

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА МЕНИНГОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ И ГНОЙНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

Л.А. Краева

ФГУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург

Резюме. В обзоре представлены современные сведения о таксономии, биологических особенностях и клиническом значении возбудителей менингококковой инфекции и бактериальных гнойных менингитов. Изложены методы лабораторной диагностики и рекомендации по использованию высококачественных сред и диагностических наборов для выращивания и идентификации микроорганизмов. Предложены современные методики определения их чувствительности к антибиотикам.

Ключевые слова: менингококковая инфекция, бактериальный гнойный менингит, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*.

MICROBIOLOGICAL DIAGNOSTICS OF THE MENINGOCOCCAL INFECTION AND PURULENT BACTERIAL MENINGITIS

Kraeva L.A.

Abstract. In the review modern data on taxonomy, biological features and clinical significance of agent of meningococcal infection and bacterial purulent meningitis are presented. Methods of laboratory diagnostics as well as recommendations about use of high-quality culture media and diagnostic kits for isolation and identification of microorganisms are described. Modern techniques to detect sensitivity of bacteria to antibiotics are proposed. (*Infeckciã i imunitet*, 2011, vol. 1, N 1, p. 51–58)

Keywords: meningococcal infection, bacterial purulent meningitis, *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae*.

Менингококковая инфекция — инфекционное заболевание, проявляющееся различными клиническими формами и вызываемое менингококком (*Neisseria meningitidis*). Основной формой инфекции является носительство. У части зараженных людей размножение бактерий в носоглотке приводит к местным воспалительным реакциям (назофарингит). У другой части зараженных наблюдаются генерализованные формы менингококковой инфекции (ГФМИ). При этом возбудитель гематогенно проникает в различные органы, чаще — в центральную нервную систему (ЦНС), вызывая поражение мозговых оболочек (менингококковый ме-

нингит) и, реже, мозговой ткани (энцефалит). Встречаются общетоксические формы, сопровождающиеся поражением многих тканей, включая токсические поражения надпочечников, и циркулирующей менингококка в крови (менингококкцемия).

Менингит — это инфекционное заболевание с преимущественным поражением мягкой мозговой оболочки головного и спинного мозга. Характерные для этого заболевания тяжелые клинические проявления и генерализация процесса с поражением различных органов и тканей требуют быстрого решения вопроса об этиологии заболевания и назначения адекват-

поступила в редакцию 11.11.2010
отправлена на доработку 15.11.2010
принята к печати 19.11.2010

© Краева Л.А., 2011

Адрес для переписки:

Краева Людмила Александровна,
к.м.н., старший научный сотрудник
лаборатории бактериальных каплевых
инфекций ФГУН НИИЭМ имени Пастера
Роспотребнадзора

197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФГУН НИИЭМ имени Пастера
Роспотребнадзора.
Тел.: (812) 498-09-39 (служебн.).
E-mail: tsenevapisteur@yandex.ru

ватной антибактериальной терапии, которая неоднозначна для гнойных бактериальных менингитов (ГБМ) разной этиологии.

От грамотного и своевременного проведения исследований по определению этиологического агента заболевания и как можно более раннего начала соответствующего этиотропного лечения зависит исход заболевания, показатели летальности, число и тяжесть постинфекционных осложнений. Известно, что одним из проявлений ГФМИ является распространенная клиническая форма «менингококковый менингит» без менингококкемии. В этом случае точный клинический диагноз без проведения лабораторных исследований поставить невозможно. Поэтому так важна своевременная и правильная микробиологическая диагностика.

Как в случае менингококковой инфекции, так и в случае бактериальных гнойных менингитов, лабораторным критерием является выделение микроорганизмов из стерильных в норме мест.

Менингококковая инфекция занимает важное место в инфекционной патологии, что обусловлено следующим:

- тяжестью течения и высокой летальностью, достигающей 5–10% при генерализованных формах болезни;
- бурным развитием болезни и необходимостью ранней диагностики и оказания экстренной терапевтической помощи;
- многообразием нозологических форм, с которыми необходимо проводить дифференциальную диагностику;
- возможностью неблагоприятных отдаленных последствий.

