

СОДЕРЖАНИЕ

Авторский коллектив	11
Список сокращений и условных обозначений	12

ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Модуль 1. Микробиологические лаборатории, их оборудование. Правила техники безопасности при работе в микробиологической лаборатории	17
1.1. Характеристика микробиологической и вирусологической лабораторий	17
1.2. Оснащение микробиологических и иммунологических лабораторий	19
1.3. Правила работы в микробиологической лаборатории	21
Вопросы для самоконтроля	22
Модуль 2. Микроскопические методы исследования, используемые в микробиологии. Морфология микроорганизмов. Способы окраски ...	23
2.1. Мир, классификация и принципы таксономии микроорганизмов	23
2.2. Структура бактериальной клетки. Простые и сложные методы окраски бактерий	25
2.2.1. Классификация бактерий по морфологии. Техника приготовления мазка из чистой культуры бактерий. Простые методы окраски бактерий	25
2.2.2. Строение бактериальной клетки	31
2.2.3. Дифференциальные методы окраски бактерий (окраска по Граму и методу Циля–Нильсена)	36
2.2.4. Дополнительные структуры бактерий и их выявление	40
2.3. Морфология грибов. Принципы классификации грибов и методы изучения их морфологии	45
2.4. Морфология и принципы классификации простейших	48
2.5. Морфология вирусов. Принципы классификации и методы изучения морфологии вирусов	49
2.6. Методы микроскопического исследования. Техника световой микроскопии с масляной иммерсией	53
Вопросы для самоконтроля	58

Модуль 3. Физиология микроорганизмов. Бактериологический метод исследования	60
3.1. Условия культивирования бактерий	60
3.2. Питательные среды	61
3.2.1. Основные требования, предъявляемые к питательным средам	61
3.2.2. Классификация питательных сред	62
3.3. Методы посевов на питательные среды	64
3.4. Ферменты бактерий. Дифференциально-диагностические среды	66
3.5. Выделение чистой культуры бактерий	78
3.6. Культивирование анаэробов	82
3.6.1. Физические методы	82
3.6.2. Химические методы	82
3.6.3. Биологический метод (метод Фортнера)	84
Вопросы для самоконтроля	84
Модуль 4. Бактериофаги. Молекулярно-генетические методы исследования	85
4.1. Бактериофаги	85
4.1.1. Получение фаголизатов	85
4.1.2. Определение титра фага методом агаровых слоев по Грацию	86
4.2. Методы внутривидовой идентификации бактерий (эпидемического маркирования)	87
4.2.1. Фаготипирование	87
4.2.2. Определение продукции колицинов по Фредерику	88
4.2.3. Исследование плазмидного профиля бактерий	89
4.2.4. Рестрикционный анализ (метод «отпечатков пальцев»)	91
4.2.5. Риботипирование	92
4.2.6. Мультилокусное секвенирование-типирование	92
4.3. Методы обнаружения возбудителя без выделения чистой культуры	93
4.3.1. Полимеразная цепная реакция	93
4.3.2. Полимеразная цепная реакция в реальном времени	98
4.3.3. Лигазная цепная реакция	99
4.3.4. Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация с времяпролетной масс-спектрометрией	100
Вопросы для самоконтроля	103

Модуль 5. Методы культивирования, индикации и идентификации вирусов	104
5.1. Методы культивирования вирусов	104
5.2. Методы индикации вирусов	107
Вопросы для самоконтроля	112
Модуль 6. Экология микроорганизмов. Распространение микроорганизмов в окружающей среде. Санитарно-показательные микроорганизмы, их обнаружение	113
6.1. Санитарно-бактериологическое исследование воды, почвы и воздуха	113
6.1.1. Санитарно-микробиологический анализ воды.....	115
6.1.2. Санитарно-микробиологический анализ почвы	116
6.1.3. Санитарно-микробиологический анализ воздуха	117
6.2. Методы санитарно-бактериологического исследования воды и воздуха	118
6.2.1. Санитарно-бактериологический анализ воды	118
6.2.2. Санитарно-бактериологический анализ воздуха	119
6.3. Микробиота организма человека.....	120
6.4. Микробиологические исследования микробиоты тела человека.....	124
6.4.1. Исследование микробиоты зубного налета.....	124
6.4.2. Исследование микробиоты зева и носа.....	126
6.4.3. Исследование микробиоты кишечника	127
6.4.4. Микробиологическая диагностика бактериального вагиноза.....	131
Вопросы для самоконтроля	134
Модуль 7. Действие на микроорганизмы физических и химических факторов. Антибиотики	135
7.1. Понятие о стерилизации и дезинфекции	137
7.1.1. Стерилизация	137
7.1.2. Дезинфекция	139
7.2. Понятие об асептике и антисептике. Методы асептики и антисептики	140
7.3. Санитарно-микробиологическое исследование смывов с рук персонала и поверхностей предметов	142
7.3.1. Определение общего количества микроорганизмов.....	142
7.3.2. Определение количества бактерий группы кишечной палочки	143
7.3.3. Определение эффективности дезинфекции	143

