

б) на 36,7% увеличилось число детей, родившихся доношенными;

в) в 4 раза уменьшилось число детей, рожденных с тяжелой степенью внутриутробной гипоксии;

г) в 4 раза уменьшилось число детей, требующих длительной реабилитации в стационаре.

Представленные результаты могут рассматриваться как оптимистичные с точки зрения снижения числа детей группы высокого риска по инвалидизации и реальных возможностей их полной реабилитации. Таким образом, перинатальная профилактика инвалидизации детей, являясь актуальной проблемой, тем не менее обладает высокоэффективными организационными технологиями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барашнев Ю.И. // Акушер. и гинскол. 1990. № 11. С.49-53.
2. Деметьева Г.М. // Росс. вест. перинатол. и педиатр. 1993. № 3. С.3-7.
3. Монтгомери Т. // Педиатрия. 1995. № 1. С.73-76.
4. Gerard H.A., Visser et al: Prenatal and neonatal medicine 1996. № 1. P.12-15.

ГИГИЕНА, ЭПИДЕМИОЛОГИЯ, МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 618.2-074:008

Л.Г. Борошина, С.В. Цвиренко

ПРОБЛЕМЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В ПЕДИАТРИИ

Уральская государственная медицинская академия, Областная детская клиническая больница № 1

Современные лабораторные технологии дают ценную, объективную и в большинстве случаев являющуюся незаменимой информацию для диагностики, лечения и прогноза заболеваний. Значительное место в лабораторно-диагностическом процессе занимает клиническая микробиология. Количество микробиологических исследований и их доля в общем объеме за последние годы неуклонно возрастают. Интенсивное накопление фактов в этой области способствует развитию концепции клинической микробиологии [3,5]. Особенно важную роль клиническая микробиология играет в педиатрии, в значительной степени определяя своевременность диагностики инфекционных осложнений и эффективность их лечения.

В детской клинике сегодня используется большое количество микробиологических методик - только наиболее часто используемых насчитывается около ста. Вместе с тем изучение деятельности бактериологических лабораторий в детских больницах показывает, что выбор и исполнение исследований часто неоптимальны, а получаемые результаты недостоверны и неинформативны.

Анализ нашей работы в лаборатории клинической микробиологии областной детской клинической больницы №1, обобщение известного опыта зарубежных клиник и отечественных высокоорганизованных педиатрических центров

позволяет сформулировать современные принципы, которые могут быть рекомендованы для решения диагностических задач и оптимизации работы в педиатрической клинике.

Клиническая микробиология - раздел медицинской микробиологии, изучающий этиологию инфекционного процесса любой локализации путем обнаружения возбудителя и/или его антигенов, изучения иммунного ответа на патогены при помощи серологических реакций и определения тактики антимикробной терапии. Клиническая микробиология изучает взаимоотношения, складывающиеся между макро- и микроорганизмами в норме, при патологии, в динамике воспалительного процесса с учетом проводимой терапии [3].

Современные методы клинической микробиологии включают в себя как классические методики выделения возбудителя бактериологическим или вирусологическим методом, так и ускоренные методы обнаружения возбудителей, в том числе и TORCH-комплекса. В настоящее время широко используется обнаружение антигенов возбудителя инфекций методом латексагглютинации, иммунофлюоресцентным и иммуноферментным методами, молекулярно-генетическими методами (полимеразная цепная реакция-ПЦР, ДНК-зонды). Важно отметить, что молекулярно-генетические методы (генодиагностика) ни в коем случае не вытесняют микробиологические методы, а наоборот, дополняют их, помогая решить задачи диагностики инфекционных заболеваний, которые невозможно решить классическим методом. Молекулярно-генетические методы диагностики незаменимы при диагностике внутриклеточных и мембранных паразитов, таких как вирусы, риккетсии, хламидии, микоплазмы. Известна их высокая чувствительность, но эти методы дорогостоящи и применяются в том случае, когда ранее известные

методы не позволяют достичь достоверного результата. При диагностике вирусной инфекции наибольшую сложность при молекулярно-генетическом исследовании представляет оценка положительных находок и определение их истинной этиологической значимости. В настоящее время широко используемые молекулярно-генетические методы еще не позволяют определить количественные характеристики патогена. Положительный тест при изучении условно-патогенных возбудителей может свидетельствовать об инфекции, истинном носительстве или транзитном носительстве [2]. Обоснованное решение о наличии у пациента одного из указанных состояний возможно лишь при применении других клинико-лабораторных данных, определяемых при конкретной инфекции.

