

УДК 616.91:578.27-022.1-07

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ УСКОРЕННОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

©2014 С.М. Омарова, П.С. Саидова, М.О. Муслимов, А.М. Моллаева,
С.Ф. Алиева

Дагестанская государственная медицинская академия, г. Махачкала

Поступила в редакцию 04.12.2014

В статье проведена разработка способов ускоренной идентификации условно патогенных микроорганизмов основных клинически значимых возбудителей вне- и внутрибольничных инфекций.

Ключевые слова: *инфекция, этиология, диагностика, питательная среда*

Современные методы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний, вызванных различными этиопатогенами, характеризуются длительностью бактериологических исследований с использованием целого ряда дифференциально-диагностических питательных сред и тест-систем, что определяет длительность исследований и не отвечает современным требованиям, предъявляемым к лабораторным исследованиям [3]. Как известно условно-патогенные бактерии (УПБ) не способны вызывать патологический процесс у людей с нормальным состоянием иммунной системы, но могут оказаться фатальными в качестве возбудителей вне- и внутрибольничных инфекций у ослабленных и тяжёлобольных, что связано проявлением потенциальных факторов патогенности и может стать причиной возникновения различных нозологических форм заболеваний [1, 8]. В первую очередь такие явления связаны с широким нерациональным применением антибактериальных препаратов на догоспитальном периоде лечения и снижением иммунного статуса у ослабленных лиц [6, 8]. При определённых обстоятельствах УПБ приобретают существенное этиологическое значение, являясь нередко причиной острых кишечных инфекций, бактериурии, бактериемии, заболеваний верхних дыхательных

путей, инфекций мочевыводящих органов, ЛОР-заболеваний, раневых инфекций при стоматологических оперативных вмешательствах, а также нередко осложняют уже имеющиеся инфекции вирусной этиологии, в частности, инфекций, передающихся половым путем [5, 6, 9, 10]. Так, бактериологический анализ мочи амбулаторных пациентов показал, что в этиологии инфекций мочевыводящих путей, которые являются наиболее распространёнными инфекциями в лабораторной практике урологов, доля условно-патогенных энтеробактерий в общем количестве выделенных микроорганизмов составляет 80% [4]. УПБ также являются этиологическим фактором неспецифических воспалительных заболеваний гениталий, участвуя в патогенезе заболевания и тем самым усугубляя клиническую картину. Например, эшерихии являются наиболее частые возбудители этих патологий [2, 9].

При проведении микробиологических исследований клинического материала различного происхождения бактериологическую службу и клиницистов интересуют скорость получения результата с выделением и идентификацией культур, что является важным компонентом для начала своевременной этиотропной терапии [6, 7]. Поэтому разработка современных технологических способов ускоренной идентификации условно-патогенных бактерий, как основных клинически значимых возбудителей вне- и внутрибольничных инфекций, является, несомненно, актуальной задачей отечественного здравоохранения.

Согласно действующим регламентирующим документам (СанПиН 2.3.2.1280-02, МУК 4.2.1018-01 и МУК 4.2.577-96, приказа № 535 Минздрава) выделение и идентификация до вида

Омарова Салидат Магомедовна, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии. E-mail: omarovapro@mail.ru

Саидова Патимат Сатрудиновна, ассистент кафедры микробиологии. E-mail: spssaidova@mail.ru

Муслимов Магомед Омарович, ассистент кафедры кожных и венерологических болезней. E-mail: Dgma_55@mail.ru

*Моллаева Асма Магомедовна, аспирантка
Алиева Саида Фуадиевна, аспирантка*

клинически значимых УПБ, как возбудителей тяжёлых вне- и внутрибольничных инфекций проходит в несколько этапов с использованием дифференциально-диагностических питательных сред, что требует значительных затрат времени и средств. Сокращение сроков идентификации возбудителей необходимо для ускорения постановки диагноза, проведения своевременной адекватной терапии и необходимых противоэпидемических и профилактических мероприятий. Однако использование многокомпонентных питательных сред для бактериологической идентификации микроорганизмов не решает проблемы из-за схожести многих ферментативных реакций у различных микроорганизмов, возбудителей инфекционных осложнений. Решение проблемы ускорения индикации и идентификации возбудителей различных инфекций могут обеспечить хромогенные питательные среды, которые со 2-ой половины прошлого века производят и широко используют за рубежом. Поэтому применение экспериментальных отечественных хромогенных питательных сред и определение их диагностической эффективности при выделении и идентификации инфекций различной этиологии и локализации является актуальным и своевременным и будет способствовать значительному ускорению процесса идентификации выделенных микроорганизмов по сравнению с традиционными микробиологическими схемами диагностики [Юнусова Р.Ю. с соавт, 2011].