7.4. Антибактериальные химиопрепараты	144
7.4.1. Химиотерапия инфекционных заболеваний.....	144
7.4.2. Методы определения чувствительности бактерий к антибиотикам	148
Вопросы для самоконтроля	153
Модуль 8. Учение об инфекции. Инфекционный процесс. Свойства патогенных микроорганизмов. Биологический метод исследования	154
8.1. Понятие об инфекционном процессе и инфекционном заболевании. Формы инфекционного процесса	154
8.2. Понятие о патогенности и вирулентности микроорганизмов ...	156
8.2.1. Определение степени вирулентности бактерий (полуетальная доза).....	157
8.2.2. Факторы патогенности.....	157
8.2.3. Определение факторов патогенности микроорганизмов ...	158
8.3. Биологический метод исследования	160
Вопросы для самоконтроля	161
Модуль 9. Серологический метод исследования в диагностике инфекционных заболеваний	162
9.1. Реакции иммунитета	162
9.2. Реакция агглютинации.....	166
9.2.1. Развернутая агглютинация в пробирках.....	167
9.2.2. Агглютинация на предметном стекле	169
9.3. Реакция кумбса.....	170
9.4. Реакция пассивной гемагглютинации.....	171
9.5. Реакция преципитации	174
9.6. Реакция лизиса	180
9.7. Реакция связывания комплемента	181
9.8. Реакции с использованием меченых антител или антигенов... 184	
9.8.1. Реакция иммунофлюоресценции	185
9.8.2. Иммуноферментный анализ.....	188
9.8.3. Определение avidности IgG	196
9.8.4. Радиоиммунологический анализ.....	200
9.8.5. Иммуноблоттинг	200
9.8.6. Иммунохроматографический анализ	203
9.9. Реакция торможения гемагглютинации.....	207
9.10. Реакция биологической нейтрализации.....	209
Вопросы для самоконтроля	212

Модуль 10. Микробиологическая диагностика инфекционных заболеваний	213
10.1. Методы микробиологической диагностики инфекционных заболеваний.....	213
10.2. Сбор, хранение и транспортировка материала для исследования	218
Вопросы для самоконтроля	221

ЧАСТЬ II. ЧАСТНАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

Модуль 11. Возбудители бактериальных кишечных инфекций: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	225
11.1. Диагностика острых кишечных инфекций	225
11.1.1. Диагностика брюшного тифа и паратифов	233
11.1.2. Диагностика сальмонеллезов.....	237
11.1.3. Диагностика шигеллезов.....	238
11.1.4. Диагностика кишечного эшерихиоза	240
11.2. Диагностика холеры	242
11.3. Диагностика иерсиниозов.....	244
11.4. Диагностика кампилобактериоза	248
11.5. Диагностика хеликобактер-инфекции	251
11.6. Диагностика лептоспироза.....	252
11.7. Диагностика листериоза.....	253
11.8. Диагностика ботулизма	254
Вопросы для самоконтроля	256
Модуль 12. Возбудители респираторных бактериальных инфекций: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	257
12.1. Диагностика специфических инфекций дыхательных путей	259
12.1.1. Диагностика дифтерии.....	259
12.1.2. Диагностика коклюша.....	264
12.1.3. Диагностика туберкулеза.....	271
12.1.4. Диагностика скарлатины	276
12.1.5. Диагностика эпидемического цереброспинального менингита.....	277

