

УДК 616-091.5-076

Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований

М.Н. Зубков

Городская клиническая больница № 23, Москва, Россия

Приведены общие требования, предъявляемые к биологическим материалам, направляемым для исследования в бактериологическую лабораторию; описаны правила взятия клинических образцов при разных формах инфекционной патологии. По каждой группе инфекций даны рекомендации по трактовке результатов микробиологических исследований соответствующих материалов.

Рекомендации предназначены для врачей-клиницистов, врачей-микробиологов, эпидемиологов, медицинских сестер.

Ключевые слова: биологический материал, забор материала, транспортировка материала, микробиологическое исследование, интерпретация результатов.

Biological Specimen Collection, Transport, and Interpretation of Microbiological Results

M.N. Zubkov

City Clinical Hospital № 23, Moscow, Russia

These guidelines present the general requirements to biological specimens assigned for microbiological testing. Instructions on specimen collection in the management of different infections are described. Recommendations on interpretation of microbiological results are given for every group of infections and corresponding specimens.

For clinicians, clinical microbiologists, clinical epidemiologists, and nurses.

Key words: biological specimen, specimen collection, specimen transport, microbiological testing, interpretation of results.

Введение

Сбор и транспортировка биологического материала является начальным и одним из самых ответственных этапов этиологической диагностики инфекций. Нарушение правил забора биологического материала, получение нерепрезентативных клинических образцов, неправильная и несвоевременная их

доставка в лабораторию – все это снижает достоверность результатов бактериологического исследования, приводит к неправильному выбору антибактериальной терапии, что в конечном итоге наносит вред больному и увеличивает неоправданные материальные затраты лечебного учреждения [1]. Предварительное бактериоскопическое исследование позволяет оценить качество биологического материала и своевременно информировать клиницистов о необходимости повторного получения более пригодных образцов для бактериологического исследо-

Контактный адрес:
Михаил Николаевич Зубков
Эл. почта: zoubkov@rambler.ru

вания. Получение биологического материала должно проводиться в соответствии с разработанными бактериологической лабораторией и согласованными с клиническими отделениями методическими рекомендациями, а врачи-бактериологи обязаны регулярно проводить инструктаж клиницистов и медицинских сестер клинических подразделений.

Общие правила получения биологического материала [2–4]

- Биологический материал целесообразно получать до начала антимикробной терапии.
- Материал для бактериологического исследования берут непосредственно из очага инфекции или исследуют клинически значимый биологический материал.
- Необходимо соблюдать асептику, избегая контаминации биологического материала посторонней микрофлорой.
- Для взятия отделяемого из раны, мазков со слизистых оболочек, из глаза, уха, носа, зева, цервикального канала, влагалища, анального отверстия следует использовать стерильные ватные тампоны. Для крови, гноя, спинномозговой жидкости и экссудатов используют стерильные шприцы и специализированные транспортные среды; для мокроты, мочи и кала – стерильные плотно закрывающиеся небьющиеся контейнеры.
- Количество материала должно быть достаточным для проведения исследования.
- Нативный материал доставляют в лабораторию в максимально короткие сроки (для большинства образцов не позднее 1,5–2 ч после их получения). Допускается хранение материала в холодильнике при 4°С (это не относится к биологическому материалу, полученному из стерильных в норме локусов: ликвору, крови, внутрисуставной и плевральной жидкости!). При использовании транспортных сред биологический материал можно хранить в течение 24–48 ч.
- Жидкий биологический материал можно транспортировать непосредственно в шприце, на кончик которого надет стерильный колпачок или загнутая под углом игла.
- Для исследования на анаэробы биологический материал необходимо помещать в анаэробные условия. Для жидких образцов (кровь, гной, экссудат, жидкости из стерильных полостей) используют специальные флаконы с жидкой питательной средой, заполненные газовой смесью определенного состава, куда из шприца уколom иглы через резиновую плотно завальцованную крышку вносят материал. Можно использовать анаэробные коммерческие тампоны с транспортной средой.

• К материалу прилагают сопроводительный документ, где указывают наименование, источник и метод получения биологического материала, дату и время его взятия; ФИО, пол и возраст больного; название учреждения, отделения, № палаты; предполагаемый диагноз инфекционной патологии и предшествующую антибактериальную терапию; фамилию и подпись врача, направившего материал для проведения бактериологического исследования.

Особенности хранения и транспортировки образцов для скрининга некоторых групп микроорганизмов

***Actinomyces* spp.** Важно соблюдать обычные меры предосторожности при взятии материала для исследования на анаэробы. Если в материале присутствуют гранулы («друзы»), их переносят стерильной пеллелью или пинцетом на предметное стекло, аккуратно раздавливая. Приготовленный препарат окрашивают по Граму, затем проводят бактериоскопию под малым увеличением для обнаружения фрагментов нитей из палочковидных и кокковидных грамположительных структур. Раздавленные гранулы также могут быть засеяны на соответствующую питательную среду [2, 5].

***Clostridium* spp.** Исследование на *C. difficile* и определение ее токсинов проводится только при жидком характере стула. Транспортные среды не используются. Посев следует производить в течение 2 ч после забора материала. При невозможности проведения исследования в указанные сроки образцы могут быть помещены в анаэробные условия (транспортная среда для анаэробов). Кал для исследования на *C. difficile* можно хранить при температуре 5°С до 2 дней, для исследования на цитотоксины – при 5°С до 3 дней или при –70°С более длительное время (не следует хранить образцы при –20°С из-за значительного снижения активности цитотоксинов) [2, 6]. Выделение некоторых других видов клостридий (*C. tetani* и *C. botulinum*) требует более сложных методических подходов [5].