Для контроля и подтверждения правильности идентификации культур, выделенных на разработанных хромогенных питательных средах, использовали отечественные дифференциально-диагностические среды: среду Эндо, среду с инозитом для выделения клебсиелл (инозит агар), Клиглер агар, цитратный агар Симмонса, полужидкий агар, малонат агар, среду Олькеницкого, среды для выделения и идентификации протеев ППМ агар и фенилаланин агар, среду Кларка, а также хромогенную среду HiCrome ECC Selective Agar фирмы HiMedia. Для постановки тестов на индол и оксидазу использовали реактив Ковача и Gaby-Hadlay, соответственно. Всего было изучено 25 образцов экспериментальных хромогенных питательных сред (ЭХПС), в т.ч. Колиформ хром агар, *E. coli* хром агар, Даг-Хром агара, *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар и Клебсиелла хром агара. Исследовано 712 образцов клинического материала, в том числе моча, кровь, мокрота, урогенитальные мазки, гнойное раневое отделяемое.

Клинические испытания эффективности применения ЭХПС проводили на базе бактериологической научно-консультативной лаборатории «Клинической микробиологии» ООО НПП «Питательные среды» г. Махачкалы. Целью

испытаний являлось определение дифференцирующих свойств, диагностической специфичности сред, скорости роста УПБ и сроков идентификации возбудителя инфекций.

Посев клинического материала различного происхождения с целью ускоренной идентификации возбудителя проводили параллельно на *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар, Клебсиелла хром агар, а также в полужидкий агар в сочетании с коротким индольным тестом. В качестве контрольной среды использовали дифференциально-диагностическую среду Эндо. Для подтверждения правильности идентификации культур, выделенных на разработанных хромогенных питательных средах, были использованы среды – Клиглер агар, цитратный агар Симмонса, инозит агар, среда Кларка и др., а также тесты на индол и оксидазу, что обеспечивало возможность идентификации атипичной кишечной палочки и других ОКБ, не обладающих видоспецифическими ферментами.

Объектом исследований служили 427 образца мочи, 140 образцов мазков от больных, страдающих неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий, 95 образцов мазков гнойного отделяемого послеоперационных осложнений стоматологических больных и 50 образцов мокроты. Посев исследуемого материала проводили одновременно на 3 среды: *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар, Клебсиелла хром агар и Эндо (контроль).

Результаты исследования клинического материала урогенитального тракта, мокроты, отделяемого при раневых осложнениях и мочи статистически значимых различий в показателях высеваемости не дали, как при посеве на ЭХПС так и на агар Эндо. Однако на среде Эндо за указанное время идентификация УПБ не представлялась возможной, тогда как с помощью хромогенных сред через (18 ± 2) ч инкубации посевов при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ удалось идентифицировать наиболее часто встречающиеся при заболеваниях мочеполовой системы и раневых осложнениях *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*. В структуре УПЭ, выделенных при инфекциях мочеполовой системы и идентифицированных с помощью *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агара и Клебсиелла хром агара, наибольший удельный вес занимали *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*.

Независимо от нозологической формы инфекции и места локализации возбудителя наиболее часто выделяли кишечную палочку и клебсиеллы: в образцах мокроты преобладали клебсиеллы, в образцах мочи кишечная палочка и протей, а в образцах из раневого отделяемого преобладали кишечная палочка, стафилококки и синегнойная палочка.

Проведенные исследования показали, что через (18 ± 2) ч инкубации посевов при $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ на предлагаемых ЭХПС осуществлялась прямая идентификация *E. coli*, протеев и клебсиелл, а также колиформных бактерий, в то время как для идентификации УПБ, выделенных со среды Эндо, требовалось до 5 суток. Все колонии жёлтого цвета, выделенные с *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агара дополнительно исследовали посевом в цитратный агар Симмонса, Клигlera и постановкой теста на индол. Культуры, выделенные с предлагаемых сред, сохраняли стабильными биологические свойства. Анализируя результаты, полученные при идентификации клинически-значимых изолятов УПБ на разработанных ЭХПС, установлено, что процент глюкуро니다зоположительных *E. coli*, был весьма значительным (98%), а выявление β -галактозидазы колиформных бактерий, ТДА протеев и 5-аминосалицилатдекарбоксилазы клебсиелл наблюдали в 100% случаев.