12.2. Диагностика неспецифических инфекций дыхательных путей	280
12.2.1. Бактериологическая диагностика неспецифических инфекций органов дыхания	280
12.2.2. Лабораторная диагностика инфекций, вызванных бактериями рода <i>Haemophilus</i>	284
12.3. Диагностика легионеллезов и атипичных пневмоний.....	285
12.3.1. Легионеллез	285
12.3.2. Ку-лихорадка	287
12.3.3. Респираторный хламидиоз.....	287
12.3.4. Орнитоз.....	288
12.3.5. Респираторный микоплазмоз	289
Вопросы для самоконтроля	290
Модуль 13. Возбудители раневой инфекции: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	291
13.1. Диагностика раневой инфекции, вызванной кислородорезистентными бактериями	293
13.2. Диагностика инфекций, вызванных неспорообразующими анаэробными бактериями	298
13.3. Диагностика клостридиальных инфекций	301
Вопросы для самоконтроля	304
Модуль 14. Возбудители зоонозных инфекций (чумы, туляремии, сибирской язвы): основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	305
14.1. Диагностика чумы	305
14.2. Диагностика туляремии	308
14.3. Диагностика сибирской язвы.....	311
14.4. Диагностика бруцеллеза.....	316
Вопросы для самоконтроля	320
Модуль 15. Возбудители инфекций мочеполовой системы: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	321
15.1. Диагностика инфекций мочевыводящей системы	322
15.2. Диагностика бактериальных инфекций, передаваемых половым путем	325
15.2.1. Диагностика сифилиса.....	325
15.2.2. Диагностика гонореи.....	328
15.2.3. Диагностика мягкого шанкра	330

15.2.4. Лабораторная диагностика урогенитальных хламидиозов	330
15.2.5. Диагностика микоплазмозов	334
Вопросы для самоконтроля	336
Модуль 16. Возбудители бактериальных кровяных инфекций: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	337
16.1. Диагностика риккетсиозов	337
16.2. Диагностика боррелиозов	340
Вопросы для самоконтроля	344
Модуль 17. Возбудители респираторных вирусных инфекций: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	345
17.1. Диагностика гриппа	345
17.2. Диагностика краснухи.....	350
17.2.1. Лабораторная диагностика краснухи.....	351
17.2.2. Лабораторная диагностика врожденной краснухи	353
17.2.3. Антенатальная диагностика краснухи	353
17.3. Диагностика натуральной оспы	354
17.4. Диагностика тяжелого острого респираторного синдрома, вызванного коронавирусом Sars-CoV-2.....	358
Вопросы для самоконтроля	361
Модуль 18. Возбудители полиомиелита: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	362
18.1. Сбор проб для выделения вируса	363
18.2. Выделение полиовируса из клинических проб	363
18.3. Идентификация выделенного полиовируса.....	364
18.4. Сероконверсия.....	365
Вопросы для самоконтроля	365
Модуль 19. Возбудители ВИЧ-инфекции: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	366
Вопросы для самоконтроля	372
Модуль 20. Возбудители вирусных гепатитов: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	373
20.1. Лабораторная диагностика вирусного гепатита В.....	374
20.2. Лабораторная диагностика вирусного гепатита D	376
20.3. Лабораторная диагностика вирусного гепатита С	377
20.4. Лабораторная диагностика вирусного гепатита А.....	378

20.5. Лабораторная диагностика вирусного гепатита Е.....	378
Вопросы для самоконтроля	379
Модуль 21. Возбудители нейровирусных инфекций: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики.....	380
21.1. Вирус клещевого энцефалита: основные биологические свойства, принципы лабораторной диагностики	380
21.2. Бешенство	385
Вопросы для самоконтроля	389
Прописи питательных сред.....	390
Ответы на вопросы для самоконтроля	395
Список литературы	398
Предметный указатель.....	399

Модуль 1

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРИИ, ИХ ОБОРУДОВАНИЕ. ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ ПРИ РАБОТЕ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Цели модуля

- ▶ **Знать:** структуру микробиологических лабораторий в соответствии с делением микроорганизмов на группы по степени биологической опасности.
- ▶ **Уметь:** организовывать рабочее место бактериолога.
- ▶ **Владеть:** правилами техники безопасности при работе с инфицированными материалами.

