

## **Вехи бактериологических достижений, открытий, побед и поражений**

Как правило, время диктует свои определенные задачи. С высоты 90-ия санитарной службы, можно отметить вехи бактериологических достижений, открытий, побед и поражений.

Так, 30-60 годы 19 столетия характеризовались вспышками инфекционных заболеваний (брюшной тиф, дизентерия, дифтерия, менингококк и т.д.) и задачей бактериолога было определить, с какими микроорганизмами он имеет дело, чтобы эпидемиолог мог очертить круг больных и контактных людей и провести необходимые эпидемиологические мероприятия среди всех слоев населения. Методики исследования были простейшие (микроскопия при дифтерии и выращивание возбудителей кишечных инфекций на сваренных в лаборатории мясных средах).

В 60-80 годах, судя по архивным данным, люди болели тысячами, патогенные культуры выделялись от них сотнями. Бактериологическая служба оттачивала классические методы исследований, учила кадры врачей и лаборантов-микробиологов.

С 1980 по 2000 годы усилиями всех звеньев санитарной службы вспышек инфекционных заболеваний становилось все меньше, высеваемость же патогенных культур постепенно сводилась к минимальным цифрам.

В 80 годы на Российском съезде микробиологов в Хабаровске была поставлена новая задача для бактериологов – это нахождение в клиническом материале и обоснование этиологической роли условно-патогенных микроорганизмов в заболеваниях человека.

С этой целью бактериологической лабораторией г. Горно-Алтайска целенаправленно выполнено 9873 анализа, выделено 1792 культуры в диагностически значимых титрах.

Было установлено, что от больных ОКЗ с диагнозом «клиническая дизентерия» или «энтериты неясной этиологии» в 4-6% случаях выделены микробы УПФ. Ведущее положение в структуре УПФ при ОКЗ занимают рода Цитробактер и Протея – 60-80 % микробы рода энтеробактер этиологически ответственны за ОКЗ от 6,8 % до 22 %, клебсиеллы занимают от 0,4% до 3 % в этиологии ОКЗ, микробы рода Гафния и церрация были в 0,1 – 0,4 %.

Таким образом, в диагностике ОКИ была доказана роль 11 дополнительных микроорганизмов условно-патогенной микрофлоры циркулирующих на территории Республики Алтай, определены излюбленные возбудители ОКЗ детей первого года жизни (клебсиеллы, церрация, гафния, энтеробактер cloacae).

С 2008 года бактериологическая лаборатория г.Горно-Алтайска по заданию эпидемиологов начинает заниматься внедрением новых методик. Так, в целях выявления госпитальных штаммов золотистого стафилококка, лаборатория внедряет «Методику нахождения метициллинрезистентных St. Aureus – возбудителей внутрибольничных инфекций». С этой целью исследовано 150 культур золотистого стафилококка, из них 8 культур (12%) признаны метициллинрезистентными.

С 2010 года бактериологическая лаборатория внедряет и доаккредитовывается на следующие виды исследований, возбудителей ОКИ:

- иерсиниозы, выполнено 475 исследований, 5 культур положительных
- холерный вибрион, выполнено 539 исследований, 3 положительных (задача АПЧС);
- *Enterobacter sakazakii* – выполнено 42 исследования, 1 культура положительная (задача Москвы);
- кампилобактер – сложность выделения этого микроба состоит в том, что это строгий аэроб, т.е. микроб погибает в присутствии кислорода, исследования на кампилобактер ведутся в анаэробе в специальных газовых смесях. Классическим методом выполнено 8 исследований, 1 культура положительная (задача Москвы).

В этот же период, наряду с классическими методами исследования, в целях оперативного реагирования на повестку дня выносятся вопросы об экспресс-методиках в бактериологии.

Бактериологическая лаборатория поставила своей задачей освоить следующие экспресс-тесты:

### **I – использование хромогенных питательных сред.**

В 2009 году на данных хромогенных средах проведено 241 исследование, из них 67 положительных находок БГКП и E. Coli в воде и продуктах.

Использование хромогенных сред за счет высокой специфичности дает быстрое обнаружение и идентификацию микроорганизмов не только из объектов внешней среды, но и клинического материала даже при незначительной обсемененности исходного материала всего за 24 часа

### **II – экспресс – метод ПЦР (полимеразная цепная реакция с гибридационно-флуоресцентной детекцией).**

В 2011 году внедрено нахождение методом ПЦР следующих микроорганизмов:

- рода Salmonell;
- рода Шигелл;
- выявление (EIEC) – энтероинвазивных E. Coli ;
- выявление микроорганизмов рода - кампилобактер;

С данной целью исследовано методом ПЦР 87 объектов внешней среды из них положительных 5 проб (2 сальмонеллы, 3 кампилобактер).