***Campylobacter* spp.** Образец кала исследуют в течение не более 1 ч после его получения. Возможно проведение бактериологического исследования материала, полученного с помощью ректального тампона. При невозможности доставки биологического материала в лабораторию в течение 2 ч или при получении материала с помощью ректального тампона используют щелочную пептонную воду с тиогликолем и цистином [2, 4]. Также возможно использование коммерческих транспортных сред, таких как модифицированная среда Стюарта или сре-

да Cary-Blair [5]. Образцы в транспортных средах хранят при температуре 4° С.

Helicobacter* spp. *H. pylori редко выделяется при бактериологическом исследовании кала. Для бактериологического исследования используют образцы, полученные при биопсии желудка. Поскольку *H. pylori* высоко чувствителен к высушиванию, необходимо или в течение 2 ч проводить посев биологического материала, или использовать транспортные среды, содержащие 20% глицерол или среду Стюарта [2, 4].

Corynebacterium diphtheriae. Материалом для исследования служат мазки из очагов воспаления в ротоглотке. Также материалом для бактериологического исследования могут служить дифтеритические пленки. Тампоны доставляют в лабораторию не позднее 3 ч после взятия материала. При невозможности своевременной доставки биоматериала в бактериологическую лабораторию рекомендуется проводить посев материала на чашки с питательной средой или использовать транспортную среду с теллуридом [3, 5]. При доставке биоматериала на дальние расстояния можно использовать тампоны, предварительно смоченные 5% раствором глицерина. В осенне-зимнее время года засеянный на чашки Петри или в транспортную среду материал доставляют в сумках с грелками. При невозможности немедленной доставки используют полужидкую транспортную среду, например Amies.

Listeria monocytogenes. Легко выделяется из стерильных в норме образцов (кровь, спинномозговая жидкость, амниотическая жидкость, плацента). Посев образцов на среды должен проводиться сразу же после получения и культивироваться при 35° С или храниться при 4° С не более 48 ч [2].

Neisseria meningitidis. Чрезвычайно термолабильна, поэтому образцы немедленно доставляют в лабораторию, избегая чрезмерного перегрева и особенно охлаждения. Ликвор можно хранить в течение нескольких часов в термостате при 37° С или в термосе, в котором его доставляют на исследование [2, 3].

Neisseria gonorrhoeae. Материалом для бактериологического исследования служат отделяемое из цервикального канала у женщин и уретры у мужчин. Для забора материала используют специальные тампоны из дакрона или вискозы, так как альгинат кальция может быть для гонококков токсичным [2, 5]. Нежелательно использование хлопковых тампонов, так как ворсинки хлопка могут содержать жирные кислоты и ингибировать рост гонококков. Хлопковые тампоны и тампоны, содержащие альгинат кальция, могут быть использованы только для инокулирования материала на се-

лективную среду сразу после забора материала. Среду предварительно подогревают, а засеянные чашки помещают в СО₂-анаэроостаты или специальные пластиковые пакеты и транспортируют в лабораторию.

***Peptostreptococcus* spp.** Высоко чувствительны к действию кислорода, поэтому биоматериал необходимо доставить в лабораторию в течение 1 ч или использовать специальные анаэробные транспортные среды.

Streptococcus pneumoniae. Подвержен спонтанному аутолизу и гибели при хранении биоматериала в холодильнике или задержке сроков проведения исследования.

Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Yersinia enterocolitica. Исследуют свежий кал в течение 1 ч после получения пробы, либо применяют транспортную среду.

Кровь

Общие правила

➤ Медперсоналу необходимо соблюдать меры индивидуальной защиты, предусмотренные при работе с потенциально контагиозными материалами (обязательно использование резиновых перчаток).

➤ Не следует брать кровь из сосудистых катетеров, кроме случаев, когда предполагается катетер-ассоциированная инфекция.

➤ При остро возникшем септическом состоянии исследуют 2-3 образца крови, полученных отдельными венепункциями с интервалом 30 мин (лучше в период подъема температуры, а не на высоте лихорадки). При подостром течении инфекции кровь исследуют в 1-й день трехкратно с интервалом 15–20 мин, а через 24 часа проводят еще 3 исследования крови. Если в предшествующие 1–2 недели больному проводилась антимикробная терапия, кровь исследуют 2 раза в сутки в течение 3 дней. При лихорадке неясного генеза кровь исследуют 2 раза в течение 1 часа, затем по той же схеме через 24 и 36 часов (дальнейшее увеличение числа посевов существенно не влияет на результативность анализа) [2, 3, 7].

➤ Кожу над пунктируемой веной тщательно обрабатывают 70% этиловым спиртом, затем 1–2% настойкой йода в течение 30 с (обработку кожи проводят спиралеобразными движениями по направлению от центра предстоящей венепункции к периферии). Дают высохнуть обработанному участку кожи, затем, не пальпируя вену повторно, производят венепункцию, после чего вновь обрабатывают участок 70% этиловым спиртом для удаления избытка йода и предотвращения раздражения кожи.

При аллергической реакции на йод кожу дважды обрабатывают 70% этиловым спиртом.

➤ Объем исследуемой крови при каждой венопункции у детей составляет 1–5 мл, у взрослых – 10–30 мл.

➤ Посев крови осуществляют во флаконы с питательной средой (используются разные основы, предназначенные для предпочтительного культивирования аэробных или анаэробных микроорганизмов), желательно содержащую 0,025–0,05% сульфополианитолсульфоната натрия (SPS)*, за исключением случаев подозрения на менингококцемию или гонококцемию (SPS ингибирует рост некоторых штаммов *Neisseria*) [2, 4]. Перед использованием флаконов визуально определяют прозрачность среды, так как любое помутнение свидетельствует об их непригодности.

➤ Непосредственно перед посевом крови резиновую пробку флакона дезинфицируют 70% этиловым спиртом и настойкой йода, дают подсохнуть обработанной поверхности, затем прокалывают пробку флакона иглой шприца и производят посев крови. Флаконы маркируют и до транспортировки в лабораторию содержат в термостате или при комнатной температуре (не в холодильнике!).

