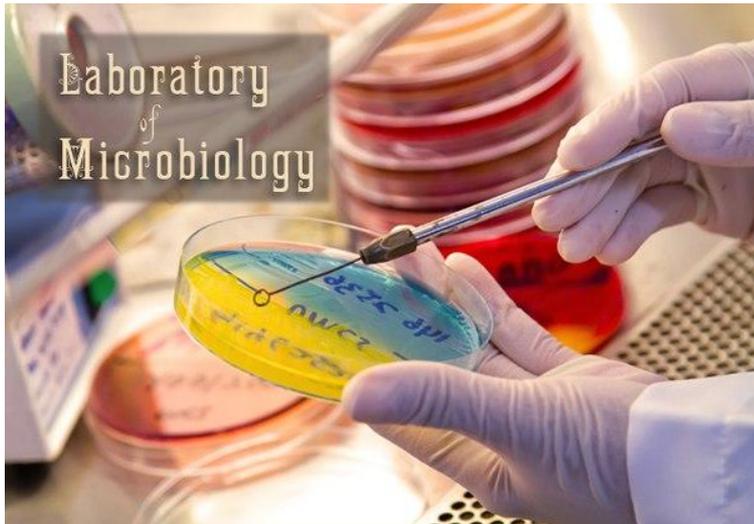


ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный федеральный университет
имени М.К. Аммосова»
Медицинский институт

Учебно-научная микробиологическая лаборатория



Выполнили: студенты 4 курса
стоматологического отделения
Иванова Даяна
Николаева Алена
Прядезникова Ньургьяна
Проверила: к.м.н., доцент Петрова М.Н

Структура лаборатории

- Отдел клинической микробиологии
- Отдел санитарной микробиологии
- Отдел ПЦР - диагностики



Download from
Dreamstime.com
The watermark comp image is for previewing purposes only.



92178883
Kiryanova | Dreamstime.com

- Учебно-научная лаборатория создана в целях внедрения инновационных подходов в здравоохранении и санитарно-эпидемиологическом исследовании, модернизации учебного процесса в медицинском образовании и привлечения профессорско-преподавательского состава и обучающихся СВФУ к выполнению научно-исследовательских работ по проблемам медицинской микробиологии и микроэкологии.

Основными задачами лаборатории являются:

- Обеспечение лабораторно-практических занятий с применением современных технологий по курсу микробиологии, вирусологии, иммунологии, санитарной, фармацевтической и клинической микробиологии для студентов, интернов и ординаторов, слушателей малой медицинской академии и курсов повышения квалификации. Лаборатория является учебной базой для новой специальности «Медико-профилактическое дело»;
- Планирование и организация научно-исследовательских работ в области клинической, санитарной и молекулярной микробиологии с привлечением профессорско-преподавательского состава и обучающихся к выполнению работ.

- Разработка и внедрение в практику современных подходов в диагностике микробных заболеваний, изучения микробного статуса человека, объектов окружающей среды и пищевых продуктов;
- Разработка инновационных образовательных программ, проектов и учебно-методических комплексов в области медицинской микробиологии для студентов и практического здравоохранения. Внедрение в образовательный процесс результатов научных исследований и экспериментальных разработок;
- Содействие в подготовке и повышении квалификации научно-педагогических и врачебных кадров в области клинической, санитарной и молекулярной микробиологии;
- Участие в российских и международных проектах, сотрудничество с ведущими российскими и зарубежными микробиологами, организация конференций и семинаров.

● **Диагностические возможности лаборатории:**

- • Комплексное исследование микрофлоры дыхательных путей, диагностика микробных заболеваний органов дыхания (носоглотки, мокроты, промывных вод бронхов и др.), диагностика микробных заболеваний ЛОР-органов, глаз;
- • Комплексное исследование микрофлоры полости рта, в т.ч. определение спектра кариесогенных и пародонтопатогенных микроорганизмов, диагностика одонтогенных инфекций;
- • Определение микрофлоры и бактерицидности кожи; диагностика воспалительных заболеваний кожи;
- • Комплексное исследование микробиоценоза мочеполового тракта, диагностика ЗППП, бактериального вагиноза, диагностика уроинфекций;
- • Комплексное изучение кишечного микробиоценоза, диагностика кишечных инфекций, включая кампиллобактериоз, выявление энтеровирусов и токсина *Cl. difficile*, диагностика абдоминальных и анаэробных инфекций;
- • Диагностика нейроинфекций, сепсиса, бактериемий, а также системных инфекционных заболеваний, микозов;