В мировой практике для каждой инфекции определен так называемый «Золотой стандарт» диагностики, при этом критерием для установления этиологии инфекции косвенными методами (без выделения и идентификации возбудителя) является применение минимум двух методик обнаружения возбудителя или антигенов и обнаружение специфических антител [9].

В последние годы появились и получили широкое распространение лабораторные методики, которые являются только ориентировочными, т. е. скрининговыми, и не должны расцениваться как окончательный результат. Положительный результат в этом случае предусматривает проведение дальнейшего исследования. Примером является уреазный тест, исследование при подозрении на хеликобактериоз материала эндоскопической биопсии. Этот тест расценивается только как предварительный. Для достоверного диагноза необходимы следующие диагностические тесты: 1 – гистологическое исследование, 2 – экспресс-серотест, 3 – дыхательный тест на мочевины с C 14. Последний из предлагаемых тестов наиболее достоверен и может применяться при невозможности или отказе от биопсии [7]. Уреазный тест при исследовании на уреоплазму тоже является ориентировочным и в большинстве случаев опровергается при дополнительном исследовании при выделении уреоплазм/микоплазм бактериологическими методами. Однократное исследование с целью обнаружения хламидий прямым иммуофлюоресцирующим методом или методом ПЦР реакции достаточно часто может свидетельствовать о носительстве, и только неоднократное обследование и наличие определенного уровня специфических антител может свидетельствовать об инфекции [2].

Основными этапами исследований при этиологической диагностике являются :

- постановка конкретных цели и задач, которые определяют методы и методики проведения исследования,
- взятие материала (различных биосубстратов), исключая контаминацию из внешней среды и других частей организма,
- обнаружение патогенных возбудителей или их антигенов,
- определение специфических антител к антигенам патогенного возбудителя,
- обнаружение условно-патогенных возбудителей и определение их этиологической роли в конкретном патологическом очаге (в конкретном биосубстрате),
- изучение специфического иммунного ответа в динамике,
- интерпретация результатов исследования в зависимости от локализации процесса и других клинико-лабораторных данных,
- определение чувствительности к антибактериальным средствам этиологически значимого возбудителя [1,3].

Для оценки целесообразности назначения микробиологических исследований в клинике должны быть использованы следующие критерии[1,3,4]:

1. Показанием к проведению исследования является определение этиологии инфекционного процесса.
2. Обоснованность назначения определяется возможностью получения новой информации о наличии инфекции, о локализации патогена, которая может быть использована для оптимизации лечения. Если результаты исследования не влияют на определение диагноза, тактики антибактериальной терапии, прогноза заболевания, значит исследование назначено необоснованно.
3. Должна быть обеспечена приемлемая степень достоверности результатов исследования, что связано с выбором этиологически значимых методов, правильностью сбора, хранения и транспортировки материала, качеством диагностикумов и соблюдением технологии исследования.
4. Экономическая эффективность использования полученных результатов удешевления целенаправленной терапии.

При инфекциях, вызванных микроорганизмами с известными свойствами патогенности, сам факт обнаружения возбудителя и/или специфических антител может свидетельствовать об этиологии инфекции. Под оппортунистическими инфекциями понимают инфекционный процесс, развивающийся на фоне иммунодефицитного состояния макроорганизма и вызываемый преимущественно апатогенными микроорганизмами, или микроорганизмами со слабовыраженной патогенностью.

Различной степени выраженности иммунодефицит нередко встречается у детей с перинатальной и неонатальной патологией, в послеоперационном периоде, при внутрибольничных инфекциях, под влиянием лекарственных препаратов

и экологических факторов. Поэтому любое бактериологическое исследование материала от детей рассматривается только в комплексе с клиническими данными и результатами других лабораторных исследований.

Наиболее достоверным результатом бактериологического исследования является обнаружение патогенного и условно-патогенного возбудителя в обычно стерильных полостях: в ликворе, в крови, в плевральной полости, в полости суставов. При условии отсутствия контаминации обнаруживаемый бактериологическим методом возбудитель или антигены микроорганизмов практически всегда можно расценивать как этиологически значимую находку. Достоверным результатом исследования является также обнаружение патогенного возбудителя в исследуемом материале при признаках инфекций (возбудители брюшного и сальмонеллезного тифов, туберкулеза, сифилиса, гонореи, дизентерии, антигенов гепатита). Определить истинного возбудителя инфекции среди патогенных микроорганизмов позволяет сероконверсия, определяемая в сыворотке крови, взятой с определенными временными интервалами. Для условно-патогенных возбудителей к достоверным признакам следует отнести повторное обнаружение данного микроорганизма и его количество в биоматериале; одновременное обнаружение возбудителя или его антигенов или фрагментов ДНК (РНК) и определение уровня антител в динамике.

