследования в объеме до 100 мл.
- **Операционный материал** (кусочки органов и тканей, извлекаемые при оперативных вмешательствах, содержимое удаленного червеобразного отростка, желчного и мочевого пузыря и др.) помещают в стерильные стеклянные баночки или пробирки, отдельные для каждого вида материала и доставляют в лабораторию.



Материал для лабораторного исследования

Секционный материал берут на месте вскрытия, соблюдая правила асептики. В лабораторию направляют участки кишок длиной 8-10 см., с целью получения, которых на кишечник накладывают двойные лигатуры и разрезают между ними. Кусочки тканей и органов вырезают из глубины стерильным скальпелем или ножницами после предварительного обжигания поверхности. Каждый образец органа, ткани и т.д. помещают отдельно в стерильную посуду.

Посев испражнений, доставленных без консерванта

Взятие материала из судна
(испражнения, включая патологические примеси)

Транспортировка
(не более 2 часов)

Посев

На плотные среды

Суспендирование в физиологическом растворе в соотношении 1: 10 и посев 0,1 мл по методу секторных посевов некалиброванной петлей.

На жидкие обогатительные среды

Суспендирование в среде в соотношении 1:5

Посев испражнений, доставленных в

консерванте
Взятие материала
из судна или ректальным тампоном
(петлей)

Суспендирование в консерванте

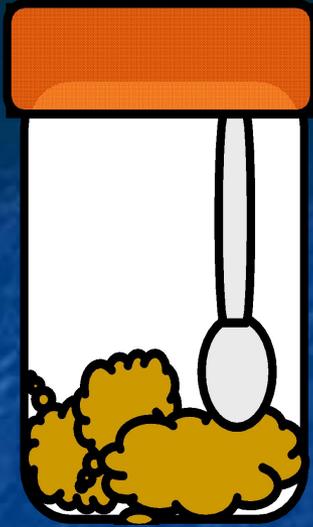
Транспортировка

Посев

На плотные среды
Посев 0,1 мл по методу секторных посевов некалиброванной петлей

На жидкие обогатительные среды
Консервант смешивают со средой из расчета 1:5. Тампон погружают в среду.

I Этап



Испражнения, кровь, рвотные массы, желчь, дуоденальное содержимое, моча, секционный материал.



Э

Л

П

Инкубация 18 – 24 часа

Среда Эндо (Мак Конки)

- 1) Дифференцирующие компоненты: ЛАКТОЗА
- 2) Индикатор: основной фуксин
- 3) Цвет колоний в зависимости от ферментации углеводов:

«+» **красный с металлическим блеском, красный**

«-» бесцветный

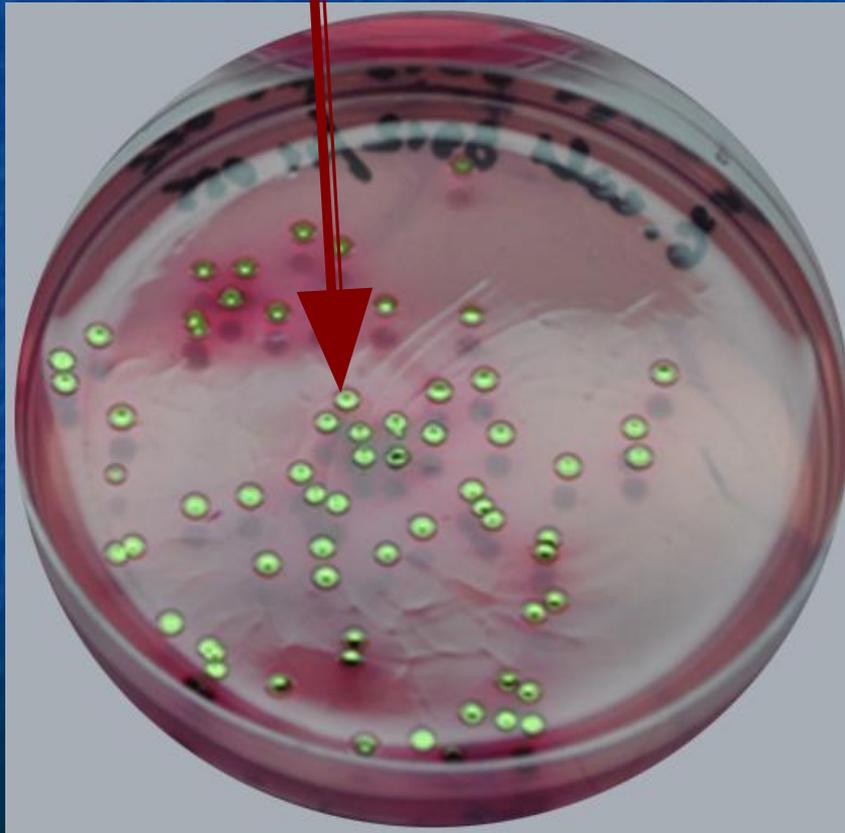


Среда Эндо (Мак Конки)

Цвет колоний в зависимости от ферментации углеводов:

«+» **красный с металлическим блеском, красный**

«-» **бесцветный**



Среда Левина

- 1) Дифференцирующие компоненты: ЛАКТОЗА и САХАРОЗА
- 2) Индикатор: метиленовый синий
- 3) Цвет колоний в зависимости от ферментации углеводов:

