

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**ВЫЯВЛЕНИЕ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ
БАКТЕРИАЛЬНОЙ ЭТИОЛОГИИ У ЛЮДЕЙ Г. САРАТОВА**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 241 группы

Направления 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Фатеевой Екатерины Юрьевны

Научный руководитель

доцент кафедры, к.б.н., доцент



Е.В. Глинская

9.06.23

Зав. кафедрой микробиологии

и физиологии растений, д.б.н., профессор



С.А. Степанов

9.06.23

Саратов 2023

Введение

Актуальность темы. В современной инфектологии, несмотря на значительный прогресс, остаются актуальные проблемы, имеющие большое социально-экономическое значение для всех стран мира. К таким проблемам относятся острые кишечные инфекционные заболевания.

Кишечные инфекции представляют собой группу заболеваний, объединенных общим механизмом передачи и локализацией возбудителя в организме. Все кишечные инфекции объединяет фекально-оральный механизм передачи возбудителя; местом обитания этих микроорганизмов является кишечник. В ходе эволюции эти возбудители, родственные друг другу и к кишечной палочке, выработали способность покидать кишечник и оставаться там длительное время - в пище, почве, воде, загрязненных инфицированными фекалиями, затем проникать через рот с этой пищей или водой следующему хозяину. Таким образом, имеют место водный и пищевой пути заражения. В некоторых случаях возможен и контактный путь заражения [1].

Целью исследования являлось выявление возбудителей кишечных инфекций бактериальной этиологии у пациентов ГУЗ «Саратовская областная инфекционная клиническая больница имени Н. Р. Иванова» в период с сентября 2022 г. по март 2023 г.

Для решения указанной цели были поставлены следующие задачи.

1. Изучить видовой состав возбудителей, выделяемых от больных с признаками ОКИ.
2. Выявить встречаемость сальмонелл разных серологических групп у больных с признаками ОКИ.
3. Провести анализ частоты встречаемости бактерий рода *Salmonella* в зависимости от возраста пациентов.
4. Выявить сезонную динамику встречаемости бактерий рода *Salmonella*.

Материал и методы исследования. Практическая работа проводилась на базе Государственного учреждения здравоохранения «Саратовская областная

инфекционная клиническая больница имени Н. Р. Иванова.» г. Саратов (СОИКБ имени Н. Р. Иванова).

Исследования по выявлению возбудителей острых кишечных инфекций проводились с диагностической целью при анализе клинического материала, полученного от больных инфекционных отделений СОИКБ имени Н. Р. Иванова. Материалом послужили испражнения больных разных возрастов.

Бактериологическое исследование испражнений проводили по методике, обеспечивающей возможность выделения любого представителя патогенных кишечных бактерий, которые могут содержаться в исследуемом материале: патогенные эшерихии, сальмонеллы, шигеллы. Данная методика прописана в стандартной операционной процедуре (СОП) по микробиологическому исследованию испражнений на дисбактериоз кишечника в бактериологической лаборатории ГУЗ «СОИКБ им. Н. Р. Иванова». Данный документ предназначен для стандартизации выполнения исследований испражнений на микрофлору и чувствительность к антибиотикам в бактериологической лаборатории, с целью повысить качество и достоверность выполняемых исследований.

СОП по микробиологическому исследованию испражнений разработан на основе таких нормативных документов, как:

1. МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории»;
2. МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»;
3. СанПин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемические требования по профилактике инфекционных болезней»;
4. ГОСТ 25375-82 «Методы, средства и режимы стерилизации и дезинфекции изделий медицинского назначения»;
5. Приказ Минздрава РФ от 7 февраля 2000 г. № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации»;

6. ГОСТ Р ЕН 12322-2010 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии эксплуатационных характеристик питательных сред»;

7. МР РФ от 29 декабря 2007г. «Биологические и микробиологические факторы. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов А, В, С»;

8. МУК 4.2.3019—12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях»;

9. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями;

10. «Инструкция по микробиологической диагностике кишечных заболеваний, вызванных шигеллами, сальмонеллами, энтеропатогенными кишечными палочками», Москва, 1967г. Под ред. Ю. И. Литинского [2 – 11].

Исследуемым материалом служили испражнения, полученные от больных инфекционных отделений. После получения материала, производят посев на питательные среды для определения условно-патогенных микроорганизмов:

1. среду Плоскирева для селективного выделения и дифференциации *Salmonella* и *Shigella* из клинических образцов (кал) (состав (г/л): лактоза 10,0, смесь солей желчных кислот 8,5, цитрат натрия 8,5, тиосульфат натрия 8,5, мясной экстракт 5,0 пептоновая смесь 5,0, цитрат железа 1,0, нейтральный красный 0,025, бриллиантовый зеленый 0,0003, бактериологический агар 13,50; рН 7,0);

2. среду Эндо для выделения и дифференциации грамотрицательных микроорганизмов кишечной группы (состав (г/л): бактериологический пептон 10,0, лактоза 10,0, калий фосфорнокислый двузамещенный безводный 3,5, сульфит натрия 2,5, бактериологический агар 10,0, рН 7,5);

3. среду Левина для выделения энтеробактерий из исследуемого материала и их дифференциации по признаку ферментации лактозы (состав (г/л):

питательный агар сухой - 36,28, сахар молочный - 12,95, эозин-Н - 0,63, метиловый голубой - 0,076, сода кальцинированная - 0,064, рН 7,1);