Все исследования, косвенно свидетельствующие об инфекции, в том числе условно-патогенными микроорганизмами, и особенно при распространенном носительстве, требуют дополнительных методов подтверждения этиологии инфекции. Иммуносерологические тесты при однократном исследовании, условно-патогенного возбудителя в местах естественного обитания, одновременное обнаружение определенного уровня антител к нескольким возбудителям, требуют также дополнительных исследований [4].

Важной задачей клинической микробиологии наряду с выделением этиологически значимого микроорганизма является определение чувствительности к антибиотикам. Эта задача на практике часто оказывается невыполнимой в связи с обычно недооцениваемой врачами проблемой контаминации исследуемой пробы различными микроорганизмами из внешней среды, различных полостей и поверхностей макроорганизма, не относящихся к патологическому процессу. До 30% проб мочи, доставляемых в лабораторию клинической микробиологии, имеют контаминацию микроорганизмами с кожи и из кишечника. Если учесть, что основные возбудители уроинфекций относятся к энтеробактериям, легко представить, какую ошибку можно совершить, обнаружив микроб из другой локализации. Очевидно, что определение чувствительности к антибиотикам возбудителя, не имеющего отношения к воспалительному процессу, в

данном случае в мочевыводящих путях, не только лишено смысла, но и в определенной степени опасно, поскольку дезориентирует лечащего врача.

Микробиологические исследования должны назначаться с учетом не только клинических симптомов, но и результатов других лабораторных тестов. Так, первичный посев мочи обоснован только при обнаружении лейкоцитурии, наличии цилиндрического эпителия, бактериурии [8].

Важно учитывать, что назначение антибактериальных препаратов меняет микрофлору не только в очаге инфекции, но и в других локализациях. Назначение антибактериальных средств или зубнотиков - препаратов, содержащих нормальную микрофлору, быстро и значительно изменяет количественный и качественный состав микрофлоры кишечника, поэтому результат одномоментного исследования не соответствует истинному составу микрофлоры.

Целенаправленность исследований в зависимости от клинических симптомов в значительной степени влияет на скорость проведения исследований и их стоимость. Широко применяемые назначения исследований микрофлоры кишечника далеко не всегда оправданы. Очень часто из всей массы проведенных исследований клинициста интересует лишь вопрос наличия или отсутствия грибов. Последнее может быть установлено при целенаправленном исследовании грибов без обнаружения всех остальных микроорганизмов.

Исследование крови с целью обнаружения возбудителя инфекции является наиболее информативным методом по сравнению с большинством бактериологических методов, т. к. обнаружение возбудителя в крови наиболее этиологически значимо при инфекциях. Установлено, что стрептококки, пневмококки, гемофильные бактерии, являющиеся причиной пневмонии, отита, бронхита и других заболеваний, практически всегда вызывают бактериемию, и для обнаружения этих возбудителей в крови необходимо только соблюдение известных принципов. Грамотрицательные бактерии семейства энтеробактерий и неферментирующие бактерии (синегнойная палочка, ацинетобактер), стафилококки обнаруживаются в крови при нозокомиальном сепсисе. Исследование указанных микробов особенно актуально в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Энтерококковая бактериемия часто осложняет хирургические вмешательства на органах брюшной полости. Стафилококки, стрептококки, грамположительные палочки семейства коринебактерий, нокардии, некоторые спорообразующие анаэробы являются причинами эндокардита. Бактериемия встречается значительно чаще, чем принято думать. Практически любая бактериальная инфекция у детей, вызванная вышеперечисленными возбудителями, сопровождается бактериемией, поэтому исследование крови является весьма информативным.

При остром эндокардите кровь для посева

берут трижды методом венепункций с интервалом 1-2 ч. При подостром эндокардите забор трех образцов крови проводят с интервалом не менее 15 мин., а при отрицательных результатах повторяют исследование трех образцов через 24 ч. Больные с эндокардитом, получавшие антибиотикотерапию в течение последних одной-двух недель до поступления в стационар, обследуются в течение трех дней ежедневно, путем взятия двух образцов крови в день. При септическом состоянии отбирают два образца 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 забор двух образцов крови (с интервалом не менее 1ч), при отрицательных результатах исследования через 24-36 ч необходимо взять еще два образца.