Менингит был известен в глубокой древности. Впервые клиническая картина менингита была описана античными врачами Ареетом и Павлом Эгинским, однако первое описание эпидемического цереброспинального менингита как самостоятельной нозологической формы дал в 1805 г. Вьессе (Viessieux) во время вспышки этой болезни в Женеве. В дальнейшем заболевания менингитом были зарегистрированы в США, Франции, Испании, Скандинавских странах. Первые вспышки менингита в России были отмечены в 1863–1864 гг. Менингококк был открыт и выделен в чистой культуре Вексельбаумом в 1887 г. Морфология менингококка была описана в 1907 г. Флекснером.

Возбудитель менингококковой инфекции — *Neisseria meningitidis*, принадлежит к семейству *Neisseriaceae* рода *Neisseria* [10]. Для человека имеют клиническое значение следующие виды нейссерий: *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae* (с подвидом *kochii*), *N. lactamica*, *N. sicca*, *N. subflava* (биовары *subflava*, *flava*, *perflava*), *N. mucosa*, *N. flavescens*, *N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. elongata*

(подвиды *elongata*, *glycolytica*, *nitroreducens*). Несколько видов нейссерий являются частью нормальной флоры респираторного тракта у собак: *N. canis*, *N. weaver*. В респираторном тракте морских свинок обитает *N. denitrificans*. Из ротовой полости резус-макак, коров и пресмыкающихся выделяли: *N. macacae*, *N. dentiae*, *N. iguana* [13, 16, 17].

Однако к развитию менингококковой инфекции причастна именно *N. meningitidis*. Клинический спектр менингококковых инфекций разнообразен:

- менингоэнцефалит;
- менингит (с/без менингококкемии);
- менингококкемия без менингита;
- бактериемия без септического осложнения;
- менингококковая пневмония;
- остеомиелит, артрит, эндофтальмит, спонтанный перитонит и др., являющиеся результатом гематогенного распространения *N. meningitidis*;
- менингококковый конъюнктивит;
- различные воспалительные процессы урогенитального тракта, когда особенно важна дифференциация *N. meningitidis* от *N. gonorrhoeae*.

Морфологически менингококк — округлый, неподвижный, грамотрицательный бобовидный диплококк диаметром 0,6–0,8 мкм (рис. 1б, III обложка). Трехслойная оболочка клетки представлена цитоплазматической мембраной, пептидогликановым слоем и наружной мембраной, содержащей ЛПС и белки (рис. 1в, III обложка). Многие менингококки имеют полисахаридную капсулу и выросты, известные как пили [3, 5, 6, 9, 15]. Менингококки по серологической активности, которая определяется капсульным полисахаридом, внутри вида делятся на серогруппы. Известно 13 серогрупп менингококков: А, В, С, D, H, I, K, L, X, Y, Z, W-135, 29E, но только три из них — А, В, С — ответственны за более чем 90% всех генерализованных форм менингококковой инфекции. Внутри отдельных серогрупп также обнаруживается антигенная неоднородность по белкам наружной мембраны, которые определяют серо- и субтип возбудителя. К настоящему времени известно более 20 серотипов менингококка, из них типы 2, 4, 10, 15, 16 оценены как маркеры вирулентности, так как менингококки с такими серотипами выявлялись преимущественно в период подъема заболеваемости или при вспышках.

Менингококки, кроме того, имеют общие, главным образом белковые, антигенные компоненты со многими непатогенными нейссериями, постоянно обнаруживаемыми в носоглотке, в том числе с *N. lactamica*, которая часто вегетирует в носоглотке детей раннего возраста, особенно грудных младенцев.

Циркуляция среди населения различных групп менингококков и непатогенных нейссерий создает у людей целую гамму устойчивости к различным агентам и определяет ряд особенностей развития эпидемического процесса.

Результаты изучения антигенной структуры менингококков позволили разработать перспективную номенклатуру, которая имеет следующий вид: серогруппа : серотип по белку : субтип по белку : серотип по ЛПС. Например, В : 2а : Р 1,2 : L 3,7, что означает: штамм менингококка серогруппы В, серотипа 2а, субтипа 1,2, серотипа по ЛПС 3,7. Соответствующие современным классификации менингококков по различным антигенным системам позволяют определять их популяционные особенности и отбирать наиболее иммуногенные компоненты для конструирования вакцинных препаратов нового поколения.