➤ При отсутствии в отделении флаконов для гемокультур в исключительных случаях допускается использование 20-миллилитрового шприца с иглами. В шприц предварительно набирают 0,5–0,7 мл стерильного гепарина, заменяют иглу и затем пунктируют вену. Набирают 10–15 мл крови, перемешивают ее с гепарином осторожным покачиванием шприца (иглу с него не снимают) и в этом же шприце с согнутой у основания иглой (или надетым на нее стерильным колпачком) немедленно отправляют в лабораторию [2].

➤ При подозрении на катетер-ассоциированную инфекцию исследуют сосудистый катетер. В асептических условиях отрезают его дистальный (внутрисосудистый) конец около 5 см длиной, помещают в стерильный контейнер (пробирку) и немедленно доставляют в лабораторию. Важно не допускать высыхания образца.

Трактовка результатов

Посевы крови инкубируют не менее 7 дней и ежедневно контролируют наличие роста микробов. При получении гемокультуры результаты оценивают в зависимости от вида бактерий и скорости их роста. Однократное выделение коагулазоотрица-

тельных стафилококков, коринебактерий, пропионобактерий, *Bacillus* spp., негемолитических (за исключением группы D) и зеленеющих стрептококков следует соотносить с клиническими данными (вероятнее всего в данном случае имеет место контаминация) и при необходимости повторить исследование [2, 4]. При продолжительной бактериемии у больных с инфекционным эндокардитом (ИЭ) эффективность выделения гемокультуры при трехкратном посеве крови достигает 95%.

При исследовании крови необходимо использовать флаконы со средой, поддерживающей рост большинства бактерий, в том числе со сложными питательными потребностями.

Если при исследовании внутрисосудистого катетера на кровяном агаре появляется рост более 15 колоний бактерий, то их можно рассматривать в качестве этиологического агента катетер-ассоциированной инфекции. При сравнении посевов двух порций крови, взятых из катетера и из периферической вены и засеянных количественным методом, получение роста колоний из катетера, превышающего в 5–10 раз число колоний при посеве венозной крови, свидетельствует о наличии инфекции кровотока, связанной с катетером [2, 7].

Многочисленные посевы крови существенно повышают вероятность выделения гемокультуры.

Ликвор

Общие правила [4, 5]

➤ Взятие материала производит врач до начала антибактериальной терапии. Место пункции обрабатывают антисептиком (обычно йод-содержащим) и 70% этиловым спиртом. Иглу с мандреном вводят между поясничными позвонками – L3–L4, L4–L5 или пояснично-крестцовыми – L5–S1. Достигнув субарахноидального пространства, удаляют мандрен, и ликвор появляется на конце иглы.

➤ Медленно набирают ликвор в стерильные герметично закрывающиеся пробирки. Обычно используют 3 пробирки для микробиологического, клинического и биохимического анализов. Для микробиологического анализа присылают 2-ю пробирку или пробирку с самым мутным содержимым в объеме от 1 мл (для исследования на аэробные бактерии) до 2 мл (для исследования на грибы и микобактерии) и более (для исследования на анаэробы).

➤ Ликвор незамедлительно доставляют в лабораторию, где его сразу подвергают анализу. При невозможности своевременной доставки его сохраняют при 37° С в течение нескольких часов. Необходимо избегать охлаждения ликвора, поэтому для его пересылки используют любую упаковку, где

* SPS является антикоагулянтом, подавляет бактерицидную активность сыворотки и фагоцитоз, инактивирует комплемент, нейтрализует лизоцим и действие аминогликозидов.

поддерживается температура около 37° С. Такой температурный режим необходим в связи с тем, что охлаждение ликвора ниже 30° С ведет к гибели менингококков.

Трактовка результатов

Бактериальные менингиты чаще вызываются аэробами, поэтому при рутинных исследованиях поиск анаэробов не проводят. Основными возбудителями менингита у взрослых являются: *S. pneumoniae* (30–50%), *N. meningitidis* (10–30%), *Staphylococcus* spp. (5–15%), грамотрицательные бактерии кишечной группы (1–10%), *Streptococcus* spp. (5%), *Listeria monocytogenes* (5%), *H. influenzae* (1–3%) [7, 8]; у детей младшего возраста – *H. influenzae*, тип *b* (48%), *S. pneumoniae* (15%), *N. meningitidis* (серогруппа А, реже В и С); у новорожденных – стрептококки группы В или D, *E. coli*, *L. monocytogenes*. Выделенные из ликвора микроорганизмы, не входящие в разряд обычных возбудителей острого менингита, соотносят с клиническими данными и характером первичного источника инфекции (при вторичном менингите). Неоценимую помощь для клиницистов оказывает микроскопическое исследование мазков ликвора, окрашенных по Граму. Данное исследование позволяет в кратчайшие сроки дать предварительную информацию лечащему врачу о возможном возбудителе, а также правильно интерпретировать полученные результаты бактериологического исследования.

Жидкости из стерильных в норме полостей

Общие правила [2, 4]

➤ Исследуют суставную, плевральную, перитонеальную и перикардальную жидкости. Чрескожную пункцию и аспирацию жидкости производит врач. Кожу в области пункции обрабатывают 70% этиловым спиртом, а затем 1–2% раствором йода, который после завершения процедуры удаляют 70% этиловым спиртом для предотвращения ожога кожи.

➤ Попавшие в шприц пузырьки воздуха удаляют и помещают жидкость в анаэробную транспортную систему или отправляют ее в шприце, предварительно сняв (или загнув) иглу и надев на канюлю шприца защитный стерильный колпачок. Избыток жидкости или гной транспортируют в стерильных контейнерах с завинчивающейся крышкой.