«+» темно-синий «-» бесцветный



Среда Плоскирева

- 1) Дифференцирующие компоненты: ЛАКТОЗА
- 2) Индикатор: нейтральный красный
- 3) Цвет колоний в зависимости от ферментации углеводов:
«+» **красный, розовый** «-» бесцветный



Среда Висмут-сульфитный агар

- 1) Дифференцирующие компоненты: ГЛЮКОЗА, СУЛЬФАТ ВИСМУТА
- 2) Индикатор: сульфат железа
- 3) Цвет колоний в зависимости от образования сероводорода:

«+» черный, зеленый «-» бесцветный

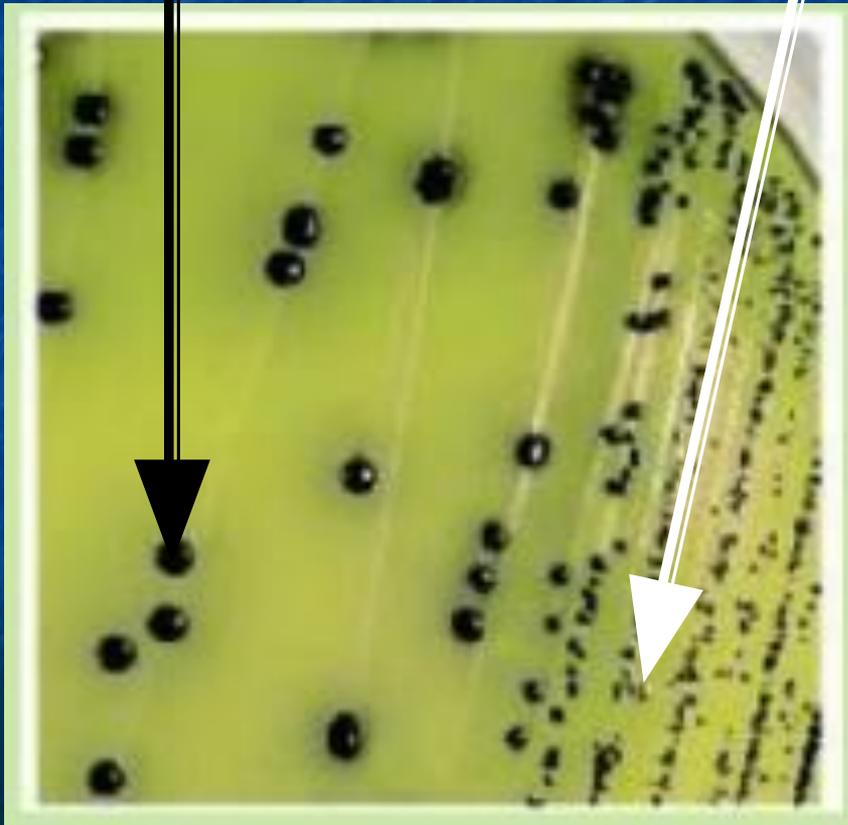
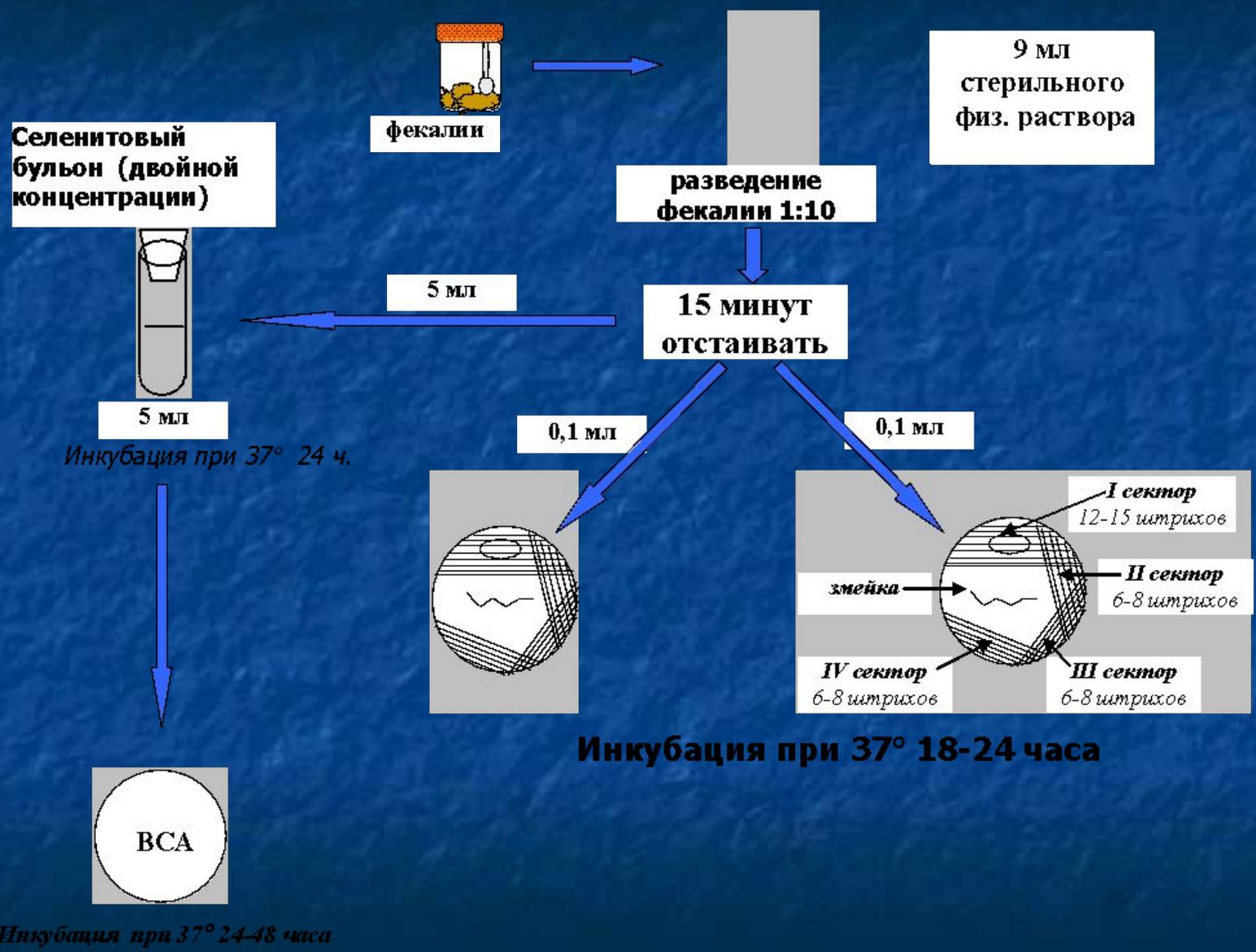