1.1. ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ И ВИРУСОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИЙ

Работу с микроорганизмами проводят в лабораториях, которые в зависимости от основных задач могут быть:

- ▶ научно-исследовательскими;
- ▶ диагностическими;
- ▶ производственными.

В системе органов здравоохранения имеются:

- ▶ клинико-диагностические лаборатории общего или специального (биохимическая, бактериологическая, иммунологическая, цитологическая и др.) типа, входящие в состав больниц, поликлиник, диспансеров и других лечебно-профилактических учреждений;

- ▶ бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора;
- ▶ санитарно-бактериологические лаборатории Госсанэпиднадзора;
- ▶ санитарно-химические лаборатории Госсанэпиднадзора;
- ▶ центральные (центральная научно-исследовательская лаборатория), проблемные, отраслевые, учебные лаборатории вузов;
- ▶ специализированные лаборатории (особо опасных инфекций и др.).

В настоящее время лаборатории и более крупные лабораторные учреждения (отделы, институты, производственные предприятия), как правило, специализированные и работают с той или иной группой микроорганизмов.

С вирусами работают в вирусологических лабораториях, располагающих соответствующим оборудованием и использующих специальные методы исследования. Существуют микологические и протозоологические лаборатории. Специализированный характер приобретают и бактериологические лаборатории, в которых работа концентрируется на определенных группах бактерий, например риккетсиозные, туберкулезные, лептоспирозные, анаэробные и др. Лабораторную работу с патогенными микроорганизмами проводят в специально оборудованных лабораториях, обеспечивающих режим работы и технику безопасности, исключающих возможность заражения персонала и утечку микроорганизмов за пределы лаборатории.

Необходимость четкой регламентации условий работы с микроорганизмами, в различной степени опасными для сотрудников лабораторий и окружающего населения, обусловила разработку классификации микроорганизмов, разбив их на четыре группы по степени биологической опасности [классификация Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ)]. В России, в соответствии с рекомендациями ВОЗ, патогенные микроорганизмы также разделяют на четыре группы:

- ▶ I — возбудители особо опасных инфекций (чумы, оспы, желтой лихорадки);
- ▶ II — возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека (сибирской язвы, бруцеллеза, сыпного тифа);

- ▶ III — возбудители инфекционных болезней (брюшного тифа, шигеллезов), выделяемые в самостоятельные нозологические группы;
- ▶ IV — условно-патогенные микроорганизмы, возбудители оппортунистических инфекций.

Нумерация групп микроорганизмов, принятая в России, отличается обратным порядком от классификации ВОЗ, где к I группе относят микроорганизмы самой низкой патогенности, а к IV — особо опасные. В соответствии с разделением микроорганизмов на группы по степени биологической опасности лаборатории также подразделяют на категории. По номенклатуре ВОЗ выделяют три категории микробиологических лабораторий:

- ▶ базовые (основные или общего типа) лаборатории, которые в связи с конкретными особенностями работы могут быть оборудованы различными защитными устройствами;
- ▶ режимные (изолированные) лаборатории;
- ▶ лаборатории особого режима (максимально изолированные).

Безопасность работ в лабораториях всех категорий обеспечивают:

- ▶ выполнением распорядка и правил работы в лаборатории;
- ▶ выполнением требований к лабораторным помещениям и их оснащению;
- ▶ обеспечением лабораторий соответствующим оборудованием;
- ▶ медицинским наблюдением за состоянием здоровья сотрудников;
- ▶ обучением и тренировкой персонала технике безопасности в лаборатории.

1.2. ОСНАЩЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРИЙ

Помещения базовой лаборатории должны быть просторными для обеспечения безопасного проведения лабораторной работы. Стены, потолок, пол должны иметь гладкую, легко моющуюся поверхность, непроницаемую для жидкостей, устойчивую к дезинфектантам, обычно используемым в лаборатории. Поверхность рабочих столов должна быть водонепроницаемой, устойчивой

к дезинфектантам, кислотам, щелочам, органическим растворителям и умеренному нагреванию. Лабораторная мебель должна быть прочной. Пространство под столами и между мебелью должно быть легкодоступно для уборки. В лаборатории должен находиться автоклав для обеззараживания отходов. Контейнеры для сбора отработанного материала должны быть маркированы желтым цветом.