➤ При достаточном количестве жидкости можно производить посев во флаконы со средой для гемокультур в объемном соотношении 1:5 – 1:10. Однако при этом становится невозможной прямая бактериоскопия материала, а сроки идентификации удлиня-

ются на сутки в сравнении с изолятами, выделенными при первичных посевах на плотные среды.

➤ Минимальный объем жидкости для выделения бактерий – 1–5 мл, для выделения грибов или микобактерий – желательнее не менее 10 мл.

➤ Взятие материала тампоном не предохраняет анаэробы от воздействия кислорода воздуха, не позволяет приготовить качественный препарат для микроскопии, не гарантирует выделение культуры при незначительном количестве микробов в образце. Не рекомендуется использовать антикоагулянты (цитрат, этилендиаминтетрауксусную кислоту), подавляющие рост некоторых видов бактерий (при необходимости лучше использовать гепарин).

Трактовка результатов

Выделение в низких концентрациях бактерий, представляющих нормальную микрофлору кожи, затрудняет интерпретацию результатов. Вероятность этиологической значимости условно-патогенной микрофлоры значительно выше у пациентов с факторами риска: наличие различного рода протезов, проведение иммуносупрессивной терапии, сопутствующие хронические заболевания.

Материал при инфекциях верхних дыхательных путей

Общие правила [2, 4, 5]

Образцы из зева

➤ Исследуют при тонзиллофарингите для выявления β -гемолитического стрептококка группы А (БГСА). При наличии специфического анамнеза проводят исследование для исключения гонококковой этиологии фарингита, в этом случае материал помещают в транспортную среду, содержащую уголь и доставляют в бактериологическую лабораторию не позднее чем через 12 часов от момента забора.

➤ Материал берут натошак или через 2 ч после еды стерильным ватным тампоном. Аккуратно прижимая язык шпатель, вводят тампон между дужками миндалин и язычком, не касаясь губ, щек, языка и язычка.

➤ Стерильным тампоном собирают материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления слизистой и доставляют его в лабораторию, используя при необходимости транспортную среду.

Мазки из носа

➤ Данное исследование обычно проводится для выявления носительства MRSA (метициллинорезистентных штаммов *S. aureus*).

➤ Вводят тампон в носовой ход до упора на уровне носовой раковины (расстояние около 2,5 см) и вращательными движениями собирают материал со слизистой носа. Повторяют процедуру в другом носовом ходе.

➤ Материал доставляют в лабораторию в транспортной среде.

Аспират из придаточных пазух

➤ Исследуют при бактериальных синуситах.

➤ Материал отсылают в лабораторию в анаэробной транспортной среде или непосредственно в шприце.

➤ Не рекомендуется исследовать промывную жидкость и мазки из носоглотки, так как образцы контаминируются нормальной микрофлорой верхних дыхательных путей, что не позволяет правильно трактовать результаты анализа.

Жидкость при тимпаноцентезе

➤ Исследуют при среднем отите в случаях, если первичная терапия оказалась безуспешной или если тимпаноцентез проводился как лечебная процедура.

➤ Очищают наружный слуховой проход слабым раствором детергента, после прокола барабанной перепонки врач-оториноларинголог шприцем собирает жидкость и помещает ее в стерильный контейнер или отправляет в лабораторию в шприце с загнутой иглой или с защитным колпачком. При невозможности своевременной доставки целесообразно использовать транспортную среду.

➤ При самопроизвольной перфорации барабанной перепонки экссудат собирают стерильным тампоном, используя слуховое зеркало. Однако в этом случае высока вероятность контаминации биологического материала эндогенной микрофлорой.

Материал при воспалении наружного уха

➤ Обрабатывают кожу 70% этиловым спиртом и промывают стерильным изотоническим раствором хлорида натрия (физиологическим раствором).

➤ Материал из очага берут стерильным ватным тампоном.

Трактовка результатов

При скрининговых исследованиях на определенный вид бактерий (*S. pyogenes*, MRSA, *N. meningitidis*, *C. diphtheriae*) результат может быть либо положительным, либо отрицательным.

При синуситах наиболее частыми возбудителями являются *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, а также анаэробы, *S. aureus*, *M. catarrhalis*, при среднем отите – *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*.

При наружном отите интерпретацию клинической значимости проводят с учетом вида и титра выделенного микроорганизма, а также его повторного выделения из последующих образцов.

Материал при инфекциях нижних дыхательных путей

Исследуют мокроту, транстрахеальный аспират, материал, полученный с помощью защищенных щеток, лаважную жидкость, плевральный экссудат, пунктат инфильтрата или абсцесса легкого, биоптат легочной ткани, кровь, сыворотку крови (при серодиагностике пневмоний, вызванных «атипичными» микроорганизмами). Наиболее информативно изучение бронхиального секрета, полученного инвазивными методами, однако их применение связано с техническими сложностями и требует высокой квалификации медперсонала. Мокрота является наиболее доступным для исследования материалом, но по надежности результатов уступает инвазивным методам, так как в большей степени подвержена контаминации микрофлорой верхних дыхательных путей (ВДП) и ротоглотки.

Общие правила [2, 4, 7]

Мокрота

➤ Исследуют свободно откашливаемую мокроту, утреннюю порцию, натощак. Пациент предварительно должен почистить зубы, десны, язык, слизистую оболочку щек зубной щеткой и прополоскать рот водой. Если мокрота отделяется плохо, накануне пациенту дают отхаркивающие средства или проводят ингаляцию физиологическим раствором.

➤ Мокроту собирают в стерильную посуду с закручивающейся крышкой.

➤ Сроки доставки мокроты в лабораторию не должны превышать 1,5–2 ч от момента ее получения (допускается хранение в холодильнике, но не более 6 часов), так как задержка ведет к аутолизу *S. pneumoniae*, а за счет размножения бактерий-контаминантов меняется истинное соотношение микрофлоры бронхиального секрета.