Схема посева нативного материала от больных острыми кишечными инфекциями

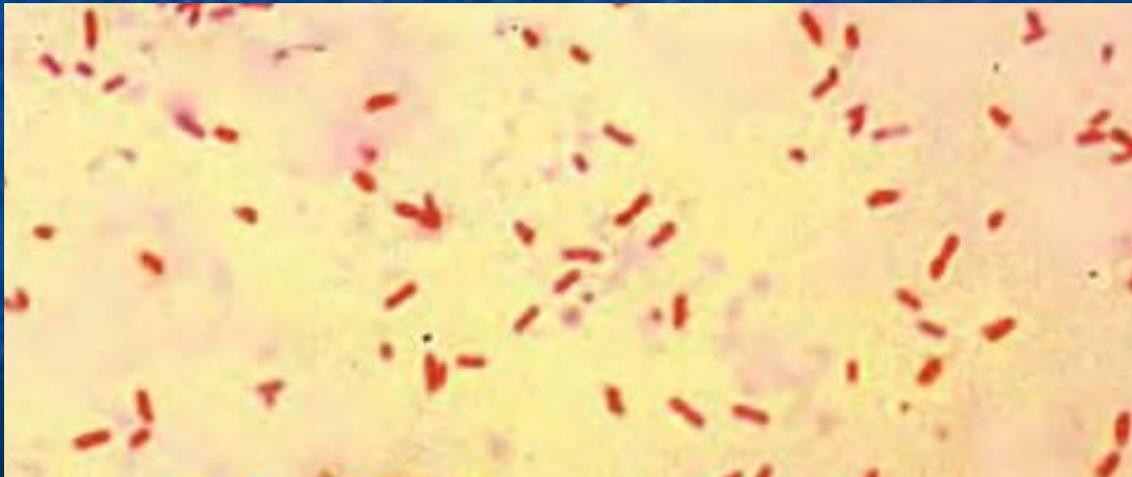


Расчетная таблица для определения количества бактерий в 1 г испражнений при применении метода калиброванной петли

Количество бактерий на секторах				Количество бактерий в 1 мл	Количество бактерий в 1 грамме фекалий
первом	втором	третьем	четвертом		
1-6	Нет роста	Нет роста	Нет роста	1.000	10.000
8-20	Нет роста	Нет роста	Нет роста	1.000	10.000
21-30	Нет роста	Нет роста	Нет роста	5.000	50.000
31-60	Нет роста	Нет роста	Нет роста	10.000	100.000
70-80	Нет роста	Нет роста	Нет роста	50.000	500.000
100-150	5-10	Нет роста	Нет роста	100.000	1.000.000
Очень большое количество	20-30	Нет роста	Нет роста	500.000	5.000.000
То же	40-60	Нет роста	Нет роста	1.000.000	10.000.000
То же	100-140	10-20	Нет роста	5.000.000	50.000.000
То же	Очень большое количество	30-40	Нет роста	10.000.000	100.000.000
То же	То же	60-80	Единичные	50.000.000	500.000.000
То же	То же	80-140	От единичных до 25	100.000.000	1.000.000.000

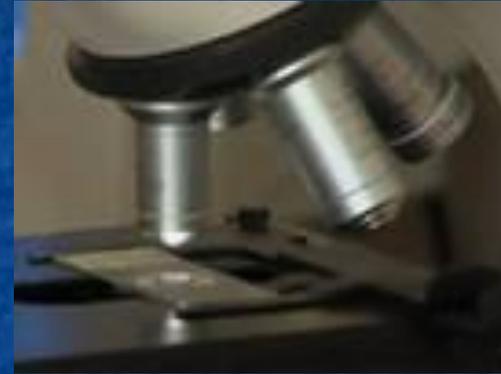
Микробиологические методы идентификации микробов семейства *Enterobacteriaceae*

- 1) грамотрицательные
- 2) не образуют спор
- 3) каталазоположительные
- 4) оксидазоотрицательные
- 5) ферментируют глюкозу (O/F тест)
- 5) восстанавливают нитраты в нитриты