От больных ОКИ методом ПЦР выполнено 642 исследования, обнаружено 35 положительных находок (22 шигеллы, 7 сальмонелл, 6 кампилобактер).

С 2012 года практикуется выявление из клинического материала методом ПЦР:

- возбудителей коклюша (на 17.07.2012 г – из 10 проб/8 положительных);
- возбудителей дифтерии.

### **III – Метод импеданса (БакТрак 4300).**

Использование БакТрак 4300 отвечает требованиям GLP (good laboratory practice), повышает безопасность персонала в лаборатории, снижает затраты рабочего времени и улучшает эффективность контроля качества продукции.

Области применения:

- Количественная оценка степени микробного загрязнения (КМАФНМ) - за 24 часа вместо 72 часов.
- Экспертное определение санитарно-значимых микроорганизмов (БГКП, E. Coli, энтерококков) – за 24 часа, вместо 4-6 суток.
- Скрининг патогенных микроорганизмов (сальмонелл, золотистого стафилококка, листерий) – ответ о наличии в образце патогенного микроорганизма через 48 часов (после подроста и восстановления микроорганизма в первичной среде обогащения), вместо 4-7 суток классического исследования.

Так, за первый же месяц (июнь 2012 года) методом импеданса в бактериологической лаборатории г. Горно-Алтайска выполнено 276 исследований, из них с положительным результатом 28 проб.

**IV – экспресс метод – Иммунохроматографический анализ (ИХА) – этот экспресс метод является разновидностью ИФА .**

Бактериологической лабораторией взяты на вооружение следующие ИХА тесты:

1. Экспресс-тест Duopath Legionella – для обнаружения легионелл в воде и других объектах внешней среды. С 2009 года методом ИФА на легионеллы из объектов внешней среды выполнено 96 исследований воды открытых водоемов. Преимущество – быстрота исследования, чувствительность – 1 кол легионелл в 100 мл воды.

2. Экспресс-тест Singlepath Campylobacter – определение кампилобактер в продуктах чувствительность метода – 1 клетка микроба на 25 гр продукта или 10<sup>4</sup>

– 10

7

бактерий в мл среды накопления.

3. Экспресс-тест ИХА – кампилобактер – выявление антигена кампилобактер в фекалиях человека (диапазон тест-системы 10<sup>-4</sup> – 10<sup>-6</sup> микробных клеток).

4. Экспресс-тест Singlepath E. coli O<sub>157</sub> – определение антигена O<sub>157</sub> в пищевых продуктах (чувствительность метода – 1 микробная клетка на 25,0 гр продукта).

5. Экспресс-тест Duopath Verotoxins – выявление шигоподобных токсинов, продуцируемых энтерогеморрагическими (ЕНЕС) патогенными штаммами кишечной палочки; в том числе O<sub>157</sub>: H<sub>7</sub> – в продуктах и в фекалиях (чувствительность метода – от 25 нг/мл до 63 нг/мл веротоксина).

Мы надеемся, что применение экспресс-тестов в практической деятельности, помогут в расшифровке эпидемиологического неблагополучия в кратчайшие сроки, и, возможно, спасут жизнь и здоровье наших земляков.

Бактериологическая служба Республики Алтай с 1995 года по настоящее время прошла 4 аккредитации, имеет лицензию на деятельность с использованием возбудителей инфекционных заболеваний 3-4 групп патогенности и лицензию на медицинскую деятельность. Сейчас служба активно готовится к очередной аккредитации 2013 года, которая будет проводиться по международным требованиям – ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025. Для этой цели ведется активная переподготовка кадров, создано 240 внутренних документов (СОПов, формуляров, Рабочих инструкций, должностных инструкций, инструкций по технике безопасности и охране труда), ведется внутренний и внешний контроль с параллельным решением задач с районными бактериологическими лабораториями санитарно-эпидемиологического надзора и ведомственными бактериологическими лабораториями Республики Алтай. Так, с 2008 по 2011 год, решено 647 шифрованных задач, процент верных решений 95 – 100%. Также проводятся межлабораторные сравнительные испытания (МСИ) Российского уровня. За последние 3 года решено 17 задач – все решены верно.

Бактериологическая служба Республики Алтай в пути, она стремится соответствовать современным требованиям времени.