

Тема: «Микробиологические методы
исследования в гастроэнтерологии»



MedicalPlanet.su
- медицина для вас.

Рис. 3.50. Мазок *S. enteritidis*. Окраска по Граму



- **Микробиологическая диагностика.** Основной метод диагностики — *бактериологический*: посев и выделение возбудителя из крови (гемокультура — на 1-ой или 2-й неделе болезни), кала (копрокультура — на 2-й или 3-й неделе болезни), мочи (уринокультура), желчи, костного мозга.
- Бактерии на дифференциально-диагностических средах (Эндо, Плоскирева) образуют лактозонегативные неокрашенные колонии.
- Чистую культуру идентифицируют по биохимическим и антигенным свойствам (РА возбудителя с адсорбированными агглютинирующими о- и Н-сальмонеллезными сыворотками).

- Для выявления источника инфекции применяют фаготипирование Vi-фагами. Серологический метод: обнаружение o-, H- и Vi-антител в РНГА, ИФА или в латекс-агглютинации. Бактерионосителей выявляют по обнаружению Vi-антител в сыворотке крови с помощью РНГА и положительному результату выделения возбудителя в чистой культуре.

- Микробиологическая диагностика.
Бактериологический метод: материал для исследования — рвотные массы, кал, промывные воды желудка.
- При идентификации выделенных культур необходим широкий набор диагностических О- и Н-сывороток. Вспомогательное значение имеет *серологический метод* диагностики.

- Условно-патогенными являются: *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis* (энтерококки), *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*.

- Острые заболевания, вызванные стафилококками, цитробактерами, протеем, клебсиеллами, чаще протекают как гастрит и гастроэнтерит.
- Кишечные палочки вызывают колит, энтерит и энтероколит иногда протекающие тяжело с обезвоживанием организма или развитием сепсиса.
- Клостридиальная инфекция может протекать по типу некротического энтероколита и выраженной интоксикации.

- Заражение бактериями происходит в результате приема контаминированной микробами пищи, в которую они попадают от людей – больных и носителей, реже от животных.
- В пищевых продуктах бактерии способны к размножению в условиях комнатной температуры, а псевдомонады и клебсиеллы – при температуре бытового холодильника.
- При размножении стафилококка и клостридий в пищевых продуктах накапливается ЭКЗОТОКСИН.

- Для постановки этиологического диагноза используют бактериологический метод. Материалом для исследования служат испражнения, рвотные массы, промывные воды желудка, пищевые продукты и сырье с которыми связывают развитие болезни. Материал должен быть исследован в первые часы после его забора.

- Материал засевают на чашки со средами Левина (Эндо) – для выделения энтеробактерий, желточно-солевой – для стафилококков, МПА с фурагином – для выделения псевдомонад, щелочной агар – для вибрионов, МПА – для бацилл, среду Китта-Тароцци – для клостридий. Выделяют чистые культуры, проводят их идентификацию, определяют чувствительность к антибиотикам, определяют факторы патогенности.

- Это активно подвижные, изогнутые палочковидные грамотрицательные бактериальные клеток. Бактерии были отнесены к роду кампилобактер и названы Campilobacter piloridis. В последствии анализ ДНК этой бактерии показал, что она не принадлежит к роду Campilobacter, её выделили в отдельный род Helicobacter.

- Многие виды рода *Helicobacter* являются патогенными для человека и животных и обитают в ротовой полости, желудке, различных отделах кишечника человека и животных.
- Патогенными для человека и животных являются *H.pylori*. Виды рода *Helicobacter* являются единственными на сегодняшний день микроорганизмами, способными длительно выживать в чрезвычайно кислом содержимом желудка и даже колонизировать его слизистую.