Основной фактор патогенности менингококка — бактериальная капсула, защищающая менингококки от различных воздействий, в первую очередь от поглощения фагоцитами. АТ, образующиеся к полисахаридам капсулы, проявляют бактерицидные свойства.

Токсические проявления менингококковой инфекции обусловлены липополисахаридами, сходными по химическим и биологическим свойствам с эндотоксинами энтеробактерий. Им принадлежит ведущая роль в патогенезе поражений сосудов и кровоизлияний во внутренние органы. Наиболее постоянный и диагностически значимый признак менингококцемии — экзантема в виде характерной геморрагической сыпи (петехии, пурпура, экхимозы).

В процессе метаболизма менингококк гибнет, освобождая эндотоксин, который является мощным нейротропным и сосудистым ядом, который, как и сам возбудитель, усиливает продукцию спинномозговой жидкости, чем и обусловлено развитие гипертензионного синдрома, который усугубляется изменением качественного состава ликвора.

Пили являются фактором адгезии к слизистой оболочке носоглотки и тканям мозговой оболочки.

Менингококки выделяют IgA-протеазы, расщепляющие молекулы IgA в шарнирной области, что защищает бактерии от действия Ig.

Менингококковая инфекция — строгий антропоноз. Различают три категории источников менингококковой инфекции: больные генерализованными формами; больные назофарингитом; носители.

Входные ворота при менингококковой инфекции — преимущественно носоглотка. В большинстве случаев заболевание протекает субклинически (менингококконосительство). Воспалительный процесс в месте внедрения (острый назофарингит) сопровождается яркой

гиперемией и отечностью задней стенки глотки на фоне почти неизменных небных дужек, миндалин и мягкого неба. Основным путем распространения в организме — гематогенный. Менингококковую бактериемию сопровождает массовая гибель возбудителей и выделение эндотоксина (менингококкцемия). Генерализация наиболее часто связана с предшествующими респираторными инфекциями (особенно вирусными), нарушениями иммунного статуса, а также резкой сменой климатических условий. Патогенез заболевания включает поражения токсического и септического характера в сочетании с аллергическими реакциями. Преобладание того или иного компонента проявляется в различных клинических формах, подробно описанных в соответствующей литературе [2, 4, 11, 12].

Менингококк малоустойчив к воздействию факторов внешней среды, требователен к условиям культивирования. Температурный оптимум для него 36,5–37°C в атмосфере с повышенным содержанием CO₂ (5–10%) и влажности, чрезвычайно чувствителен к воздействию внешней среды. Менингококки нуждаются в высокопитательных средах, содержащих нативные белки или кровь животного происхождения. При росте на плотных питательных средах образуют небольшие, слегка выпуклые, полупрозрачные колонии с идеально ровными краями. При выдерживании посевов в термостате в течение 2–5 дней колонии увеличиваются в размере, становятся менее прозрачными и края их приобретают неровный вид. Биохимическая активность менингококков невелика и из числа многих углеводов они ферментируют только глюкозу и мальтозу с образованием кислоты без газа, не разжижают желатин, оксидазо- и каталазоположительны.

Бактериальные менингиты

Бактериальные гнойные менингиты — группа инфекционных заболеваний нервной системы, характеризующихся развитием общеинфекционного, общемозгового, менингеального синдромов и воспалительными изменениями в цереброспинальной жидкости гнойного характера [2, 12].

По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) ежегодно в мире регистрируется 1 млн случаев гнойных бактериальных менингитов, из которых 200 тыс. заканчиваются летально.

Гнойные бактериальные менингиты могут вызывать следующие микроорганизмы: *N. meningitidis*, *H. influenza*, *S. pneumonia*, *Acinetobacter*, *Actinobacillus*, *Aeromonas*, *B. dermatitidis*, *B. zoohelcum*, *Bacillus*, *Balnearia*, *Borrelia*, *C. burnetii*, *Campylobacter*, *Capnocytophaga*, CDC group Pe, *Citrobacter*, *Coccidioides*, *Commamonas*, *E. coli*, *E. me-*

ningoseptica, *Enterobacteriaceae*, *Gemella*, *Globicatella*, *Haemophilus spp.*, *Listeria*, *M. luteus*, *M. tuberculosis*, *Moraxella*, *Mycoplasma*, *N. gonorrhoeae*, *nontuberculosis Mycobacterium*, *Ochrobactrum*, *P. aeruginosa*, *P. immobilis*, *Pasteurella*, *Ralstonia*, *Rhodococcus*, *Rhodotorula*, *Streptococcus spp.*, *Tsukamurella*, *Vibrio* [13, 16, 17].