- • Определение содержания лизоцима и фагоцитарных показателей биологических жидкостей человека;
- • Определение чувствительности клинически значимых возбудителей к антимикробным препаратам, анализ механизмов резистентности; определение чувствительности бактерий к препаратам бактериофагов.
- • Санитарно-микробиологическое обследование объектов окружающей среды (воздух, вода, смывы), производственный контроль в Клинике МИ СВФУ, лечебно-профилактических учреждениях, объектах общественного питания и пищевых производствах;
- • Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов: определение патогенов, ГМИ в продуктах, определение содержания пробиотических микроорганизмов в кисломолочных продуктах и др.
- • Определение антимикробной и пробиотической активности препаратов и БАД, получение заквасок на основе консорциумов пробиотических микроорганизмов.

- • Развитие направления терапии аутоштаммами микроорганизмов.
- Все исследования проводятся с использованием одноразовых принадлежностей для взятия материала, в т.ч. с транспортной средой, с применением современных дифференциально-диагностических питательных сред, в т.ч. хромогенных и флюорогенных, тест-систем для ускоренной индикации и идентификации патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, что дает следующие преимущества:
- - Прием материала для исследования в течение рабочего дня и в выходные дни;
- - Удлинение сроков транспортировки (с 2-3 часов до 72);
- - Сокращение сроков исследования (от 7-10 сут до 2-3);
- - Высокий процент выделения микроорганизмов из исследуемого материала, чистоту выделения и высокую вероятность идентификации (более 80%);
- - Бактериологическая, вирусологическая и паразитологическая диагностика в одной лаборатории.



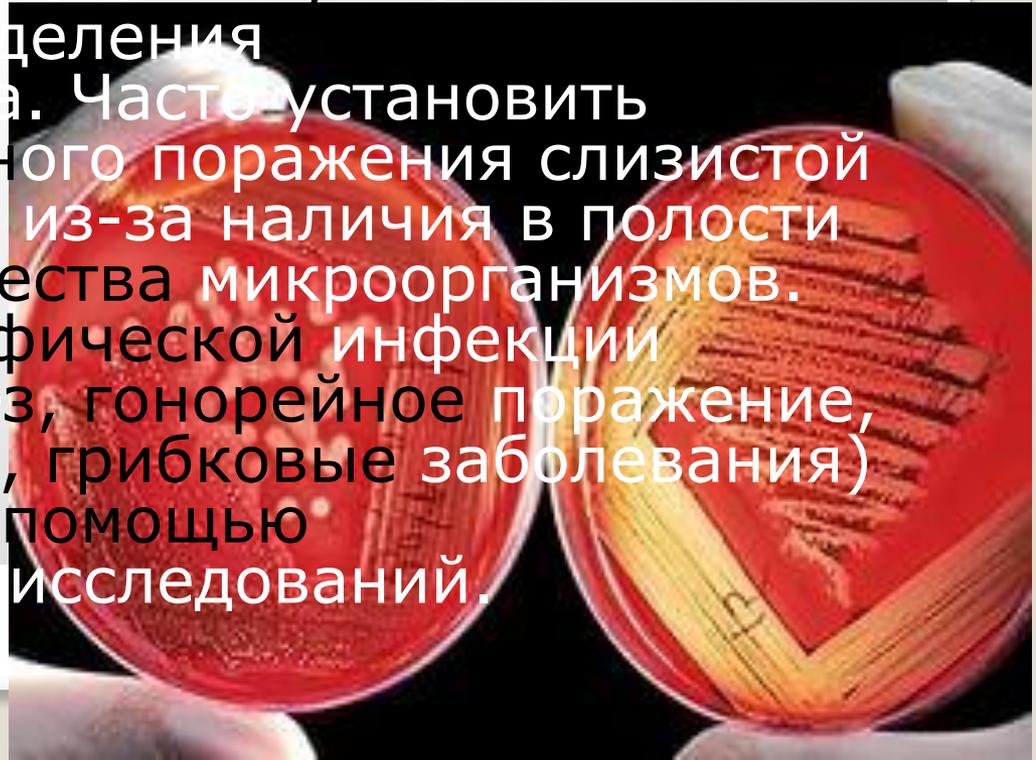
- **Клинические исследования:**
- · Комплексное исследование микрофлоры разных биотопов (кишечник, мочеполовая система, дыхательные пути, ротовая полость);
- · Исследование мочи на бактериурию;
- · Исследование кала на возбудителей кишечных инфекций;
- · Исследование на патогенный стафилококк (зев, нос, кал);
- · Исследования на коклюш и паракоклюш, менингококк, дифтерию, стрептококки, анаэробную инфекцию;
- · Исследования на стерильность (кровь, молоко, желчь);
- · Исследование материалов со слизистых на наличие патогенной микрофлоры (зева, носа, уха, глаз, кожи, раны, цервикального канала, уретры, вагины и др.);
- · Исследование мокроты;
- · Исследования на чувствительность к антибиотикам и лечебным бактериофагам;
- · Исследование на грибы, дрожжи, плесень.