➤ Предварительные результаты (по данным микроскопии мазков, окрашенных по Граму) получают в тот же день; окончательные (посев и определение чувствительности к антибиотикам) – на 3–4-й день.

➤ При наличии в мазке мокроты более 10 эпителиальных клеток в поле зрения и менее 25 полиморфно-ядерных лейкоцитов (ПЯЛ) при малом увеличении микроскопа (объектив ×10) высока вероятность контаминации образца содержимым полости рта (слюной), поэтому дальнейшее исследо-

вание такого материала (посев) нецелесообразно, а материал необходимо взять повторно.

➤ Желательно проводить посев количественным методом для определения диагностических титров микрофлоры.

Трахеобронхиальные смывы

➤ Специальным шприцем в трахею вводят около 10 мл стерильного физраствора и собирают откашливаемый смыв в стерильную посуду. Бронхиальные смывы, в том числе вблизи очага воспаления, могут быть сделаны с помощью бронхоскопа.

➤ Недостатком является часто очень значительное разведение трахеобронхиального содержимого, что снижает возможность выделения бактерий, а концентрация их падает примерно в 100 раз по сравнению с мокротой.

Браш-биопсия

➤ Получают из глубины бронхов с помощью защищенной щеточки, что предохраняет материал от контаминации флорой ВДП и позволяет производить исследование на анаэробы.

Пунктат инфильтрата или абсцесса

➤ Получают при трансторакальной пункции под рентгенологическим контролем.

Плевральная жидкость

➤ Кожу перед пункцией обрабатывают 70% этиловым спиртом, а затем спиртовой настойкой йода. После прокола жидкость собирают шприцем в стерильную пробирку и незамедлительно отправляют в лабораторию.

➤ Допускается посев плевральной жидкости (по 5 мл) в аэробные и анаэробные флаконы, используемые для исследования крови.

Трактовка результатов

Интерпертация результатов проводится с учетом потенциальных этиологических агентов при данной инфекции, а также региональных эпидемиологических данных о возбудителях данной инфекции.

Потенциальными этиологически значимыми возбудителями являются: при внебольничной пневмонии – *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *S. aureus*, *L. pneumophila* и *K. pneumoniae* (у лиц, злоупотребляющих алкоголем), анаэробы полости рта (при аспирации); при пневмонии у пациентов с иммунодефицитом – представители семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. и другие грамотрицательные неферментирующие бактерии, *S. aureus* и *S. pneumoniae*.

Изоляты из бронхиального секрета, полученного инвазивным методом, расцениваются как этиологически значимые. Выделение из крови пневмотропных патогенов (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*) безусловно свидетельствует об этиологии бронхолегочной инфекции.

Выделение микроорганизмов из мокроты в концентрации $\geq 10^6$ КОЕ/мл (из бронхиальных смывов $\geq 10^4$ КОЕ/мл) считается диагностически значимым (при условии соблюдения правил забора мокроты). Однако этот показатель не является абсолютным, так как на фоне адекватной антибактериальной терапии количество бактерий в мокроте снижается, а при нарушении микробиоценоза ВДП, наоборот, может возрастать концентрация колонизирующей микрофлоры. Наиболее часто ВДП колонизируются грамотрицательными бактериями кишечной группы, *S. aureus*, зелеными стрептококками и *Candida* spp.

При исследовании мокроты бактериоскопия мазков является обязательной, так как позволяет судить о качестве взятия мокроты и, во многих случаях, сделать заключение о предполагаемой этиологии.

Материал при раневой инфекции

Общие правила

➤ В большинстве случаев исследуют пораженные ткани и аспираты, получаемые с помощью шприца. Взятие материала производит врач во время операции или перевязки.

➤ Поверхность кожи вокруг раны обрабатывают ватным тампоном, смоченным 70% этиловым спиртом или другим антисептиком. Стерильной марлевой салфеткой удаляют детриты и гной.

➤ Материал берут двумя стерильными ватными тампонами (один – для бактериоскопии, другой – для посева; для исследования на анаэробы используют дополнительный тампон) круговыми вращательными движениями от центра к периферии пораженного участка (во время взятия материала не касаются окружающих рану тканей, кожи, слизистых и др.) и немедленно доставляют в лабораторию. Для предотвращения высыхания биологического образца лучше использовать транспортные среды.

➤ При взятии кусочков ткани их помещают в стерильные емкости (пробирки и другие плотно закрывающиеся сосуды), содержащие небольшое количество стерильного физраствора. Использование транспортных сред допустимо лишь в исключительных случаях.

Материал поверхностных ран

➤ После дезинфекции поверхности раны и высухания дезинфектанта врач с помощью шприца получает аспират из глубины раны; если имеется везикула – жидкость и клетки у основания дефекта.

➤ Если аспират получить не удастся, подкожно вводят стерильный физраствор и повторяют попытку.

Биоптат с ожоговой поверхности

➤ Поверхность раны дезинфицируют и берут образец с помощью пункционной биопсии (3–4 мм) для количественного исследования.

Язвы и узелковые утолщения

➤ Пораженную область кожи дезинфицируют, удаляют поверхностный слой и делают соскоб со дна язвы или узелкового утолщения.

➤ Если имеется экссудат, его собирают шприцем или стерильным тампоном.

Раны после укусов

➤ Гнойное содержимое из раны получают шприцем после надреза, дренирования или поверхностной обработки инфицированной раны.

➤ При свежих укусах бактериологическое исследование не проводят, так как в этот период трудно выделить этиологически значимый микроорганизм.

Кости

➤ Материал получают при оперативном вмешательстве. Образец помещают в стерильный контейнер без формалина и других консервантов.

➤ Для предотвращения высыхания образца в контейнер может быть добавлен стерильный физраствор.