Наиболее значимыми возбудителями признаны менингококки, пневмококки и гемофильные палочки типа «b», отвечающие за более чем 90% случаев от числа всех расшифрованных ГБМ. Среди гнойных бактериальных менингитов генерализованные формы менингококковой инфекции вызывают наибольшую озабоченность в мире из-за периодически возникающих пандемий, эпидемий, эпидемических подъемов заболеваемости и вспышек. Генерализованными формами менингококковой инфекции чаще болеют дети (до 70% от общего числа зарегистрированных случаев), при этом следует отметить возможность заражения менингококковой инфекцией во всех возрастных категориях. Общий показатель летальности при ГФМИ определен как высокий и составляет в среднем 9–11%.

Таким образом, преимуществом в развитии менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов пользуется менингококк. Следующими по этиологической значимости в развитии гнойных бактериальных менингитов являются *Haemophilus influenzae* тип «b» (Hib) и *Streptococcus pneumoniae* (рис. 2, III обложка).

В этиологической структуре бактериальных менингитов среди детей Hib-возбудитель занимает второе место после менингококков. В отличие от других бактериальных менингитов *Hib-менингиты* встречаются почти исключительно среди детей раннего возраста: 80–95% Hib-менингитов приходится на возраст до 5 лет. Летальность составляет 3–6% и оценивается как высокая. В этой связи Hib-менингиты относят к категории опасных инфекционных заболеваний детского возраста.

Кроме *Haemophilus influenzae* важное клиническое значение имеют также такие виды как: *H. aegyptius*, *H. haemolyticus*, *H. parainfluenzae*, *H. parahaemolyticus*, *H. ducreyi*, *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. segnis*, *H. pittmaniae*, *H. paraphrohaemolyticus* [10, 13, 16, 17].

Около 10% всей бактериальной микрофлоры ротоглотки человека, особенно в раннем детском возрасте, составляют гемофильные палочки. Одновременно могут выделяться несколько видов этих микроорганизмов, капсульные и бескапсульные варианты. Передача наследственной информации, ответственной за проявление факторов патогенности, среди близкородственных микроорганизмов приводит к риску развития воспалительного процесса при длительном носительстве этих микробов. Наибольшему ри-

ску подвержены дети от 3 месяцев до 7 лет, особенно в возрасте 6–7 месяцев.

Менингиты пневмококковой этиологии занимают второе место в этиологической структуре бактериальных менингитов, уступая только генерализованным формам менингококковой инфекции. Они отличаются тяжелым и осложненным течением, часто требующим проведения интенсивных терапевтических и реанимационных мероприятий, высокими показателями летальности. Летальность среди детей до года и лиц пожилого возраста старше 65 лет достигает от 40 до 70%.

Резервуар пневмококковой инфекции — больные и носители. Уровень носительства максимален в организованных коллективах и достигает у детей 30–50%, у взрослых 20–30%. Основной путь передачи — контактный, при вспышках — воздушно-капельный.

В результате попадания пневмококков в кровотоки и центральную нервную систему, возбудитель вызывает инвазивную инфекцию в виде бактериемии и менингита. Генерализация процесса обусловлена низким уровнем специфического и неспецифического иммунитета и вирулентными свойствами возбудителя.

S. pneumoniae относится к группе грамположительных кокков, к роду *Streptococcus* [3, 5, 6, 10, 15]. При анализе секвенированных фрагментов ДНК пневмококка было установлено, что на 99% *S. pneumoniae* идентичен *S. mitis* и *S. oralis* [13, 16, 17]. Поэтому внутри рода он относится к группе *S. mitis*. Встречаются как капсульные, так и бескапсульные штаммы. Основным фактором вирулентности пневмококка — капсула. По капсульным полисахаридам пневмококки разделены на 90 серотипов, имеющих различное эпидемиологическое значение. Из наиболее опасных серотипов приготовлены пневмококковые вакцины, используемые для вакцинации групп риска. В группы риска в первую очередь входят дети в возрасте до года и лица пожилого возраста старше 65 лет, лица, имеющие в анамнезе хронические заболевания сердца, легких, печени (особенно у больных алкоголизмом), почек, эндокринную патологию, сахарный диабет, гематологические, онкологические заболевания, черепно-мозговые травмы, ликворею, иммунодефициты различного генеза.