Оборудование базовой лаборатории должно ограничивать или предупреждать контакт микробиолога с инфекционным материалом, должно быть изготовлено из прочных материалов, непроницаемых для жидкостей, устойчивых к коррозии. Оборудование должно быть сконструировано и установлено так, чтобы оно легко подвергалось чистке, обеззараживанию и проверке.

Лабораторию оснащают микроскопом, автоклавом, термостатами, сушильными, стерилизационными шкафами, аппаратом для свертывания сыворотки, дистиллятором, центрифугами, лабораторными весами, рН-метром, фотоэлектроколориметром (ФЭК), магнитной мешалкой, моечной ванной.

Рабочие помещения лаборатории должны быть снабжены подводкой холодной и горячей воды, электричеством, вакуумом, кислородом, воздухом высокого давления и др. В некоторых кабинетах оборудуют боксы и вытяжные шкафы.

В число обязательных помещений входят лаборатории кишечных, капельных инфекций, санитарно-бактериологическая, серологическая, а также вспомогательные помещения: средоварка, моечная, стерилизационная (чистая и грязная), регистратура, кладовые, санузел и душ для сотрудников, виварий. В лабораториях с пунктами для обследования на носительство микроорганизмов дополнительно оборудуют приемную, процедурную, туалеты для забора материала.

Помещения располагают таким образом, чтобы грязный и чистый потоки не перекрещивались и не соприкасались.

В отношении помещений режимных лабораторий должны соблюдаться те же требования, которые предусмотрены для базовой лаборатории. Кроме того, лаборатория этого типа должна быть отделена от тех частей здания, где передвижение сотрудников не ограничивается. Устройства для мытья рук должны быть снаб-

жены приспособлениями для открывания воды ножной педалью или локтем. Окна должны быть закрыты и заклеены. Входные двери в лабораторные помещения должны быть самозакрывающимися и запирающимися на замок. Вытяжная вентиляция проектируется так, чтобы наиболее низкое давление создавалось в помещениях самой высокой опасности инфицирования. В этом случае движение воздуха будет происходить из вспомогательных помещений в направлении основного рабочего помещения. Отработанный воздух выбрасывается в окружающую среду только после фильтрации через бактериальные фильтры. При оснащении режимных лабораторий оборудованием руководствуются рекомендациями, разработанными для базовых лабораторий, с тем дополнением, что вся работа с инфекционным материалом в них проводится в защитных боксах.

В режиме максимально изолированных лабораторий существует ряд особенностей для обеспечения максимальной биологической безопасности персонала, населения и окружающей среды. Вход в лабораторию и выход из нее осуществляются через санитарный пропускник. При входе обязательно полное переодевание в специальную одежду, при выходе, перед переодеванием, обязательна целевая санитарная обработка (душем, дезинфектантами) персонала. Для снижения риска попадания инфекционного материала в окружающую среду применяют боксирование. С помощью боксов (настольных, ламинарных) создают физические барьеры для предотвращения возможных контактов работающего персонала с инфекционным материалом.

1.3. ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

Основные правила работы в базовой лаборатории включают:

- ▶ запрет работ с пипеткой с помощью рта;
- ▶ запрет приема пищи, питья, курения, хранения пищи и применения косметических средств в рабочих помещениях;
- ▶ поддержание чистоты и порядка;
- ▶ дезинфекцию рабочих поверхностей не реже 1 раза в день и после каждого попадания на них заразного материала;

- ▶ мытье рук персоналом после работы с заразным материалом, животными, перед уходом из лаборатории;
- ▶ проведение всех работ таким образом, чтобы свести к минимуму возможность образования аэрозоля;
- ▶ обеззараживание всех инфицированных материалов перед выбросом или повторным использованием.

Вопросы для самоконтроля

1. Назовите группу по степени биологической опасности, к которой относят возбудителей особо опасных инфекций.
2. Можно ли в бактериологической лаборатории принимать пищу?
3. Назовите цвет маркировки контейнеров для микробиологических отходов.
4. Отходы микробиологической лаборатории подлежат обязательному ...