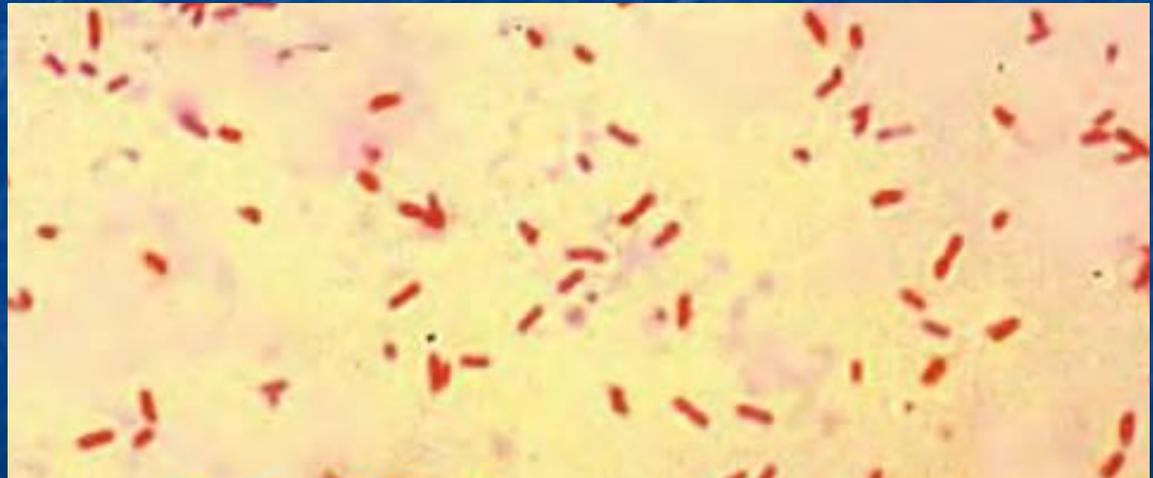


Ход исследования: 3 этап

Микроскопия



Окраска по Граму



Гр- палочки расположенные хаотично

Ход исследования: 3 этап

Проба на каталазу

Энтеробактерии каталазоположительные

Проведение теста. На предметное стекло наносят исследуемую культуру. Затем наносят 3% раствор перекиси водорода так, чтобы она покрывала поверхность культуры тонким слоем.

Появление пузырьков газа - в результате расщепления перекиси водорода под

действием каталазы
пузырьков

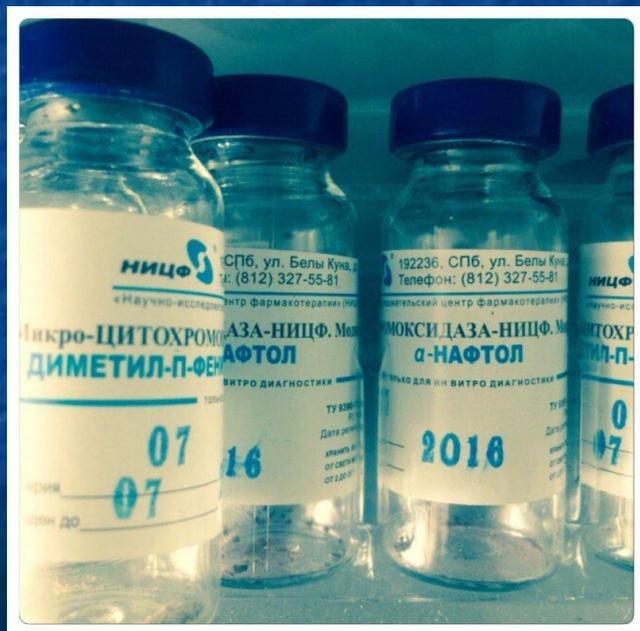
Отсутствие



Проба на цитохромоксидазу

Энтеробактерии оксидазоотрицательные

При добавлении к культуре α -нафтола NN диметил-п-фенилендиамина с реактивом образуется индофенол и через 10-20 мин в **пурпурно-красный** цвет (полоски тест-«ОКСИ» синее окрашивание)



O/F тест (тест окисления/ферментации)