● Морфология

- *H. pylori* – спиралевидная грамотрицательная бактерия размером около 3μ. Она обладает 4-6 жгутиками и способностью очень быстро двигаться даже в густой слизи или агаре. Она микроаэрофильна, то есть требует для своего развития значительно меньших концентраций кислорода, чем содержится в атмосфере.
- *H. pylori* вырабатывают оксидазу, каталазу и уреазу







● Факторы вирулентности

1. Жгутики.
2. Липополисахариды и белки наружной оболочки бактерии.
3. Литические ферменты – муциназа, протеаза, липаза.
4. Уреаза – фермент, расщепляющий мочевины с образованием аммиака.
5. Различные экзотоксины.
6. Различные эффекторные белки.

● Диагностика инфекции

1. Определение титра антител в сыворотке крови к антигенам *H.pylori*.
 2. Определение наличия антигенов *H.pylori* в кале.
 3. Уреазные дыхательные тесты, основанные на определении концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе с помощью газоанализатора.
- Самый надежный метод – биопсия.

● Дисбактериоз

- Дисбактериоз — это качественное и количественное изменение состава нормальной микрофлоры макроорганизма. Причины формирования дисбактериоза разнообразны:
 1. нерациональная антибиотикотерапия;
 2. действие токсических веществ, инфекционные заболевания — сальмонеллез, дизентерия;
 3. соматические заболевания — сахарный диабет, онкологические заболевания;
 4. лучевая и гормонотерапия.

- Дисбактериоз может быть ярко выражен клинически в виде нарушений деятельности ЖКТ – диареи, колита, синдрома малой сорбции. При разных формах дисбиотических изменений лидирующим агентом могут быть разные условно-патогенные возбудители – стафилококки, дрожжеподобные грибы, аспергиллы, клебсиеллы и др.

- Желчь исследуют при воспалительных заболеваниях желчного пузыря и желчных протоков (холециститы, холангиты, желчнокаменная болезнь), при диагностике брюшного тифа и брюшнотифозного носительства. Наиболее часто из желчи выделяют *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, *Actinomyces spp.*, *Clostridium spp.*, *Salmonella spp.*

- Желчь собирают путем зондирования, в три стерильные пробирки, отдельно по порциям А, В и С (соответственно дуоденальное содержимое, пузырную желчь и желчь из желчных протоков), либо во время операции с помощью шприца в одну пробирку, соблюдая правила асептики.
- Дуоденальное содержимое и желчь имеют зеленовато-желтый цвет и щелочную реакцию. Кислая реакция, белесоватый оттенок жидкости, наличие хлопьев свидетельствуют о примеси желудочного сока, такой материал не пригоден для исследования. Пробы доставляют в лабораторию в течение 1-2 часов от момента взятия.

- . Культивирование.
- По 0,1 мл каждой порции желчи высевают на кровяной агар, инкубируют при 35-37° С, 5-10% CO₂, в течение 24-48 часов; по 0,1 мл на среду Эндо (среда МакКонки) – при 35-37° С в аэробных условиях, в течение 24 часов; на анаэробный агар (агар Шедлера и другие) - при 35-37° С в анаэробных условиях в течение 7 дней; в тиогликолевую среду - при 35-37° С в анаэробных условиях в течение 7-10 дней. Для выделения сальмонелл желчь засевают в соотношении 1:9 в селенитовый бульон, а также помещают в термостат нативную желчь, в последующем на протяжении 3 дней ежедневно производят высевы на висмут - сульфит агар с селенитового бульона и из нативной желчи.

- Желчь, полученная в результате дуоденального зондирования, содержит микроорганизмы, попавшие из ротовой полости и верхних отделов пищеварительного тракта. На контаминацию желчи микрофлорой полости рта указывают находки в ней нейссерий и дрожжеподобных грибов. Наиболее достоверными являются результаты исследования проб, полученных во время операции.
- При оценке результатов необходимо учитывать количество микроорганизмов в 1 мл желчи, так как по степени микробного обсеменения можно судить о локализации воспалительного процесса и оценивать его динамику при повторных исследованиях. Находка значительных количеств *S. aureus* может свидетельствовать о печеночном или поддиафрагмальном абсцессе.