

Л.Г. Боронина, М.П. Кукушкина

**КЛИНИЧЕСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ – ОПОРА КЛИНИЦИСТА**

Уральская государственная медицинская академия,  
Областная детская больница №1 г. Екатеринбург

В клиниках неинфекционного профиля врачи до настоящего времени слабо представляют возможности бактериологической лаборатории и нередко затрудняются в определении задач исследования и интерпритации результатов, которые необходимы для лечения пациента. Важным отрицательным фактором является существующее до сих пор убеждение, что результаты бактериологического исследования можно получить не ранее, чем через неделю от момента направления материала в лабораторию. Между тем часть результатов бактериологических исследований может быть получена через 24–48 часа и даже 6 часов от момента начала исследования.

Несомненно, работа клинической микробиологической лаборатории отличается специфичностью используемых методов и необычным для других видов клинических исследований разнообразием и непредсказуемостью результатов. В задачу клинициста входит определение цели исследования конкретного материала от больного, кратности взятия материала и соблюдение условий, при которых результат бактериологического исследования можно считать достоверным.

В работе современной лаборатории должны быть выделены конкретные приоритетные направления исследований, прежде всего по своевременности получения результатов, зависящие от профиля больницы. Одним из наиболее важных, на наш взгляд, направлений исследований в клинической микробиологии детских многопрофильных стационаров является исследование крови и спинномозговой жидкости, определяющие этиологический диагноз. При менингитах бактериологическое исследование спинномозговой жидкости делается практически всегда, а исследование крови в большинстве случаев проводится лишь при септических состояниях. Между тем известно, что микроб может находиться в крови до появления синдрома системной воспалительной реакции, но при многих острых инфекциях, возбудитель ищут в любом очаге, но не в крови. Достоверно известно, что большинство бактериальных инфекций протекают с бактериемией – это пневмония, остеомиелит, эпиглотит, абсцессы, лихорадки неясной

этиологии, эндокардит и другие гнойно-септические заболевания. Задачей врача-клинициста является определение показаний, кратности и времени взятия крови для бактериологического исследования. Задачей лаборатории является достижение результатов исследований в ранние сроки и информирование клиницистов о результатах каждого этапа исследования. Важным исходным условием диагностической значимости проводимых микробиологических исследований, является наличие современного лабораторного оборудования, качественных материалов и диагностикумов. В минимальный набор современных средств микробиологических исследований входят материалы для взятия и транспортировки клинических проб, ряд культуральных сред, системы для идентификации микроорганизмов и стандартизованные диски определения чувствительности к антибиотикам. Наибольшую оперативность и достоверность в получении результатов удается достичь при использовании автоматических результатов для гемокультур, позволяющих регистрировать рост микроорганизмов через 3-6 часов; автоматических или полуавтоматических приборов для идентификации и определения чувствительности к антибиотикам, а также определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) к антибиотикам методом E-тестов, также позволяющих получить достоверные ускоренные результаты.

В бактериологическом исследовании проходит несколько этапов, каждый из которых заканчивается определенным результатом. Главное здесь, уметь правильно оценить информацию на каждом этапе бактериологического исследования.

Факт первичного обнаружения в течение первых суток отрицательных, грамположительных бактерий или грибов до их точной видовой идентификации уже может быть использован для рационального назначения терапии или ее коррекции. Особенно полезной оказывается информация для лечащих врачей, о результатах каждого бактериологического исследования у больных с выраженными симптомами системной инфекции. Первый этап микробиологического исследования проходит в отделении, а не в лаборатории: взятие материала в наиболее ранние сроки, до назначения антибиотиков, с соблюдением всех необходимых правил. Время взятия материала, условия транспортировки в значительной степени влияют на результат исследования.

При остром эндокардите взятие крови для посева осуществляют путем трех венепункций с интервалом 1-2 часа. При подостром эндокардите забор трех образцов крови проводят с интервалом не менее 15 минут, а при отрицательных результатах повторяют исследование трех образцов через 24 часа. Больные, с эндокардитом получавшие антибио-

тикотерапию в течение последних 1-2 недель до поступления в стационар обследуются в течение трех дней ежедневно. путем взятия двух образцов крови в день. При септическом состоянии взятие крови осуществляется путем взятия двух образцов крови из различных участков до начала лечения или при минимальной концентрации антибиотика. При пневмонии отбирают два образца крови до начала лечения на высоте лихорадки. Лихорадка неясной этиологии предполагает взятие двух образцов крови (с интервалом не менее 1 часа), при отрицательных результатах исследования необходимо взятие еще двух образцов. Общепринятыми правилами взятия крови для бактериологического исследования являются:

1. Проведение дезинфекции кожи дважды (70% раствором спирта и 1-2% раствором йода или 10% раствором повидон йодина).
2. После высыхания дезинфектанта не касаясь места пункции, проводят взятие крови иглой со шприцем асептически.
3. Меняют иглу и переносят материал во флаконы с резиновой пробкой. предварительно обработанной спиртом.
4. Пробы крови во флаконе с питательной средой помещают при 37°C.