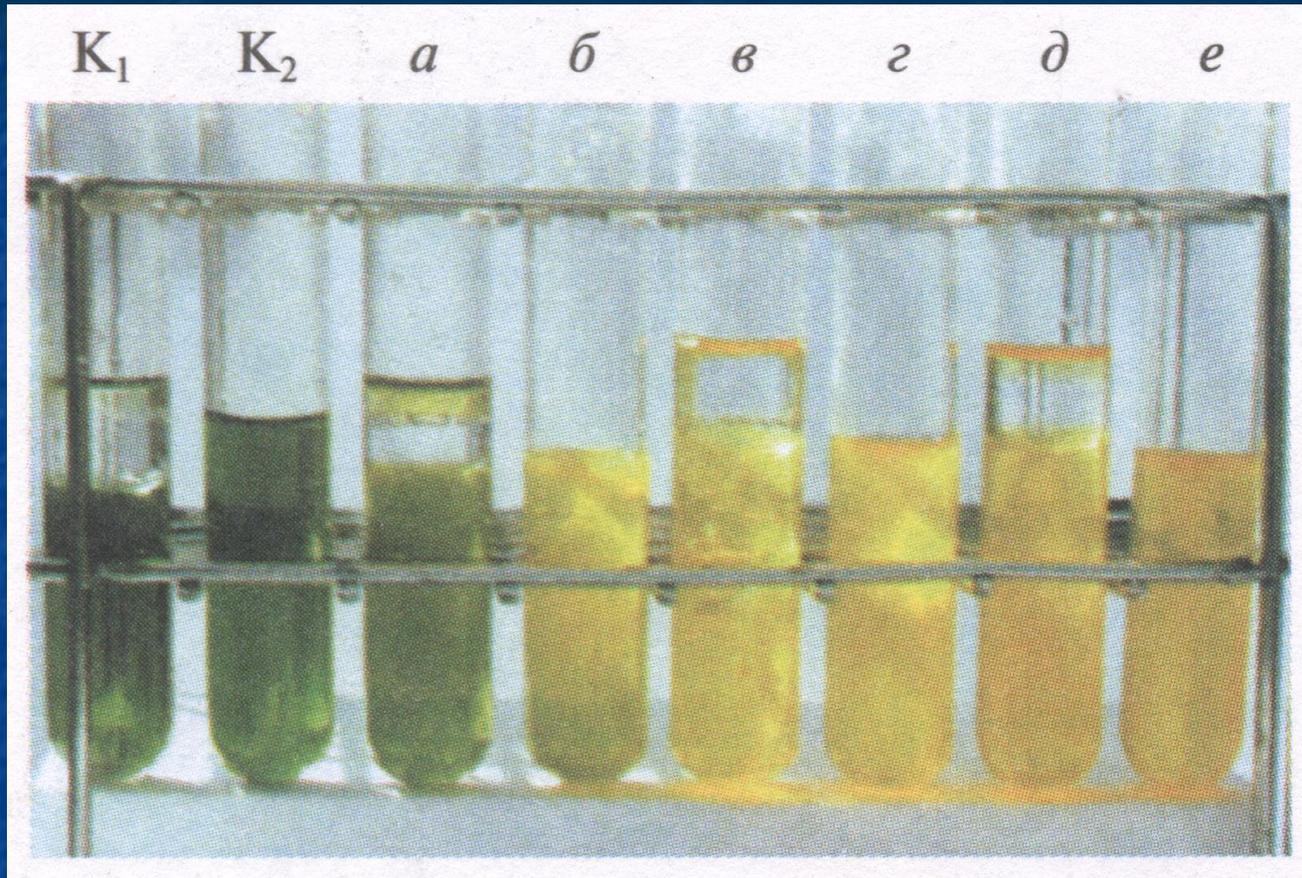
Основан на выявлении разных путей расщепления глюкозы:
Окислительного - в присутствии O₂ и ферментативного – в анаэробных условиях.

Тест проводят на среде Хью-Лейфсона. Для посева используют 18-часовую агаровую культуру, которую в небольшом количестве вносят в среду методом укола в 2 пробирки. В одну наслаивают 3-5 мл стерильного вазелинового масла. Инкубируют в течении 3-4 дней при 37С. Учет результатов:

цвет среды изменился на **желтый** в пробирке с вазелином (анаэробные условия) **O-/F+** - «ферментирующая» группа

цвет среды изменился на **желтый** в пробирке без вазелина (аэробные условия) **O+/F-** - «неферментирующая» группа

O/F тест (тест окисления/ферментации)



Рост псевдомонад (а, б) и эшерихий (в-е) на среде Хью-Лейфсона
В аэробных и анаэробных условиях K₁ , K₂- контроль

Восстановление нитратов до нитритов

Выявляют на среде МПБ и 0,2% раствор KNO_3 среду разливают в пробирки, опускают «поплавки» и стерилизуют при 112 С 30 мин. В пробирки вносят 18-часовую культуру. Культивируют при 36С 24 часа.

Добавляют в отдельную пробирку:

- 1 каплю раствора (йодистый калий, $ZnCl_2$ и крахмал),
- 1 каплю культуры,
- 1 каплю раствора HCl .

При наличии в среде нитритов возникает синее окрашивание



Серотипирование возбудителя в посевах кала

РА на стекле, используют поливалентные сыворотки

В РА берут по половине колоний, остаток колонии, давшей агглютинацию сывороткой, отсевают на среды дня выделения чистых культур.