Методы лабораторной диагностики менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов

Для получения правильного ответа в возможно короткие сроки необходимо сочетать как классические, так и экспресс-методы диагностики.

Классические методы:

Бактериоскопический метод заключается в исследовании мазка центрифугата ликвора, окрашенного метиленовой синькой и по Граму в модификации Калины, а также толстой капли крови, окрашенной метиленовой синькой.

Бактериологический метод включает в себя выделение и идентификацию возбудителя до вида из различного клинического материала: крови, ликвора, мазка из носоглотки и т.д.

Серологический метод позволяет выявить:

- специфические антигены в жидкостях организма (ликвор, кровь, синусоидальная жидкость и др.) Серологическое группирование менингококков является одной из мер эпидемиологического надзора за менингококковой инфекцией;
- антитела в сыворотке крови при РНГА, когда берутся парные сыворотки при поступлении больного в стационар и на 10–15 день болезни.

Экспресс-методы:

- ВИЭФ — метод встречного иммуноэлектрофореза;
- НМФА — непрямой метод флюоресцирующих антител;
- латекс-агглютинация — особенно удобна при использовании наборов, сконструированных на основе моноклональных антител к основным возбудителям менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов (табл. 1);
- ИФА — метод иммуноферментного анализа;
- ПЦР — полимеразная цепная реакция, позволяющая выявить ДНК возбудителя.

При отборе и посеве исследуемого материала следует соблюдать следующие требования: исключить случайную контаминацию материала посторонней микрофлорой, не допустить гибели возбудителя с момента взятия материала для

анализа и до начала работы с ним в лаборатории, а также обеспечить безопасность сотрудников лаборатории при работе с вышеперечисленными инфекциями.

Посев ликвора

Спинномозговую жидкость отбирают у больного при пункции в объеме 2,0–5,0 мл на этапе поступления в стационар до начала антибиотикотерапии с соблюдением правил асептики. У постели больного 0,5 мл засевают в чашку с «шоколадным» агаром, 0,5 мл ликвора засевают в среду обогащения (в 5,0 мл 0,1% полужидкого питательного агара с сывороткой крупного рогатого скота), предварительно вынутую из холодильника, и далее хранят при 37°C в условиях термостата до доставки в лабораторию. 1,0 мл направляют в лабораторию для бактериоскопии, серологических исследований и ПЦР.

Посев крови

Кровь отбирают из вены при поступлении больного в стационар с соблюдением правил асептики и до начала антибиотикотерапии. 5–10 мл крови взрослых, 2–5 мл — детей и 1–2 мл — новорожденных и детей неонатального периода засевают во флаконы с «двухфазной» питательной средой в соотношении крови к жидкой фазе 1 : 10 для уменьшения бактерицидного эффекта человеческой сыворотки. Двухфазная питательная среда содержит X, V факторы роста и витамины. На ней хорошо растут менингококки, пневмококки, гемофильные палочки и другие менее требовательные к составу питательной среды микроорганизмы. Засеянную в отделении кровь доставляют в лабораторию и инкубируют в течение 5 суток при температуре 37°C. Посевы ежедневно просматривают на наличие микробного роста и делают высевы на плотные среды.

3–5 мл крови используют для серологических исследований с целью выявления специ-

ТАБЛИЦА 1. НАБОРЫ ДЛЯ ЛАТЕКС-АГГЛУТИНАЦИИ МЕНИНГОКОККОВ И ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

Предназначение набора	Название набора	Производитель
Набор для латексной агглютинации стафилококков	STAPHYTECT DRYSPOT	Oxoid, Англия
Набор для латексной агглютинации стрептококков	DRYSPOT PNEUMO	Oxoid, Англия
Набор для латексной агглютинации стрептококков группы А	STREPTOCOCCAL GROUPING REAGENT A	Oxoid, Англия
Набор для латексной агглютинации <i>Neisseria spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> type b	Latexes tests for the meningitis causing organisms from body fluids	Oxoid, Англия

фических антигенов (встречный иммуноэлектрофорез — ВИЭФ) и специфических антител (реакция непрямой гемагглютинации — РНГА). Для получения достоверных результатов о нарастании титров антител в РНГА важно исследовать парные сыворотки, т.е. сыворотки крови, взятые в первые дни болезни при поступлении больного в стационар и затем на 10–12 день заболевания.