На первом этапе назначается эмпирическая стартовая терапия, на II этапе бактериологического исследования в лаборатории проводится микроскопия мазка из крови и ликвора окрашенного по методу Грама, в результате чего появляются ориентировочные данные для подтверждения эмпирической стартовой терапии.

Необходимо учитывать, что в некоторых случаях возможны грам-вариабельные формы бактерий. т.е. возможна не четкая окраска, и нельзя дифференцировать грамположительные микроорганизмы от грамотрицательных. Это связано, как правило, с воздействием на бактерии антибиотиков и изменением структуры бактериальной стенки. При последующем бактериологическом исследовании дифференциация бактерий по отношению к красителям, восстанавливается. При микроскопии нативного материала не всегда удается обнаружить бактерии, даже если возбудитель в крови или ликворе.

На втором этапе важным является выделение возбудителя. На этом этапе еще невозможно определить вид бактерии, но при микроскопии уже обнаруживается морфология (кокки, палочки) и отношение окраски по Граму.

Наибольший интерес на этом этапе вызывает вопрос о времени получения результатов. При использовании обычных, традиционных методов бактериологического исследования первый этап протекает в течение 1 часа – бактериоскопия, в большинстве случаев 18 часов, 24 или 36 часов – выделение культуры.

Применение автоматических термостатов типа «Vital» (Bio Merikux), «Bactec» (Bacton Dickenson) позволяет получить эти результаты через 6-8-14 часов или 24-36 часов в зависимости от вида возбудителя и количества бактерий в исследуемом образце.

На этом этапе есть возможность совершить серьезную ошибку, связанную с кантоминацией исследуемого образца при несоблюдении правил взятия материала. Поэтому взятие любого образца для бактериологического исследования необходимо проводить с использованием мер асептики и непосредственно из очага инфекции.

При микроскопии бактериальной культуры на втором этапе, полученной при росте на жидких питательных средах нет возможности отличить бактерии вызывающие инфекцию и бактерии попавшие в образец из внешней среды (кожа, инструмент, воздух). И только на третьем этапе бактериологического исследования, когда удастся идентифицировать, полученную культуру, удастся с определенной степенью достоверности отличить бактерию – контаминант от бактерий, имеющей этиологическое значение. Главная задача для решения этой проблемы – исключить контаминацию образцов.

Третий этап завершается, как правило, при ускоренных методиках через 4 часа (для некоторых микроорганизмов – 18 часов), и при обычных, традиционных методиках через 18-24 часа.

Чувствительность к антибиотикам определяется в те же сроки.

Метод диффузии в агар позволяет определить чувствительность к нескольким антибиотикам. На чашках Петри должно располагаться не более 5-6 дисков с антибиотиками, иначе возможно совместное воздействие антибиотиков на культуру и искажение результатов. Врач-клиницист информирует врача-бактериолога о применяемых антибиотиках для лечения больного (эмпирическая стартовая терапия) и об антибиотиках, которые возможно использовать в конкретном случае.

Только в этом случае полученные результаты чувствительности к антибиотикам, можно использовать для назначения этиотропной, корректирующей эмпирическую антибактериальную терапию.

Этиотропная терапия может совпадать с уже назначенной, эмпирической терапией при условии обнаружения умеренных и умеренно-устойчивых штаммов. В последнем случае, при выделении умеренно-устойчивых штаммов (с промежуточной чувствительностью) возможно изменение (повышение) дозы уже назначенного антибиотика, исходя из клинических данных или смена антибиотика.

При получении высоко устойчивых штаммов к антибиотику, назначенному при стартовой терапии, необходимо антибиотик сменить, или это же было сделано ранее по клиническим признакам.

Назначение нового антибиотика или комбинации антибиотиков проводят исходя из полученных клинических данных, данных по чувствительности, рекомендуемых схем лечения инфекций определенной этиологии и локализаций процесса.

Необходимо констатировать, что в настоящее время результаты бактериологического исследования и тестов на антибиотикочувствительность выделенных штаммов мало используются для коррекции в лечении. Это может быть связано с недоверием лечащего врача к результатам исследований, но в большей степени, на наш взгляд, это связано с устоявшимися правилами назначения антибиотиков исходя из многолетней используемой схемы лечения. Конечно, результаты действия антибиотика *in vivo* могут отличаться, но не настолько, чтобы игнорировать данные, полученные при тестировании антибиотикочувствительности *in vitro*.