II этап



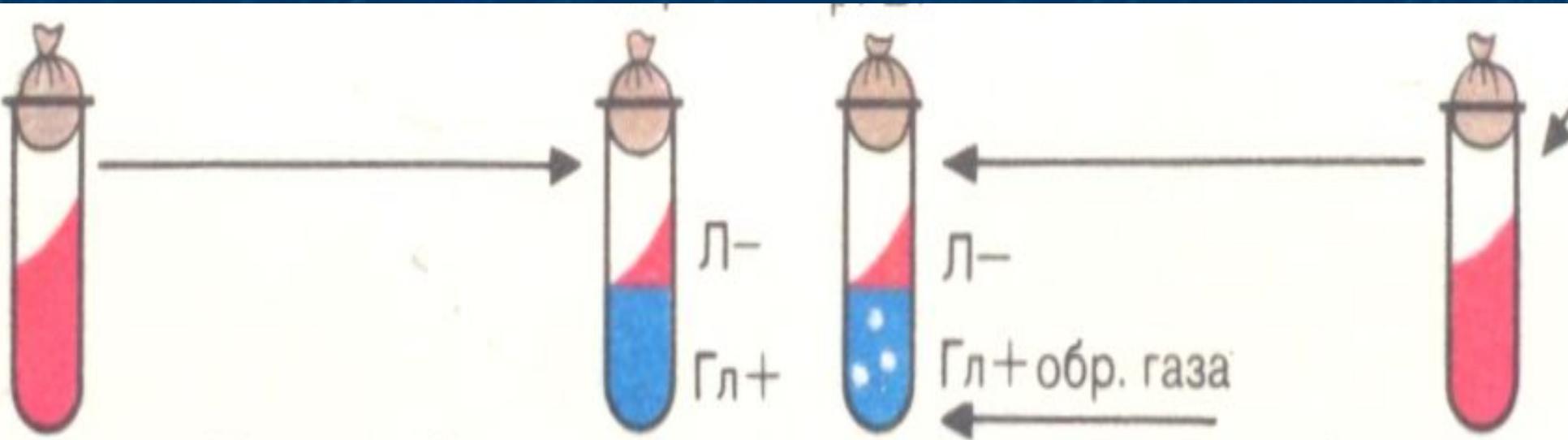
Отобранные для первичной идентификации колонии отсевают на среды: Олькеницкого, Клиглера. В начале материал эмульгируют в конденсационной жидкости, затем засевают на скошенную поверхность штрихом и делают прокол в толщу агарового столбика, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при 37С в течение 18-20 часов.

**Клиглера,
Олькеницкого**

лактоза

глюкоза

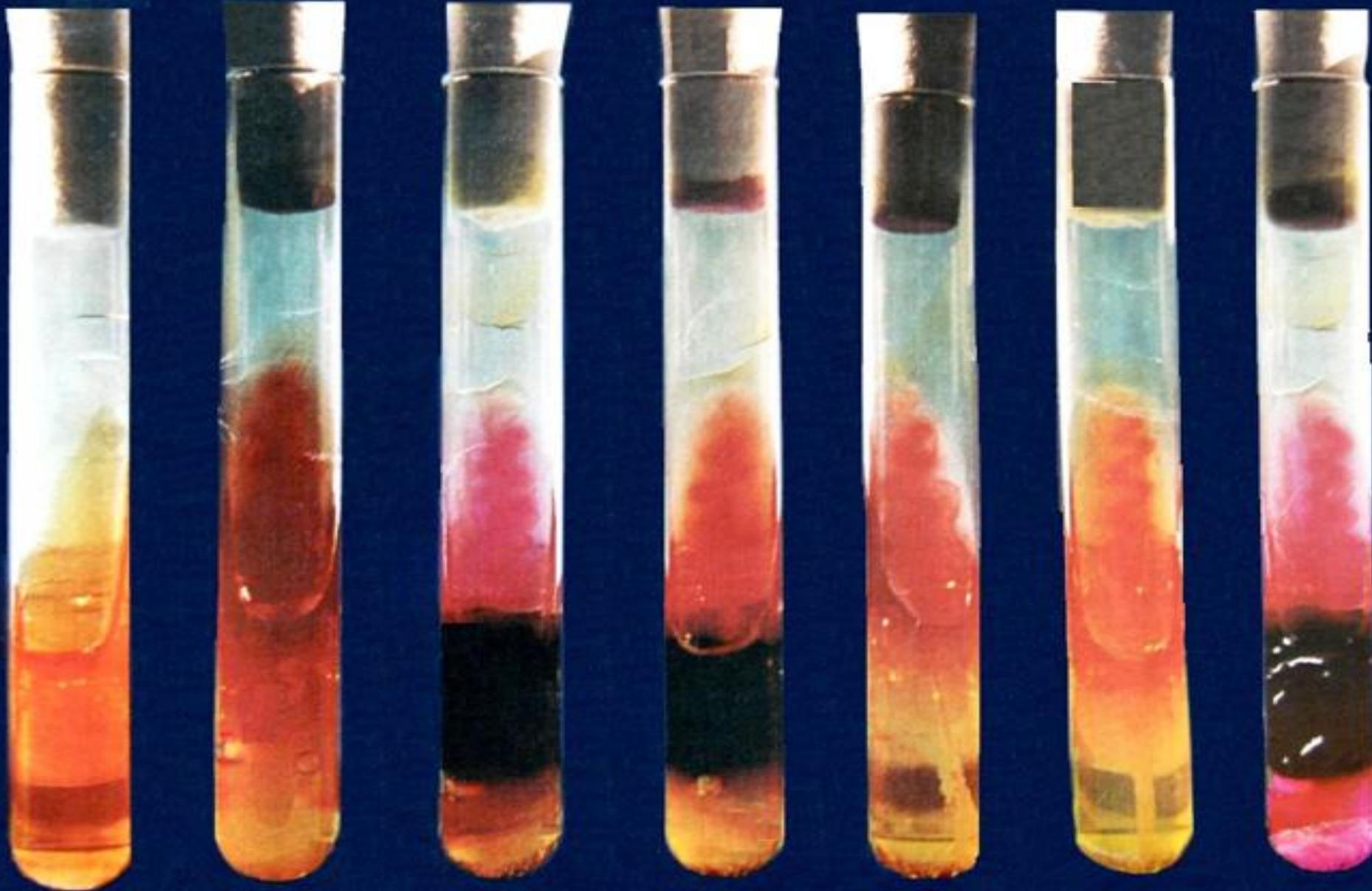
Посев на комбинированные среды



При расщеплении сахаров (глюкозы и лактозы) образуется кислота или кислота/газ, что улавливается индикаторами, окрашивая среду в желтый цвет.