Глубокие раны или абсцессы

➤ Поверхность раны дезинфицируют 70% спиртом, а затем йодным раствором (1–2% настойка йода). Материал берут из глубины, избегая его контаминации поверхностной микрофлорой раны.

➤ При получении материала во время оперативного вмешательства для бактериологического исследования направляют также ткани стенки абсцесса.

Аспират мягких тканей

➤ После дезинфекции кожи берут наиболее глубоко расположенные участки патологической ткани, избегая контакта с поверхностью раны, и транспортируют их в стерильных контейнерах без формалина.

Трактовка результатов

При выделении условных патогенов следует исключить возможную контаминацию биологического материала микроорганизмами с поверхности кожи, особенно при использовании тампонов. При выделении смешанных культур предпочтение следует отдавать микроорганизмам, выделенным в большей концентрации и обладающим потенциально более высокой вирулентностью.

Желчь при инфекциях желчевыводящих путей

Общие правила [2]

➤ Желчь собирают при зондировании в процедурном кабинете отдельно по порциям А, В и С в три стерильные пробирки, либо во время оперативного вмешательства с помощью шприца в одну пробирку.

➤ Полученные порции желчи доставляют в лабораторию не позднее 1–2 ч от момента получения, следя за тем, чтобы пробирки находились в строго вертикальном положении.

Трактовка результатов

В норме желчь стерильна, но при ее инфицировании в 70–80% случаев высевают *E. coli*, *Enterococcus* spp., несколько реже *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., а также *Salmonella* spp. (при транзитном и хроническом бактерионосительстве). Из анаэробов выделяют *Clostridium perfringens*, *Peptostreptococcus* spp. (в 10–20% случаев желчнокаменной болезни). Возможно одновременное выделение аэробных и анаэробных микроорганизмов. Наиболее достоверным является исследование желчи, полученной во время оперативного вмешательства. При дуоденальном зондировании возможна контаминация желчи микрофлорой ротовой полости и верхних отделов пищеварительного тракта, в частности стафилококками и стрептококками. Необходимо проводить количественное определение каждого вида бактерий в 1 мл желчи, так как по степени микробного обсеменения можно судить о локализации воспалительного процесса и более объективно оценивать его динамику при повторных исследованиях. Выделение *S. aureus* в значительных количествах может свидетельствовать о наличии абсцесса печени или поддиафрагмального абсцесса. Обнаружение в дуоденальном содержимом нейссерий и дрожжеподобных грибов свидетельствует о контаминации желчи микрофлорой ротовой полости.

Моча при инфекциях мочевыводящих путей (МВП)

Общие правила [9]

➤ Исследуют утреннюю среднюю порцию свободно выпущенной мочи (за ночь концентрация бактерий в мочевом пузыре возрастает). Не следует принуждать пациента к приему жидкости для форсирования диуреза, так как происходит разбавление мочи и снижение числа бактерий.

➤ Для сбора мочи используют стерильные емкости. Нельзя собирать мочу из мочеприемника или судна.

➤ Перед взятием мочи проводят тщательный туалет наружных половых органов с мылом и кипяченой водой во избежание излишней ее контаминации при мочеиспускании нормальной микрофлорой промежности.

➤ Доставка мочи в лабораторию должна осуществляться в максимально короткие сроки. Посев следует проводить не позднее 2 ч после взятия материала либо в течение 8 ч при условии ее хранения в холодильнике. (При 4° С число бактерий в моче обычно остается стабильным в пределах 24 ч).

➤ Взятие мочи следует повторить, если нет условий для ее хранения в холодильнике и с момента взятия образца прошло более 2 часов, в противном случае результаты анализа могут быть недостоверными.

➤ Недопустимо бактериологическое исследование мочи, собранной в течение суток.

➤ Не рекомендуется исследовать мочу, полученную при наличии постоянного катетера.

➤ При проведении скрининговых исследований на туберкулез мочу (в объеме не менее 20 мл) исследуют в течение 3 последовательных дней.

Трактовка результатов

Диагностическим титром бактериурии обычно считают $\geq 10^5$ КОЕ/мл, однако трактовка результатов зависит от вида выделенного микроорганизма, способа взятия материала и наличия симптомов заболевания. Этиология и диагностические титры бактериурии при разных формах инфекций МВП имеют различия.

Дифтероиды, лактобактерии, зеленящие стрептококки, смешанные культуры расценивают как контаминанты. Инфекции МВП, как правило, вызываются одним микроорганизмом, значительно реже двумя – при хронической инфекции. Наличие трех и более видов микроорганизмов в больших количествах определенно указывает на контамина-

цию во время сбора мочи или на ее неправильное хранение.

Материал при инфекциях урогенитального тракта

Основные правила взятия материала у женщин [2, 4]

Амниотическая жидкость

➤ Жидкость собирают через катетер, либо аспирируют при кесаревом сечении, либо пунктируют плодный пузырь.

Уретра

➤ Материал собирают не ранее, чем через 1 ч после мочеиспускания.

➤ Отделяемое из уретры собирают стерильным ватным тампоном.

➤ Если отделяемое получить не удастся, наружное отверстие уретры обмывают мылом и ополаскивают кипяченой водой. Вводят в уретру тонкий стерильный «уретральный» тампон на глубину 2–4 см, аккуратно вращают его в течение 2 с, вынимают, помещают в соответствующую транспортную среду и доставляют в лабораторию.

Вульва, преддверие влагалища

➤ Материал берут стерильным ватным тампоном.

➤ При воспалении бартолиниевых желез производят их пункцию.

Влагалище

➤ Материал берут до проведения мануальных исследований.

➤ После введения зеркала и подъемника во влагалище материал собирают стерильным ватным тампоном с заднего свода или с патологически измененных участков.

Цервикальный канал

➤ Обнажают шейку матки с помощью зеркал и влагалищную ее часть тщательно обрабатывают ватным тампоном, смоченным стерильным физраствором или стерильной водой.