- **Санитарно-бактериологические исследования**
- · Исследование смывов;
- · Исследование воздуха, воды;
- · Исследование медицинского материала на стерильность



Микробиологическое исследование в стоматологии

Бактериологическое исследование — бактериоскопия материала, получаемого с поверхности слизистой оболочки рта, язв, эрозий. Это исследование проводят во всех случаях, когда нужно уточнить причину поражения слизистой оболочки, при специфических заболеваниях, гнойных процессах, для определения бациллоносительства. Часто установить причину инфекционного поражения слизистой оболочки не удается из-за наличия в полости рта огромного количества микроорганизмов. Возбудителей специфической инфекции (сифилис, туберкулез, гонорейное поражение, ак-тиномикоз, лепра, грибковые заболевания) также определяют с помощью бактериологических исследований.



В лабораторной практике применяют микроскопию нативных и фиксированных препаратов. В первом случае препараты готовят из свежего необработанного материала. Предметные стекла для получения препаратов должны быть прозрачными, чистыми и обезжиренными, толщиной 1— 1,2 мм. Сначала стекла кипятят в 1 % растворе гидрокарбоната натрия, затем промывают водой, хлористоводородной кислотой и еще раз водой. Стекла хранят в 95 % этиловом спирте в банке с притертой пробкой или протертыми досуха в закрытых сосудах.

Более широко используют бактериоскопию фиксированных препаратов, в стоматологии — для подтверждения или исключения грибковых поражений, в частности вызываемых дрожжеподобными грибами *Candida*. Эти грибы в небольшом количестве встречаются в полости рта как сапрофиты у 50 % здоровых людей.

- Материал для исследования берут утром натощак до чистки зубов и полоскания полости рта или через 3—4 ч после приема пищи и полоскания. При получении материала для бактериологических исследований соблюдают определенный порядок:
- 1) до взятия мазков не следует применять никаких лекарственных полосканий;
- 2) перед взятием мазков больному рекомендуют прополоскать рот теплой водой;
- 3) поверхность язвы очищают стерильным марлевым тампоном;
- 4) материал берут из глубины язвы;
- 5) полученный материал немедленно направляют в лабораторию;
- 6) посев на специальные среды может быть произведен непосредственно в кабинете. Несоблюдение этого порядка может привести к ложноотрицательному заключению. Наличие единичных дрожжеподобных клеток в препарате, даже в стадии почкования, не имеет диагностического значения и расценивается как носительство. Обнаружение большого количества элементов гриба, множественное почкование и наличие мицелия или псевдомицелия свидетельствует об его паразитировании. Бактериоскопическое исследование проводят периодически в процессе лечения, эффективность терапии оценивают на основании результатов лабораторных исследований.

Обнаружение бледной трепонемы под микроскопом в темном поле служит самым надежным подтверждением диагноза первичной сифиломы (твердого шанкра). Это основной метод выявления заболевания, так как серологические реакции становятся положительными только через 2—3 нед после возникновения твердого шанкра. Трепонемы содержатся в большом количестве в папулах и эрозиях при вторичном сифилисе. При язвенном гингивите и стоматите Венсана в 100 % случаев выявляют фузоспирохеты, преобладающие над другой микрофлорой.