Несколько капель крови наносят на предметное стекло для приготовления препарата «толстой капли» крови.

Посев носоглоточной слизи

Назофарингеальную слизь с задней стенки глотки берут натошак или через 3–4 часа после еды стерильным ватным тампоном. Материал берут с обязательным надавливанием шпателем на корень языка для наиболее полного открытия глоточного отверстия. Тампон вводят ватным концом кверху за мягкое небо в носоглотку и проводят 2–3 раза по задней стенке. Посев выполняют немедленно после забора материала или после доставки материала в лабораторию на чашки с сывороточным агаром и на чашки с линкомицином.

Доставка и хранение материала

Материал для бактериологических и серологических исследований доставляют в бактериологическую лабораторию немедленно после отбора в специальных контейнерах, способных поддерживать температуру 37°C. При невозможности быстрой доставки материала из отделения в лабораторию (ночное время, выходные и праздничные дни и др.) материал хранят следующим образом:

- посеvy ликвора на первичной чашке с «шоколадным» агаром и в 0,1% полужидком питательном агаре, а так же посев крови на гемокультуру хранят в условиях термостата при 37°C;

- нативный ликвор и кровь для серологических исследований хранят в условиях холодильника при +4°C. В лаборатории нативный ликвор используют только для бактериоскопии и постановки серологических реакций. Для бактериологического посева хранящийся

в холодильнике нативный ликвор не используют.

Лабораторное подтверждение ГФМИ и выявление менингококков выполняют по следующим тестам:

- обнаружение в нативном материале диплококков с характерными морфологическими признаками;
- характерный рост только на высокопитательных средах;
- типичная морфология культурального мазка по Граму;
- сахаролитическая активность в отношении глюкозы и мальтозы;
- выявление группоспецифических свойств;
- обнаружение специфических антигенов в ликворе и/или сыворотке крови в реакциях латекс-агглютинации и ВИЭФ (экспресс-методы);
- детекция специфических антител в сыворотке крови в реакции РНГА.

Показания к лабораторной диагностике.

Лабораторное обследование проводят с диагностической целью, по эпидпоказаниям и с профилактической целью.

- С диагностической целью обследуют больных с клинически выраженной формой заболевания, стертой формой (например, назофарингит) и с подозрением на менингококковую инфекцию и менингиты иной этиологии.
- По эпидпоказаниям обследуют лиц, бывших в контакте с больным менингококковой инфекцией.
- С профилактической целью обследуют определенные здоровые контингенты с целью слежения за циркуляцией менингококка среди населения.

Основные этиологические агенты менингококковой инфекции и бактериальных гнойных менингитов очень требовательны к питательным средам, поэтому для их выделения необходимы специальные питательные среды, обогащенные ростовыми добавками (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2. ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ТРЕБОВАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Питательная среда	Название среды	Производитель
Система Signal	SIGNAL BLOOD CULTURE SYSTEM	Oxoid, Англия
Среда для <i>Haemophilus</i> и селективная добавка	Haemophilus test medium base	Oxoid, Англия
Среда для <i>Streptococcus</i> и селективная добавка	Edwards medium (modified)	Oxoid, Англия

Схемы биохимического и серологического типирования подробно описаны в методических указаниях по менингококковой инфекции, в определителе бактерий Берджи и другой справочной литературе [8, 10, 17]. Поэтому в статье приведены лишь наборы биохимических тестов, сертифицированные в России и хорошо зарекомендовавшие себя при идентификации менингококков и основных возбудителей гнойных бактериальных менингитов (табл. 3).

Методы определения лекарственной чувствительности.

1. Методы серийных разведений.
2. Диффузные методы:
 - 2.1. диско-диффузионный (не желателен)
 - 2.2. Е-тест (предпочтителен) (рис. 3, III обложка).

При определении чувствительности выделенных при менингококковой инфекции или бактериальных гнойных менингитах микроорганизмов необходимо руководствоваться следующими нормативными документами: МУК 4.2.1887–04 и МУК 4.12.1890–04 [7, 8].