Общепринятые правила забора крови для бактериологического исследования:

1. Проводят дезинфекцию кожи дважды (70% раствором спирта и 1-2% раствором йода или 10% раствором повидон йодина).

2. После высыхания дезинфектанта, не касаясь места пункции, кровь забирают 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 $t = -37^{\circ}\text{C}$.

В настоящее время известны факты этиологической значимости бактерийей, помимо золотистого стафилококка, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. epidermidis*, *S. caritis* и других, которые могут присутствовать на коже и в глубоких слоях эпидермиса, поэтому только соблюдение строгих правил асептики при посеве позволяет доверять результатам бактериологических исследований.

Соблюдение этих условий исключает контаминацию пробы крови бактериями из внешней среды и внутренних отделов кожи. Соотношение объема взятой крови к объему питательной среды 1:5 или 1:10. Требуемый объем крови для посева: новорожденные дети – 1-2 мл при каждой венепункции; дети от 1 мес. до 2 лет – 2-3 мл; дети от 2 до 14 лет – 3-5 мл; подростки старше 14 лет – 10-20 мл. При посеве 10 мл крови частота выделения микроорганизма увеличивается на 15%, а при посеве 20 мл – на 35% по сравнению с результатами посева 5 мл крови. Питательные среды должны содержать антикоагулянты и ингибиторы антибиотиков.

Исследование раневого отделяемого в значительной степени зависит от локализации патологического процесса и возможности контаминации с кожи и слизистых. Наиболее информативно исследование отделяемого, полученного во время операции или хирургической обработки раны. В материале, взятом во время хирургической опера-

ции, при исключении загрязнения с кожи, слизистых и с объектов внешней среды обнаружение даже одного возбудителя значительно более информативно, чем обнаружение нескольких видов и большого количества возбудителей с поверхности ран. Глубокие раны и абсцессы исследуются после проведения дезинфекции поверхности 70% спиртом и 1-2% раствором йода. Аспират получают из наиболее глубоко расположенного участка повреждения, избегая контаминации с поверхности раны. Для транспортировки материала используются специальные тампоны на аэробы и анаэробы. Возможна транспортировка материала в закрытом шприце для немедленного посева. Исследование материала из свежих ран целесообразно вследствие низкой частоты выделения патогенов. В зависимости от локализации раны или послеоперационного абсцесса чаще при абдоминальной патологии выделяются протей, клебсиеллы, кишечные бактерии, при абсцессах легкого – неспорообразующие анаэробы и гемофильные бактерии, грамположительные коки. Обнаружение неспорообразующих анаэробов (бактероидов) с поверхностных или сообщающихся с кожей и слизистыми ран в большинстве случаев недостоверно, т. к. эти бактерии являются нормальными представителями кожи и слизистых.

При любой хирургической патологии, протекающей с лихорадкой, показаны неоднократные посевы крови. Роль неспорообразующих анаэробов в патологии мало изучена, но доказана причастность этих бактерий наряду с другими известными патогенами хирургической патологии. Вместе с тем обследование более 600 образцов крови детей в ОДКБ за 1997–1998 г. с использованием стандартных сред для анаэробов, принятых в большинстве клиник за рубежом, не выявило анаэробных микроорганизмов в крови. Обследованные глубокие раны с выделением спорообразующих анаэробов, таких как клостридии, являются обязательным, даже если нет признаков анаэробной инфекции.

Наибольшую сложность в интерпретации результатов бактериологического исследования представляет обнаружение одного или нескольких условно-патогенных возбудителей в патологическом очаге, особенно когда эти бактерии являются резидентными или могут быть транзиторными. Задача установления этиологически значимого патогена решается путем:

- обнаружения всех возможных бактерии ассоциаций, в том числе сапрофитов;
- определения количества бактерий;
- исключения, по возможности, антгонистических взаимодействий путем как можно более раннего посева пробы на питательные среды
- определения факторов патогенности у условно-патогенных микроорганизмов.

Бактериологическое исследование мокроты у детей представляет значительные трудности.

связанные со сбором материала для исследований. Для улучшения отхождения мокроты используют дренажные положения, упражнения дыхательной гимнастики, вибрационный массаж грудной клетки, для индукции мокроты используют ингаляцию с физиологическим раствором и глицерином. Отсутствие в материале элементов мокроты и наличие большого количества слюны свидетельствует о не верно собранном материале, который не подлежит исследованию.