Серологическое исследование. К серологическим относятся методы изучения определенных антител и антигенов в сыворотке крови больного, а также выявления антигенов микроорганизмов или тканей с целью их идентификации, основанные на реакциях иммунитета.

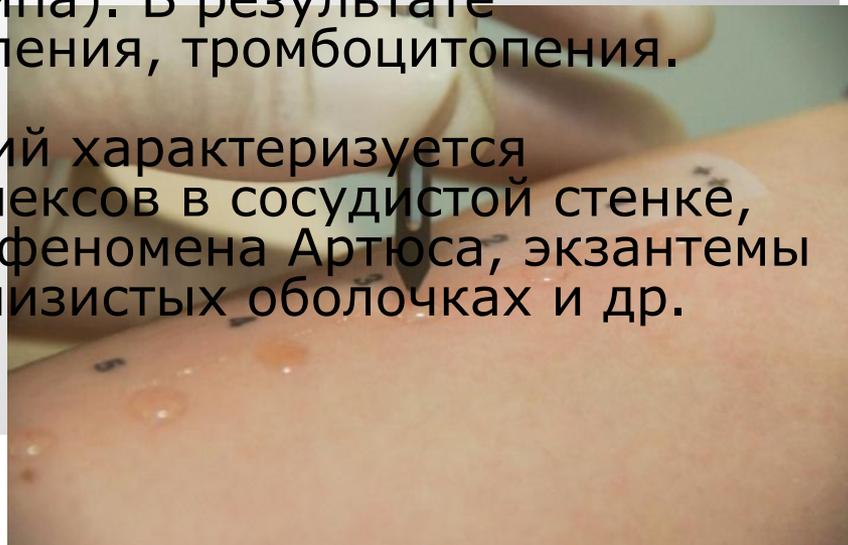
Реакции Вассермана (реакция свертывания комплемента), Кана и цитохолевую (осадочные реакции) применяют для диагностики сифилиса. При сифилисе серологические реакции становятся положительными через 2—3 нед после возникновения твердого шанкра (спустя 5—6 нед после заражения), при вторичном сифилисе они резко положительные, а при третичном сифилисе положительные в 50—70 % случаев. Следует помнить, что реакция Вассермана иногда может быть отрицательной даже во вторичном периоде сифилиса. В связи с этим во избежание ошибок при подозрении на сифилис стоматолог обязан послать пациента на консультацию к венерологу.

С помощью серологических проб выявляют лиц, инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ). При подозрении на бруцеллез применяют серологические реакции Райта или Хаддлсона.



Диагностика лекарственной аллергии. Диагностика сенсibilизации к лекарственным препаратам достаточно сложна, что обусловлено значительным разнообразием иммунологических механизмов, определяющих клиническую симптоматику. В одних случаях реакцию формирует взаимодействие антигена Е с IgE, фиксированным на мембранах полинуклеаров и макрофагов (аллергические реакции I типа). Для этого механизма типичны анафилактический шок, формирование волдырей, отеков. В других случаях преобладают явления цитолиза вследствие взаимодействия антигена с антителом при участии компонентов комплемента на уровне мембран клеток (аллергические реакции II типа). В результате развиваются гемолиз, лейкопения, тромбоцитопения.

Тип III аллергических реакций характеризуется отложением иммунных комплексов в сосудистой стенке, что обуславливает развитие феномена Артюса, экзантемы с проявлениями на коже и слизистых оболочках и др.



К аллергическим реакциям IV типа относятся синдромы, которые формируют проявления гиперчувствительности замедленного типа — клеточные реакции с участием лимфоцитов, например лекарственные экземы, контактные дерматиты и стоматиты.

В связи с многотипностью аллергических осложнений, наложением неспецифических токсических проявлений надежность и результативность диагностических тестов довольно низкие. Условно можно выделить следующие основные методы диагностики лекарственной аллергии: сбор аллергологического анамнеза, постановка кожных и провокационных проб, проведение лабораторных исследований, в том числе неспецифических и специфических тестов.

Сбор аллергологического анамнеза — первый этап обследования, который играет очень важную, а возможно, и основную роль в диагностике лекарственной аллергии. Правильно собранный анамнез позволяет установить наличие аллергена и обосновать последующие этапы аллергологического обследования.