➤ Тонкий стерильный ватный тампон осторожно вводят в цервикальный канал, не касаясь стенок влагалища, и берут материал.

➤ Для бактериологического исследования можно использовать соскоб слизистой, полученный при диагностическом выскабливании стенок цервикального канала.

Матка

- Используют специальные инструменты.
- Материал из шприца помещают в стерильную пробирку.

Придатки матки

- Материал из очага инфекции (гной, экссудат, кусочки ткани) получают при оперативном вмешательстве или при диагностической пункции опухолевидных образований, проводимой через влажные своды.

Приготовление мазков для микроскопии

Помимо взятия материала на посев врач-гинеколог готовит мазки для микроскопии (не менее двух – для окраски по Граму и специальными методами), используя отдельные стерильные тампоны или стерильные гинекологические инструменты.

- Предметные стекла, предназначенные для приготовления мазков, маркируют.

➤ Материал равномерно распределяют на предметном стекле осторожными движениями, избегая грубого втирания и резких штриховых движений инструментом.

➤ Мазок высушивают при комнатной температуре, покрывают чистым предметным стеклом или помещают его в чашку Петри и отправляют в лабораторию.

➤ Не допускается хранение влажного мазка между двумя стеклами.

Трактовка результатов

Обнаружение в амниотической жидкости любых микроорганизмов в монокультуре является этиологически значимым. При этом особое значение имеют: *Streptococcus agalactiae* и *S. pyogenes*, *L. monocytogenes*, *Capnocytophaga* spp., *E. coli*, *Gardnerella vaginalis*, *H. influenzae* и *H. parainfluenzae*, *N. gonorrhoeae*.

При исследовании материала из протоков бартолиновой железы и абсцессов обнаружение ассоциации микроорганизмов из представителей нормальной микрофлоры при отсутствии в мазках по Граму лейкоцитов и наличии большого числа эпителиальных клеток свидетельствует о некачественном образце. При выделении микроорганизмов в монокультуре учитывают количество (скудный, значительный, массивный рост) и особое внимание уделяют *S. aureus*, *N. gonorrhoeae*, *E. coli*, стрептококкам, *G. vaginalis*, *H. influenzae*. Для выявления *C. trachomatis* и *U. urealyticum*. необходимы специальные исследования.

При исследовании биологических материалов из цервикального канала и матки выделение ассоциации нормальных представителей вагинальной микрофлоры при отсутствии лейкоцитов свидетельствует о контаминации образца. Выделение монокультуры при наличии лейкоцитов в мазках по Граму является этиологически значимым. Обязательным является исследование на наличие гонококков. При необходимости проводят специальные исследования на выявление хламидийной, туберкулезной и герпетической инфекции.

При эндометрите этиологическими агентами могут быть *Enterococcus* spp., *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *G. vaginalis*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *Klebsiella* spp. и другие аэробные грамотрицательные бактерии (при этом имеет значение выделение монокультуры в значительном количестве и наличие лейкоцитов в мазках по Граму), а также грам(+) и грам(-) неспорообразующие анаэробы. У женщин, использующих внутриматочные средства контрацепции, а также с иммунодефицитными состояниями возрастает роль актиномицетов. Для обнаружения *Chlamydia trachomatis* проводят специальное исследование.

При сальпингитах, воспалительных заболеваниях органов малого таза могут иметь значение *Enterococcus* spp., *S. aureus*, *S. agalactiae* (и другие стрептококки), *E. coli*, *H. influenzae*, *G. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., актиномицеты (при иммунодефицитах), *C. trachomatis*.

В материалах из уретры обнаружение ассоциации аэробных микроорганизмов из представителей нормальной микрофлоры кожи, фекалий, влажных поверхностей при отсутствии в мазках по Граму лейкоцитов свидетельствует о контаминации образца. При уретрите чаще встречается *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* и *E. coli*.

При исследовании материала из влажной среды большое значение приобретает сопоставление результатов посева с окраской мазков по Граму. Обнаружение морфологически разных микроорганизмов, в том числе *G. vaginalis*, при отсутствии лейкоцитов и наличии большого количества эпителиальных клеток, отражает нормальную микрофлору влажной среды. Обнаружение в мазке из влажной среды так называемых «ключевых клеток» вместе с грамотрицательными короткими и изогнутыми палочками и коккобациллами при отсутствии или крайне незначительном наличии лактобацилл позволяет в случае соответствующей клинической картины диагностировать бактериальный вагиноз. Выявление при вульвовагините большого количества дрожжеподобных грибов даже при наличии смешанных аэробных бактериальных культур позволяет диагностировать кандидозную инфекцию.

L. monocytogenes может быть выделена из половых путей в послеродовом периоде при наличии листериозной инфекции.

Обнаружение в отделяемом из влагалища *Carpocytophaga* spp. в чистой культуре или в преобладающем количестве в смешанной культуре при наличии лейкоцитов в мазке, окрашенном по Граму, является этиологически значимым. Для определения трихомонадной и гонококковой этиологии вагинита проводят соответствующие целенаправленные исследования.

Общие правила взятия материала у мужчин

Уретра

➤ Материал собирают не ранее 2 часов после мочеиспускания.

➤ Вводят в уретру тонкий стерильный ватный тампон на глубину 2–4 см, аккуратно вращают его в течение 1–2 с, вынимают, помещают в транспортную среду и доставляют в лабораторию.

Простата

➤ Проводят массаж простаты через прямую кишку.

➤ Материал собирают в стерильную пробирку или стерильным ватным тампоном.

➤ Для получения более достоверных результатов можно дополнить это исследование бактериологическим исследованием мочи, полученной перед и сразу после массажа простаты, что позволит выявить источник инфекции. Основным методом лабораторной диагностики простатита, позволяющим определить локализацию очага инфекции, является метод Meares и Stamey: исследованию подвергают первую порцию мочи, среднюю порцию мочи, секрет простаты и порцию мочи, полученные после массажа предстательной железы (так называемая 4-стаканная проба).