В последние годы все чаще регистрируются случаи выделения при менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитах микроорганизмов, устойчивых ко многим используемым антибиотикам [1, 14]. Поэтому необходимы постоянные скрининговые исследования всех выделенных штаммов на чувствительность к антибиотикам как в фенотипических, так и в молекулярных тестах.

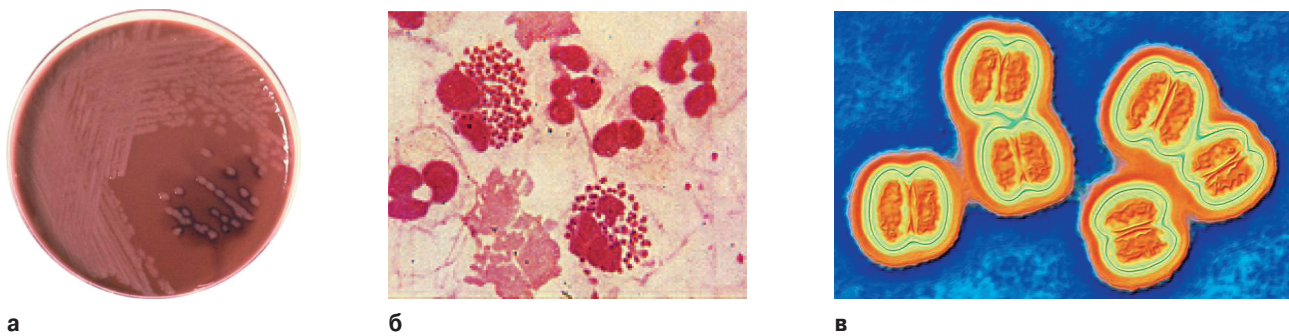
Список литературы

1. Боронина Л.Г., Блинова С.М. Антибиотикорезистентность штаммов *N. influenzae*, выделенных в Екатеринбурге в 2000–2005 гг. у детей с различной локализацией // Журн. клин. микробиол. антимикроб. химиотер. — 2007. — Т. 9, № 2. — С. 187–192.
2. Королева И.С., Белошицкий Г.В. Менингококковая инфекция и гнойные бактериальные менингиты. — М.: Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2007. — 112 с.
3. Коротяев А.И., Бабичев С.А. Медицинская микробиология. — СПб.: Специальная литература, 1998. — 580 с.
4. Лобзин Ю.В., Пилипенко В.В., Громыко Ю.Н. Менингиты и энцефалиты. — СПб.: Фолиант, 2006. — 128 с.
5. Маянский А.Н. Микробиология для врачей. — Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1999. — 393 с.
6. Медицинская микробиология / Гл. ред. В.И. Покровский, О.К. Поздеев. — М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1999. — 1200 с.
7. МУК 4.12.1890–04. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. — Москва, 2004.
8. МУК 4.2.1887–04. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов: Методические указания. — Москва, 2004.
9. Общая микробиология с вирусологией и иммунологией (в графическом изображении). — М.: Триада X, 2002. — 347 с.

ТАБЛИЦА 3. НАБОРЫ ДЛЯ БИОХИМИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕНИНГОКОККОВ И ОСНОВНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ МЕНИНГИТОВ

Предназначение набора	Название набора	Производитель
Набор для идентификации <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Haemophilus</i> и родственных микроорганизмов	RapID NH Panel 4hr ID of <i>Neisseria</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Haemophilus</i> and related organisms	Oxoid, Англия
Набор для идентификации коринебактерий	API Coryne	bioMérieux
Набор для идентификации стрептококков	API 20 Strep	bioMérieux
Набор для идентификации <i>Neisseria spp.</i> , <i>Haemophilus spp.</i>	API NH	bioMérieux
Набор для идентификации <i>Enterobacteriaceae</i> и других грамотрицательных палочек	API 20 E	bioMérieux
Набор для идентификации стрептококков	СТРЕПТОтест 16	Lachema
Набор для идентификации нейссерий	НЕЙССЕРИЯтест	Lachema