Почернение среды свидетельствует об образовании H_2S

Посев на комбинированные среды



До посева

E. coli

Salmonella

*Citrobacter
freundii*

*Shigella
flexneri*

*Shigella
sonnei*

*Proteus
vulgaris*

Выпускаются также сухие среды Рессела и сахарный агар с мочевиной Олькеницкого.

Среда Рессела является полужидким агаром с лактозой (1 %) и глюкозой (0,1 %) и индикатором ВР. После разливания его в пробирки их кладут так, чтобы образовался столбик агара и была скошена поверхность. Если бактерии ферментируют лактозу и глюкозу, наблюдают изменение цвета (подкисление) всей среды на синей. Если микробы способны метаболизировать только глюкозу, в этом случае изменяет цвет столбик среды. При условии образования газа наблюдают за появлением его пузырьков или разрывами агара.

Трисахарный агар с мочевиной

Олькеницкого – более сложная среда сравнительно с предыдущим. Он позволяет определить ферментацию лактозы, сахарозы, глюкозы, образования сероводорода и наличие у бактерий фермента уреазы. В состав среды соответственно вводят сухой питательный агар, лактозу, сахарозу, глюкозу, комплексную соль аммоний-железо сульфат, тиосульфат натрия, мочевины, индикатор феноловый красен. Готовая среда имеет бледно-розовый цвет.

При расщеплении сахаров феноловый красный окрашивает среду в желтый цвет. Поскольку глюкоза, имеющаяся в небольших концентрациях (0,1 %), в аэробных условиях (скошенная поверхность) бактерии полностью будут утилизировать ее за первые часы роста. Через 18-24 ч они потребляют и пептоны как белковую питательную основу. При этом образуется аммиак, который делает среду щелочной, предоставляя ей красный цвет. Однако в столбике агара желтый цвет остается, потому что там сохраняются кислые конечные продукты, которые обеспечивают низкий уровень pH.

- Энтеробактерии, которые разлагают лактозу и глюкозу, подкисляют среду во всей пробирке (желтый цвет столбика и скошенной поверхности). Поскольку лактозы (1 %) в 10 раз больше, чем глюкозы, через 18-24 год инкубации ее запасы еще не исчерпаны, потому сохраняется желтый цвет среды. Однако через 48 год за счет расщепления пептонов можно наблюдать за его покраснением (сдвиг рН в щелочную сторону).
- Если бактерии образуют газ (углекислый, водород) при ферментации сахаров, появляются разрывы среды или происходит скопление газа на дне, который поднимает агар в пробирке.

- Сероводород микробы образуют из неорганических соединений, благодаря ферменту тиосульфатредуктазе. Взаимодействуют с сероводородом соли железа, которые, вступая с ним в реакцию, образуют сульфид железа в виде нерастворимого осадка черного цвета в столбике.
- Уреаза, которую продуцируют бактерии, разрушает мочевины с выделением большого количества аммиака, под воздействием которого вся среда алкает. Потому при наличии уреазопозитивных штаммов провести учет ферментации цукров не возможно. В таких случаях необходимо использовать другие среды.

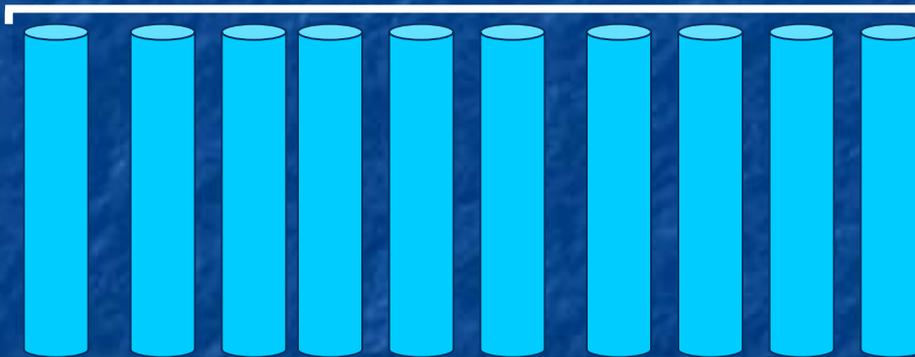
III этап

БС

Гр -

Сероводород +/-
Глюкоза +/-
Лактоза +/-

Основные тесты
(таблица)



Вид	Тест																		
	Индол	Метилловый красный	Ацетон	Цитрат	Сероводород	Мочевина	Фенилаланин	Лизин	Аргинин	Орнитин	Подвижность	Желатин	Глюкоза (газ)	Лактоза (к-та)	Сахароза (к-та)	Маннит (к-та)	Дульцит (к-та)	Рамноза (к-та)	Ксилоза (к-та)

Патогенные																			
<i>Escherichia coli</i>	+	+	-					+	-	V	+	-	+	+	V	+	V	+	+
<i>Shigella dysenteriae</i>	V	+	-															V	-
<i>Shigella flexneri</i>	V	+	-													+			
<i>Shigella boydii</i>	-	+																	
<i>Shigella sonnei</i>	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>Salmonella</i> *	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Salmonella</i> серовара Typhi	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+
<i>Salmonella</i> серовара Paratyphi A	-	+								+	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	V	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	-	+														+	-	+	+