Основными пневмотропами являются пневмококки и гемофильная палочка и обнаружение их в мокроте является достоверным для определения этиологии острой пневмонии. При пневмониях, возникших в стационаре, особенно при интенсивной терапии и в реанимационных отделениях в мокроте могут быть обнаружены помимо выше названных грамотрицательные палочки.

Бактериологическое исследование фекалий является очень трудоемкой и далеко не всегда оправданной процедурой. Результаты исследований трудно интерпретировать в связи с большой зависимостью количественного и качественного состава микрофлоры кишечника от проведенного лечения, назначения антибиотиков, зуботоников, различных других препаратов. Состав микрофлоры кишечника в большей степени свидетельствует о реакции бактерий на проведенное лечение, а не о воспалительных явлениях собственно в кишечнике. Первоочередная задача бактериологического исследования - обнаружение всех возможных истинных патогенов, являющихся причиной, в данном случае инфекции кишечника, таких как шигеллы, сальмонеллы, иерсинии, *Cl. Dificile*, кампилобактерии, ротавирусы, патогенные простейшие. Лишь в последнюю очередь определяется количество условно-патогенных и анаэробных бактерий (бифидобактерии, лактобактерии). Последнее существенно меняется при любых инфекциях и других нарушениях в организме, но следует исходить из того, что поиск истинного возбудителя инфекции требует прежде всего обнаружения патогенных возбудителей.

Определение антибиотикочувствительности этиологически значимых бактерий осуществляется в 3 вариантах:

1. определение чувствительности к 5-6 антибиотикам методом диффузии в агар (метод дисков) - метод полуквантитативный ориентировочный.
2. определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК=МПК) к конкретному антибиотику - метод количественный, определяет дозу антибиотика, после чего расчетным путем можно рассчитать необходимую дозу для терапии.
3. ускоренный автоматизированный метод, широко используемый во всех высокоорганизованных клиниках, позволяющий одновременно в течение 4-18 часов определить чувствитель-

ность и дать экспертную оценку возможности применения до 50 наименований химиопрепаратов.

Первые два метода технически не сложны и доступны большинству лабораторий. Однако следует отметить, что достоверных результатов удастся достичь лишь квалифицированным врачам-бактериологам при использовании качественных питательных сред. Эти два метода имеют право на существование только при строжайшем соблюдении стандартных условий выполнения исследований, контроля качества питательных сред и наличия стандартных сред для выращивания всех, и в том числе трудновыделяемых бактерий, которые имеют большое значение в патологии.

Реализация в практике медицинских учреждений представленных принципов вместе с расширяющимися технологическими возможностями может значительно повысить эффективность работы микробиологической лаборатории (информативность, достоверность, экономичность выдаваемых результатов), а также предоставить врачу детской клиники ценную информацию для оптимизации диагностического и лечебного процесса. Широко внедрение и развитие клинической микробиологии требует совместного и заинтересованного участия как врачей лабораторной медицины, так и клиницистов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Анкирская А.С. Достижения и задачи клинической микробиологии в акушерстве и неонатологии//Клин. лабор. диагностика, №1. 1996. С.23-26.
2. Громада Н.Е., Боронина Л.Г. Перинатальные инфекции. Методические рекомендации. Екатеринбург, 1998. 89 с.
3. Нейчев С. Клиническая микробиология. София, 1977. 237 с.
4. Прозаровский С.В., Тартаковский И.С. Оппортунистические инфекции - новая область клинической микробиологии// Клин. лабор. диагностика, №5. 1997. С.42.
5. Савицкая К.И. Клиническая микробиология: предмет, задачи, проблемы, перспективы// Лаборатория. Журнал для врачей. 1996. № 4. С.18-19.
6. Щербо С.Н., Макаров В.Б. ПЦР-диагностика заболеваний, передаваемых половым путем// Клин. лабор. Диагностика, №2. 1998. С.21-24.
7. Faigel D., Childs M., Furth E.E. et al. New noninvasive tests for *Helicobacter pylori* gastritis: Comparison with tissue-based gold standard// Dig. Dis. Sci. 1996. 41. P. 740-748.
8. Meers P., Sedgwick J., Worsley M. The Microbiology and Epidemiology of Infection for Health Science Students. 1996. 330 p.
9. Weinstein M.P. Clinical Infectious Diseases. 1996. 23. P.40-46.