При расспросе больного следует выяснить наличие в прошлом аллергических заболеваний (бронхиальная астма, поллиноз, или сенная лихорадка, экзема, ревматизм и др.) у него, его родителей и родственников. Это важно, потому что у лиц, предрасположенных к аллергическим проявлениям, чаще наблюдаются аллергические реакции на лекарственные вещества.



Далее следует выяснить, какое лекарственное средство больной принимал длительное время или часто, так как аллергическая реакция чаще всего возникает на многократно применяемые препараты; имеется ли повышенная чувствительность к отдельным пищевым продуктам, пыльце растений, химическим веществам, укусам насекомых, шерсти животных, духам и другим аллергенам.

Больного расспрашивают о наличии грибковых поражений кожи и ногтей типа эпидермофитии и трихофитии. Известно, что у 8—10 % больных с этими заболеваниями могут возникать острые аллергические реакции на первое введение пенициллина в связи с наличием общих антигенных свойств у трихофитона, эпидермофитона и пенициллина и возможной латентной сенсibilизации к нему. Выясняют, имеется ли у больного профессиональный контакт с лекарственными веществами и с какими.

Собранный аллергологический анамнез врач должен оценить критически, так как информация больного не всегда бывает объективной. Установление связи клинических проявлений аллергоза с приемом определенного лекарственного препарата и угасание (исчезновение) их после отмены этого препарата являются основанием для постановки диагноза.

Следующий этап аллергологического обследования — постановка кожных и провокационных проб с лекарственными веществами или сывороточными препаратами. Достоинства кожных проб — простота постановки и учета, доступность, однако кожные пробы с лекарственными веществами не могут быть рекомендованы для широкого применения, так как их нельзя считать абсолютно специфичными и безопасными.

Различают аппликационные, капельные, скарификационные и внутрикожные пробы.

Результаты кожных проб, даже выполняемых методически правильно, могут быть как ложноположительными, так и ложноотрицательными. Ложноположительные кожные пробы обуславливают необоснованное ограничение применения ряда эффективных препаратов, а ложноотрицательные не гарантируют от развития аллергической реакции после следующего приема данного препарата.

Для объективной оценки положительных результатов кожных проб предложены тесты с воспроизведением местной эозинофилии и местного лейкоцитоза, которые позволяют статистически достоверно различить истинные и ложные ответы при аллергических реакциях немедленного типа.

Существуют также непрямые кожные тесты (проба Прауснитца—Кюстнера, Кеннеди, Урбаза—Кенигштейна). Сущность этих методов заключается во внутрикожном введении сыворотки крови больного здоровому реципиенту. По истечении времени, необходимого для фиксации антител (реагинов) в клетках кожи, в этот же участок вводят испытуемый аллерген (в пробе Кеннеди порядок введения ингредиентов обратный). При наличии у больного аллергии немедленного типа в месте введения сыворотки и аллергена развиваются гиперемия и инфильтрат.

- Кожные пробы проводит специально обученный средний медицинский персонал в амбулаторных и обычных стационарных условиях, остальные пробы — в соответствующих лабораториях и стационарах.



При проведении *провокационных проб* воспроизводят местную очаговую реакцию путем введения в организм больного (в период ремиссии) аллергена, к которому предполагается повышенная чувствительность.

- В стоматологической практике используют следующие провокационные пробы:

- *подъязычную*: аллерген вводят под язык и учитывают развитие воспаления слизистой оболочки рта;

- *лейкопеническую*: до и через 20—40 мин после введения аллергена подсчитывают число лейкоцитов. Уменьшение его более чем на 1000 клеток в 1 мм^3 является показателем сенсibilизации к данному аллергену;

- *тромбоцитопенический индекс*, основанный на агглютинации тромбоцитов в периферической крови комплексами антиген—антитело и уменьшении их количества после введения аллергена.

Следующий этап диагностики лекарственной аллергии — *лабораторные исследования*. Применяют клеточные реакции, а для выявления специфических антител — следующие серологические реакции: микропреципитации по Уанье, преципитации в геле, агглютинации и непрямой гемагглютинации, связывания комплемента.