10. Определитель бактерий Берджи: в 2-х т.: пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крита и др. — М.: Мир, 1997.
11. Резник Б.Я., Спалек С.Ф. Менингиты у детей. — М.: Медицина, 1971. — 226 с.
12. Сорокина М.Н., Иванова В.В., Скрипченко Н.В. Бактериальные менингиты у детей. — М.: Медицина, 2003. — 328 с.
13. A Manual Of Bacteriology / Ed. by H.U. Williams. — USA: Home Farm Books, 2008. — 480 p.
14. Daoud Z., Hanna N., Cjcsaki A. Patterns of susceptibility of Streptococcus pneumonia and Haemophylus influenza at a university hospital // Abstract of the 15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Disease. — Geneva, 2005.
15. Koneman E.W., Allen S.D., Janda W.M., Schreckenberger P.C. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. — 5th ed. — N.Y.: Lippincott–Raven, 1977. — 1113 p.
16. Manual of Clinical Microbiology: 2 vol. set / Ed. by P.R. Murray, E.J. Baron, J. Jorgensen, M. Pfaller, M.L. Landry. — 9th ed. — USA, 2007. — 2476 p.
17. Microbiology Laboratory Manual / Ed. by J.P. Harley. — 7th ed. — USA: McGraw-Hill Higher Education, 2007. — 2256 p.



а

б

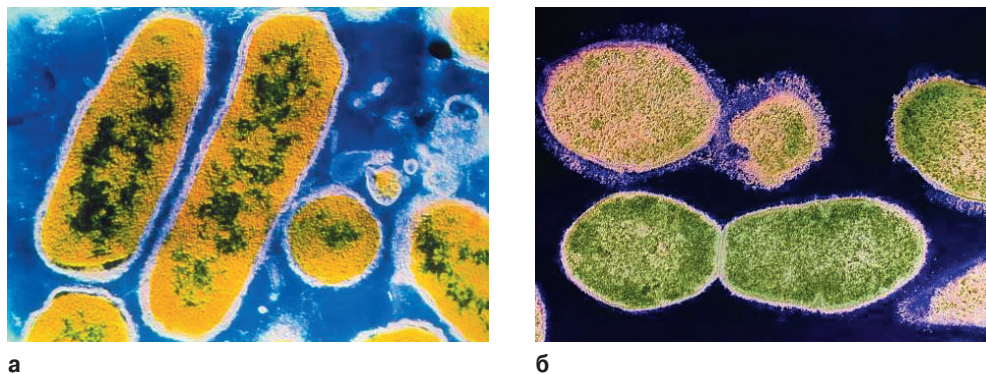
в

Рисунок 1. Макро- и микроизображения *Neisseria meningitidis*

а) рост *N. meningitidis* на «шоколадном» агаре

б) микроскопия ликвора; окраска по Граму

в) цветная трансмиссионная электронная микроскопия



а

б

Рисунок 2. Цветные трансмиссионные электронные микрофотографии *H. influenzae* и *S. pneumoniae*

а) *Haemophilus influenzae*

б) *Streptococcus pneumoniae*

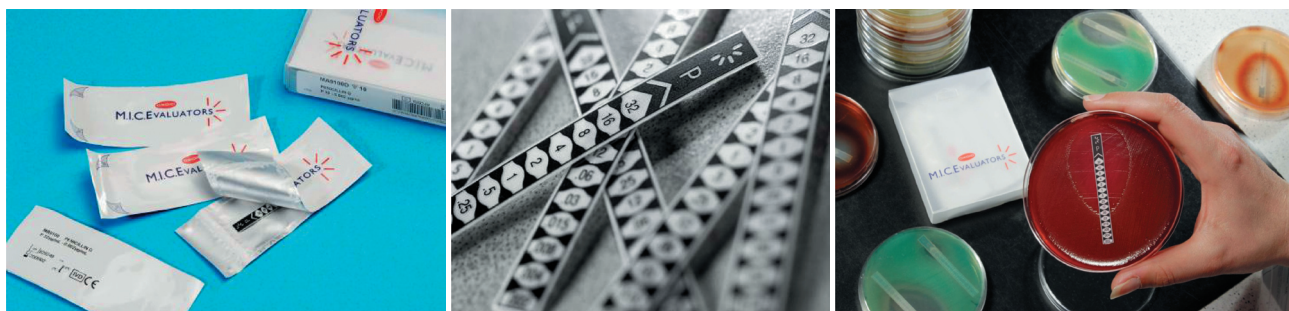


Рисунок 3. Использование М.И.С.Е. полосок для изучения чувствительности выделенных микроорганизмов к антибиотикам