Выводы: в результате проведенных исследований установлено, что экспериментальные образцы хромогенных питательных сред - *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар и Клебсиелла хром агар обладали высокой специфичностью в отношении часто выделяемых УПБ - *E. coli*, *Klebsiella* spp. и *Proteus* spp. Только *Klebsiella* spp. и *E. aerogenes* при посеве на Клебсиелла хром агар давали хромогенную реакцию. На среде *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар только *E. coli* окрашивались в сине-зелёный цвет, а коричневая окраска была только у колоний протеев. Все жёлтые колонии со среды *E. coli*-колиформ-*Proteus* хром агар идентифицировали как колиформные бактерии. Приведенные данные свидетельствуют о высокой диагностической специфичности экспериментальных хромогенных питательных сред, позволяющих с высокой достоверностью в кратчайшие сроки (18 ± 2) часов идентифицировать УПЭ по выявлению их специфических ферментов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Бондаренко, В.М. Секретируемые факторы патогенности энтеробактерий / В.М. Бондаренко, А.Р. Мавзютов, Е.Л. Голкочева // ЖМЭИ. 2002. №1. С. 84-89.
2. Воронаева, Е.А. Микроэкология и показатели гуморального иммунитета влагалища женщин с неспецифическими заболеваниями гениталий / Е.А. Воронаева, С.С. Афанасьев, М.В. Кудрявцева // ЖМЭИ. 2005. №1. С. 65-69.
3. Колтакова, С.Д. Принципиальный новый подход к идентификации бактерий / С.Д. Колтакова, Г.А. Колтакова, Р.П. Савченко // Клиническая лабораторная диагностика. 2005. №9. С. 33.
4. Омарова, С.М. Антибиотикорезистентность *E. coli*, выделенных у амбулаторных больных с инфекцией мочевыводящих путей / С.М. Омарова, Э.М. Ахмедова, Г.М. Тагирова, З.М. Нурмагомедова // Мат-лы 2 Всеросс. научно-практ. конф. «Антибиотикорезистентность и антимикробная химиотерапия». – Махачкала, 2008. С. 33-35.
5. Саркулова, М.Н. Микробиологическая характеристика возбудителей ВБИ у урологических больных // ЖМЭИ. 2005. №5. С. 101-103.
6. Савицкая, К.И. Значение лабораторных исследований в профилактике госпитальных инфекций / К.И. Савицкая, Н.А. Сёмина, В.В. Галкин, Ю.Б. Абаи // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2001. №2. С. 16-21.
7. Сбойчаков, В.Б. Микробиология с основами эпидемиологии и методами микробиологических исследований. – СПб.: СпецЛит, 2007. С. 359-362.
8. Шеховцова, О.В. Механизм формирования госпитальных штаммов возбудителей внутрибольничных инфекций и способ их предупреждения / О.В. Шеховцова, Е.В. Шаталова // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 7. С. 58-61.
9. Черкасский, Б.Л. Эпидемиология эшерихиозов в Российской Федерации / Б.Л. Черкасский, Т.И. Фролочкина, С.Ш. Рожнова // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2002. № 5. С. 6-10.
10. Aleshkin, V.A. Vaginal microbiota in healthy women and patients with bacterial vaginosis and non-specific vaginitis / E.A. Voropaeva, B.A. Shenderov // Microbiol. Ecology in Health and Diseases. 2006. V. 18, №. 2. P. 71-74.

IMPROVEMENT THE METHODS OF ACCELERATED IDENTIFICATION THE ACTIVATORS OF INFECTIOUS DISEASES CAUSED BY CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS

© 2014 S.M. Omarova, P.S. Saidova, M.O. Muslimov, A.M. Mollaeva, S.F. Alieva

Dagestan State Medical Academy, Makhachkala

In paper it is developed ways of accelerated identification the conditionally pathogenic microorganisms of the main clinically significant activators out of- and intrahospital infections.

Key words: *infection, aetiology, diagnostics, nutrient medium*

Salidat Omarova, Doctor of Biology, Professor at the Microbiology Department. E-mail: omarovanpo@mail.ru; Patimat Saidova, Assistant. E-mail: spssaidova@mail.ru; Magomed Muslimov, Assistant. E-mail: Dgma_55@mail.ru; Asma Mollaeva, Post-graduate Student; Saida Alieva, Post-graduate Student