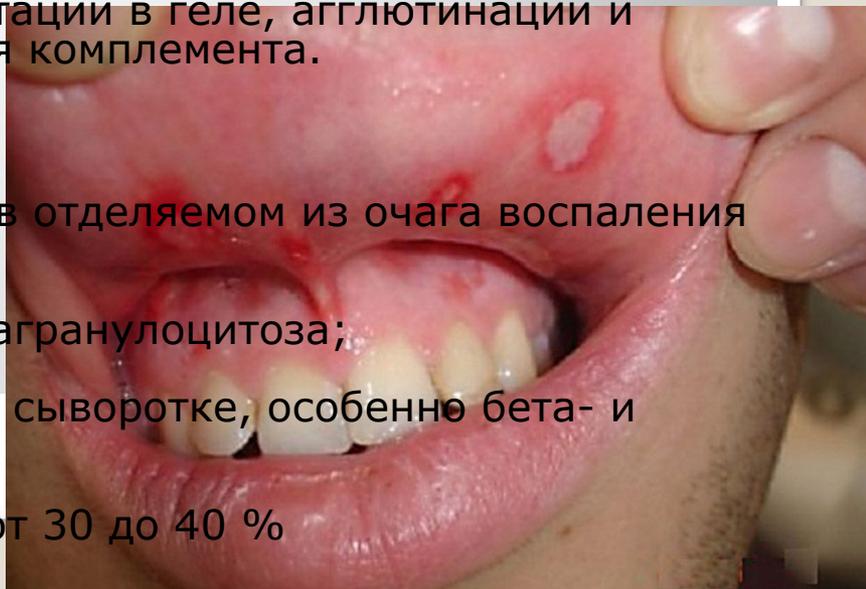
- *Неспецифические тесты.*

- увеличение количества эозинофилов в отделяемом из очага воспаления и периферической крови;

- тромбоцито- и лейкопения вплоть до агранулоцитоза;

- увеличение содержания глобулинов в сыворотке, особенно бета- и гамма-глобулинов.

Достоверность этих тестов колеблется от 30 до 40 %



Неспецифические тесты, позволяющие выявить сенсibilизацию организма к тем или иным аллергенам:

- кожная и мукозная пробы;
- клеточные тесты: реакция лейкоцитоллиза, показатель повреждаемости нейтрофилов, реакция агломерации лейкоцитов, индекс агглютинации тромбоцитов, реакция дегрануляции базофильных лейкоцитов (по Шелли) и др.

С помощью клеточных тестов выявляют *специфические реакции* сенсibilизированных клеток — лимфоцитов, макрофагов. К группе этих методов относятся реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ), реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ), реакция торможения миграции макрофагов (РТММ), показатель повреждаемости нейтрофилов (ППН), прямой и непрямой базофильные тесты Шелли, тест дегрануляции тучных клеток (ТДТК).

Некоторое практическое значение в диагностике лекарственной аллергии имеет изучение патохимической стадии — определение в крови содержания гистамина, серотонина, ацетилхолина, гепарина, кининов, а также оценка гистамино- и серотонинопектических свойств сыворотки крови.

Сущность клеточных серологических и биохимических тестов изложена в специальных руководствах.

Следует отметить, что кожные пробы и лабораторные методы исследования имеют значение для диагностики лекарственной аллергии только при учете данных анамнеза и клинических проявлений заболевания.

Для выявления сенсibilизации к микроорганизмам применяют внутрикожные пробы и лабораторные методы (РБТЛ, РТМЛ, РТММ, ППН и др.) с соответствующими бактериальными аллергенами.

Биохимическое исследование крови, мочи и др. Исследование на содержание глюкозы проводят при клиническом подозрении на сахарный диабет (сухость во рту, хронический рецидивирующий кандидоз, болезни пародонта и др.).

Нередко возникает необходимость в проведении исследования желудочного сока и др.

Список использованной литературы

- Пропедевтическая стоматология: учебник. Базикян Э.А., Робустова Т.Г., Лукина Г.И. и др. / Под ред. Э.А. Базикяна. 2010.
- <http://stom-portal.ru/karies-zubov/laboratorn-ye-metodi-issledovaniya-v-stomatologii>
- http://www.zdorovih.net/modules.php?name=Articles&pa=showarticle&articles_id=4011
- Лекции по ортопедической стоматологии: учебное пособие / Под ред. проф. Т.И. Ибрагимова. - 2010.

● **Спасибо за внимание!**