➤ При наличии симптомов острого простатита массаж простаты не проводят.

Придатки яичек

➤ Материал собирают путем аспирации с помощью шприца и иглы.

Язва полового члена

➤ Очищают поверхность язвы тампоном, смоченным физраствором.

➤ Производят соскоб язвы до появления серозной жидкости. Стерильной салфеткой удаляют жидкость и органические наслоения. (Следует избегать кровоточивости.)

➤ Надавливают у основания язвы до появления

прозрачной жидкости, аспирируют ее шприцем с тонкой иглой, закрывают иглу защитным колпачком и транспортируют в лабораторию.

Трактовка результатов

Обнаружение в материале из уретры представителей микрофлоры кожи в чистой или смешанной культуре свидетельствует о контаминации образца. Диагностическим является обнаружение в образцах из уретры и простаты при скрининговых исследованиях *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* и, возможно, *U. urealyticum*. Заслуживает внимания выделение из уретры грам(–) аэробных бактерий в чистой культуре (особенно *E. coli* у гомосексуалистов), *H. influenzae* и *H. parainfluenzae*.

При эпидидимите, абсцессах выделение представителей нормальной микрофлоры при отсутствии лейкоцитов и наличии эпителиальных клеток в мазках, окрашенных по Граму, диагностической ценности не представляет. Важным является обнаружение в чистой культуре грам(–) бактерий, включая *Pseudomonas* spp. Другие бактериальные изоляты заслуживают внимания, если при микроскопии мазков, окрашенных по Граму, выявлены лейкоциты.

Материал при исследовании на анаэробы

Общие показания к обследованию [2, 4]:

- сепсис неясной этиологии;
- гангрена, абсцессы, флегмона;
- перитонит;
- экссудативный плеврит;
- нагноения ран с подозрением на анаэробную инфекцию;
- гнойный артрит.

Исследуемые материалы:

- кровь, плевральная, перитонеальная и синовиальная жидкости;
- гной из абсцессов и других закрытых полостей. Если объем гноя превышает 2 мл, то в пробирке под резиновой пробкой сохраняются относительно анаэробные условия в течение нескольких часов;
- материалы из глубоких отделов свища (после очистки и асептической обработки наружного отверстия) и ран. Если нет возможности использовать метод аспирации шприцем, материал берут стерильным ватным тампоном, который помещают в анаэробную транспортную среду сохранения и до транспортировки в лабораторию содержат при комнатной температуре;
- фрагменты костной и мышечной тканей размером 1×1 см, взятые из глубокого очага воспале-

ния во время операции (если сроки доставки материалов в лабораторию превышают 15–20 мин, фрагменты тканей погружают в небольшой объем стерильного физраствора).

Не подлежат исследованию на анаэробы:

- отделяемое поверхностных ран и язв;
- мазки из зева, носа и ротовой полости;
- мазки из влагалища и цервикального канала;
- мокрота и бронхиальные смывы;
- моча (кроме мочи, полученной надлобковой пункцией мочевого пузыря);
- содержимое желудка, тонкого и толстого кишечника;
- фекалии (за исключением предполагаемой *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи).

Заключение

Таким образом, клиницисту следует помнить, что качество микробиологической диагностики за-

висит не только от выбранного метода исследования и его характеристик, но и от соблюдения всех правил преаналитического этапа исследования (сбор, транспортировка клинического материала, правила его хранения), а также от знаний и квалификации специалиста, проводящего оценку и интерпретацию результатов исследования на постаналитическом этапе. Улучшение работы специалистов, ответственных за выполнение данных этапов исследования, является одной из наиболее перспективных возможностей повышения качества микробиологического обследования пациента в целом. Кроме того, необходимо учитывать, что наряду с общими принципами исследования биологических проб существуют специфические особенности анализа различных видов клинического материала и выделения микроорганизмов, что требует глубоких знаний как микробиологов, так и клиницистов в этой области.

Литература

1. Преаналитический этап обеспечения качества лабораторных исследований. Справочное пособие. Под ред. В.В. Меньшикова. М.: Лабинформ; 1999.
2. Isenberg H.D. Collection, transport, and manipulation of clinical specimens and initial laboratory concerns. In: Isenberg H.D., editors. Essential Procedures for Clinical Microbiology. Washington: ASM Press; 1998. p. 1-36.
3. Зубков М.Н. Практическое руководство по клинической микробиологии и антимикробной терапии для врачей стационарной помощи. М.: МГУП; 2002.
4. Miller J.M. A Guide to specimen management in clinical microbiology. 2nd ed. Washington: ASM Press; 1999. p. 31-140.
5. Miller J.M., Holmes H.T., Krisher K. General principles of specimen collection and handling. In: Murray P.R., Baron E.J., Jorgensen J.H., Tenover F.C., Tenover F.C., editors. Manual of clinical microbiology. 8th ed. Washington: ASM Press; 2003. p. 55-66.
6. Лобзин Ю.В., Захаренко С.М., Иванов Г.А. Современные представления об инфекции *Clostridium difficile*. Клин микробиол антимикроб химиотер 2002; 4:200-32.
7. Gill V.J., Fedorko D.P., Witebsky F.G. The clinician and the microbiology laboratory. In: Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R., editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000. p. 184-221.
8. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. Под ред. Стречунского Л.С., Белоусова Ю.Б., Козлова С.Н. М.: Боргес; 2002. 384 с.
9. Журавлев В.Н., Ахметова Л.И., Сехин С.В. Правила сбора мочи для бактериологического исследования и интерпретация его результатов. Клин микробиол антимикроб химиотер 1999; 1:109-12.