Кроме того, клиницисты практически не используют, вернее не умеют использовать, данные при определении минимальной ингибирующей концентрации антибиотика (МИК) к выделенному возбудителю.

Существует рутинный метод определения МИК в течение 18 часов от момента выделения культуры или определение МИК – E-тестом. Но эти результаты используются только как определитель устойчивости или чувствительности штамма к антибиотику. А между тем знание МИК позволяет корректировать дозу антибиотика, при необходимости увеличивая, не меняя антибиотика.

В связи с тем, воспалительные и гнойно-септические инфекции в соматических стационарах являются истинными инфекционными заболеваниями с высокой летальностью, особо важна связь между врачом-бактериологом и врачом-клиницистом.

Перекрестное инфицирование наиболее часто происходит в отделениях, где лежат пациенты со сниженной реактивностью, как в результате основного заболевания, так и в результате интенсивной специфической терапии (отделения реанимации, онкогематологические отделения, отделения интенсивной терапии и т.д.)

Поэтому важно обнаружение врачом-бактериологом на первых этапах бактериологического исследования нозокоминальных признаков у выделенных штаммов на основании предыдущих наблюдений и слежение за инфекцией в отделении в отдельной палате.

Алгоритм совместной работы клинициста и микробиолога в стационаре (Боронина Л.Г., 1999 г.)

| I ЭТАП   | II ЭТАП  |  | III ЭТАП  |
|--|--|--|---|
| Правильное взятие материала для бактериологического исследования до назначения антибиотиков  | Бактериоскопия по Граму<br>↓<br>Ориентировочные данные   | Выделение возбудителя<br>↓<br>Предварительные данные | Полная идентификация и определение чувствительности к антибиотикам<br>↓<br>Окончательный результат бак. исследования  |
| Эмпирическая стартовая терапия   | Подтверждение или опровержение эмпирической стартовой терапии (коррекция)  |  | Этиотропная, корректирующая эмпирическую  |
| Препараты 1 выбора при первичной инфекции в зависимости от предполагаемого инфекционного агента<br>↓<br>Препараты 2 выбора при нозокоминимальной инфекции в зависимости от предполагаемого инфекционного агента и данных мониторинга | Возможна корреляция терапии в зависимости от предполагаемого возбудителя и результатов слежения за чувствительностью возбудителей к антибиотикам |  | При обнаружении резистентных штаммов – применены антибиотики резерва выбора. Этиотропная бактерицидная терапия соответствует эмпирической при наличии теста чувствительности к антибиотику или изменчивости дозы при обнаружении умеренной устойчивости |
| Назначает лечащий врач   | Назначает лечащий врач при консультации с врачом-микробиологом   |  | Назначение антибиотиков резерва осуществляется коллегиально (лечащий врач, клинический фармаколог, врач-бактериолог)  |

\* При отсутствии бактериологических результатов назначение или смена антибиотиков проводится с учетом изменения клинических симптомов общего анализа крови и эпидемиологических данных о предполагаемом инфекционном агенте.

Особенной ценностью обладают сведения полученные врачом-бактериологом при нозокоминальной инфекции, переданные в наиболее короткие сроки в отделение для принятия мер не только по лечению больных, но и для осуществления противоэпидемических мер.

### **Выводы**

1. Результат бактериологического исследования в равной степени зависит от внешних действий, происходящих вне лаборатории (своевременности проведения исследования качество сбора, время, условия доставки, квалификация персонала) и чисто бактериологического исследования (состав питательных сред, качество и быстрота идентификации, определение чувствительности к антибиотикам).

2. Бактериологическое исследование проводится, если оно востребовано, результаты его влияют на подтверждение или снятие диагноза, отмену или изменение антибактериальной терапии.

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. С.В. Огородников, М.П. Гордеева «Деонтология в бактериологию» // Клин. лаб. диагностика, №6, 1999 г., С 44-45.
2. Clinical Microbiology Procedures Handbook /H.D. Asenberg (Ed. In Chief).- 1999.- 1025 С.
3. Практические аспекты современной бактериологии// Л.З. Сказа, С.В. Сидоренко, А.Г. Нехорошева и др.- Москва, 1997 г.- 189 С.

**В.Б. Сбойчаков, Т.Г.Максимова**

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПРИ АКТУАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЯХ**

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург.

При решении проблемы стандартизации методов этиологической диагностики возникает необходимость выбора определенного набора методов из всего множества с учетом нескольких критериев, определяющих понятие эффективной диагностики. К таким критериям, на наш взгляд, следует отнести время проведения и учета результатов того или иного анализа (экспрессность), чувствительность, дешевизну (экономическую рентабельность) и методическую простоту анализа. Некоторые из перечисленных критериев не всегда поддаются количественной оценке. Это существенно усложняет работу врача-лаборанта