Примечание. «+» — положительный результат; «-» — отрицательный результат; «V» — вариабельный результат (через 1 — 2 дня при 37 °С); * большинство сероваров

Вид	Тест																		
	Индол	Метилловый красный	Ацетон	Цитрат	Сероводород	Мочевина	Фенилаланин	Лизин	Аргинин	Орнитин	Подвижность	Желатин	Глюкоза (газ)	Лактоза (к-та)	Сахароза (к-та)	Маннит (к-та)	Дульцит (к-та)	Рамноза (к-та)	Ксилоза (к-та)

Условно-патогенные																			
<i>Citrobacterfreundii</i>	V	+	-	+	+	V	-	-	V	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
<i>Citrobacter koseri</i>	+	+	-	+	+	V	-	-	+	+	+	-	+	V	V	+	V	+	+
<i>Edwardsiella tarda</i>	+	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+						
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	+	+	-	V	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+
<i>Hafnia alvei</i>	-	V	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	V	+	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	V	+	+
<i>Morganella morganii</i>	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+						
<i>Proteus mirabilis</i>	-	+	V	V	+	+	+	-	-	+	+	+	+						+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+

Как выбрать стрип API ?



Грам(-) кокки

Грам(+) кокки

Грам(-) палочки

Грам(+) палочки

Cat (+)

Cat (-)

Ox (+)

Ox(-)

Staphylococcus

Streptococcus

Неферменты

Enterobacteria

APIStaph

APIStrep

API 20 NE

API 20 E

Требования при работе с микротестами

В настоящее время выпускают микротесты для определения биохимических свойств выделенных бактерий.

1. Для работы отбирают изолированную колонию диаметром 2 мм.
2. Опускают ее в ИХН, далее петлей растирают на стенке пробирки для создания гомогенной эмульсии.
3. Этой же петлей изготавливают мазок.
4. Суспензию отсевают на СПА для проверки чистоты культуры и способности роста.
5. Определяют наличие ферментов каталазы и оксидазы.

Густота суспензий должна отвечать первой степени по шкале мутности McFarland (т. е. 3×10^8 бактерий./мл). Очень густой или жидкий инокулят может вести к ложным реакциям.

После внесения культуры пластинки накрывают пленкой, помещают в целлофановый пакет а ставят в термостат от (1 до 24 часов инкубации. Оценку полученных результатов производят по таблицам, приложенным к пластинам.

Как работает API-идентификация?



В лунки стрипа внесены субстраты:
- ферментативная активность
- утилизация углеводов



Изменение состава среды



Изменение цвета индикатора



ЭНТЕРОтест 24 (24 реакции за 24 часа)

Для подтверждения принадлежности выделенных изолятов к семейству Enterobacteriaceae могут быть использованы полоски ОКСИ-тест и ОФ-тест в микротитровальных планшетах. В набор Энтеротест 24 входят 40 отдельных стрипов, каждый из которых содержит 24 биохимических теста для идентификации одного штамма.



Цвет положительных и отрицательных реакций на ЭНТЕРОтест 24

1		H	G	F	E	D	C	B	A
		URE	ARG	ORN	LYS	H ₂ S	SCI	MAL	ONP
1	⊕								
	⊖								
2		H	G	F	E	D	C	B	A
		SAL	SOR	MLB	CEL	LAC	TRE	MAN	GLR
2	⊕								
	⊖								
3		H	G	F	E	D	C	B	A
		DUL	ADO	ART	SUC	INO	RAF	ESL	bXY
3	⊕								
	⊖								

Определяемые виды на ЭНТЕРОтест24

<i>Budvicia aquatica</i>	<i>Citrobacter werkmanii</i>	<i>Enterobacter pyrinus</i>	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	<i>Salmonella bongori</i>	<i>Serratia plymuthica</i>
<i>Buttiaxella agrestis</i>	<i>Citrobacter youngae</i>	<i>Enterobacter sakazakii</i>	<i>Leminorella richardii</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>diarizonae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Buttiaxella brennerae</i>	<i>Edwardsiella hoshinae</i>	<i>Escherichia blattae</i>	<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Buttiaxella ferragutiae</i>	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Morganella morganii</i> biogroup 1	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>houtenae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Buttiaxella noackiae</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>inactivae</i>	<i>Morganella morganii/morganii</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>indica</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Edwardsiella tarda</i> biogroup 1	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Morganella morganii/sibonii</i>	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>salamae</i>	<i>Tatumella ptyseos</i>
<i>Cedecea lapagei</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Obesumbacterium proteus</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>choleraesuis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Cedecea neteri</i>	<i>Enterobacter amnigenus</i> group 1	<i>Escherichia vulneris</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>gallinarum</i>	<i>Yersinia aldovae</i>
<i>Cedecea</i> sp. 3	<i>Enterobacter amnigenus</i> group 2	<i>Ewingella americana</i>	<i>Pantoea dispersa</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>paratyphi</i> A	<i>Yersinia bercovieri</i>
<i>Cedecea</i> sp. 5	<i>Enterobacter asburiae</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Photobacterium damsela</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>pullorum</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	<i>Hafnia alvei</i> biovar 1	<i>Photorhabdus asymbiotica</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>typhi</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>
<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Pragia fontium</i>	<i>Serratia entomophila</i>	<i>Yersinia intermedia</i>
<i>Citrobacter farmeri</i>	<i>Enterobacter cowanii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Serratia ficaria</i>	<i>Yersinia kristensenii</i>