4. желточно-солевой агар (ЖСА) для выделения бактерий рода *Staphylococcus* (состав (г/л): пептический перевар животной ткани 10,0, говяжий экстракт 5,0, натрия хлорид 5,0, натрия таурохолат 5,0, бактериологический агар 18,0, рН 8,2);

5. агар Сабуро для культивирования дрожжей и плесневых грибов (состав (г/л): пептон ферментативный сухой 7,0, гидролизат соевой муки 3,0, глюкоза 40,0, экстракт автолизированных дрожжей осветленный 4,0, бактериологический агар - 12,0, рН 5,6);

6. ксилозолизин-дезоксихолатный агар (XLD) для выявления сальмонелл (состав (г/л): ксилоза 3,5, лизин 5,0, д (+)-лактоза, 1-водная 7,5, сахароза 7,5, натрия хлорид 5,0, дрожжевой экстракт 3,0, желчь очищенная, сухая 2,5±0,5, дезоксихолат натрия 1,5, натрия тиосульфат 6,8, железа аммиачное цитрат 0,8, феноловый красный 0,08, натрий углекислый 0,1-0,3, бактериологический агар 10,0, рН 7,4).

Все посеы проводятся методом секторных посевов. Пробы представляют собой стерильные пластиковые пробирки с зондом-тампоном (Минимед, Россия) с транспортной средой Кэри Блейра (состав (г/л): гидрофосфат натрия 1,1; тиогликолят натрия 1,5; хлорид кальция 0,09; хлорид натрия 5,0; бактериологический агар 5,5, рН 8,4).

Транспортная среда Кэри Блейра предназначена для сбора и транспортировки фекальных проб. Данная среда имеет низкий окислительно-восстановительный потенциал и обеспечивает тем самым длительное выживание бактерий.

Зондом-тампоном отбирается мазок из заднего прохода и зонд опускается в пробирку с транспортной средой, маркируется и доставляется в лабораторию. С зондов-тампоном производится посев стерильной на поверхность питательной среды в чашке Петри штрихом или в жидкую питательную среду в пробирках. Посевы инкубируются при 37 °С в течение 24 часов.

Для родовой дифференциации использовали комбинированную питательную среду Олькеницкого. Для видовой идентификации использовали метод времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF масс-спектрометрия). Для проведения данного метода использовали масс-спектрометр VITEK MS (BioMérieux, Франция). При использовании метода MALDI-TOF масс-спектрометрии проводилась идентификация бактерий группы кишечной палочки, бактерий родов *Salmonella*, *Staphylococcus* и грибов рода *Candida*.

Дальнейшая идентификация патогенных микроорганизмов рода *Salmonella* проводилась с использованием метода латекс-агглютинации.

Для дифференциации использовали сыворотки диагностические сальмонеллезные адсорбированные для реакции агглютинации Петсал (СПБНИИВС, Россия). Метод латексной агглютинации (ЛА) представляет собой иммунологический метод, основанный на агрегации модифицированных латексных частиц в связи с образованием афинного взаимодействия «антиген - антитело». Данный метод является качественным и способствует быстрой дифференциации бактерий рода *Salmonella* до видов и серогрупп.

Анализ частоты встречаемости бактерий рода *Salmonella* в зависимости от возраста пациентов проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003 (for Windows XP). Были проанализированы данные по встречаемости бактерий рода *Salmonella* в период с сентября 2022 по март 2023 г.

Анализ сезонной динамики встречаемости бактерий рода *Salmonella* проводили с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003 (for Windows XP).

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (for Windows; «Stat Soft Inc.», США), Microsoft Excel 2003 (for Windows XP). Статистические результаты считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Структура и объем работы. Работа изложена на 48 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 1 таблицей и 11 рисунками. Список использованных источников включает в себя 56 наименований.

Научная новизна. В последние годы среди возбудителей острых кишечных инфекций бактериальной этиологии все чаще преобладают бактерии рода *Salmonella*. В связи с этим появляется необходимость отслеживания динамики выделения различных возбудителей бактериальных ОКИ в учреждениях здравоохранения.

Научная значимость. Острые кишечные инфекции по сей день остаются распространенными и их изучение остается актуальным в силу их распространения, тяжести течения, а также возможностью неблагоприятных исходов. За последние годы значительно улучшились методы диагностики возбудителей ОКИ, однако все еще остается проблемой установление природы возбудителя.

Положения, выносимые на защиту.

1. Видовой состав возбудителей острых кишечных инфекций был представлен бактериями рода *Staphylococcus*, дрожжеподобными грибами рода *Candida*, а также основными возбудителями ОКИ – бактериями рода *Salmonella*.

2. Оценка встречаемости бактерий рода *Salmonella* различных серологических групп показала наличие представителей 4 серологических групп, которые являются основными патогенными агентами при развитии ОКИ: *Salmonella* гр. В *typhimurium*, *Salmonella* гр. Д *enteritidis*, *Salmonella* гр. С *newport*, *Salmonella* гр. С *virchow*. Наиболее часто встречаются представители *Salmonella* гр. Д *enteritidis*.

3. Анализ частоты встречаемости бактерий рода *Salmonella* в зависимости от возраста пациентов показал, что наиболее часто обнаруживались бактерии рода *Salmonella* среди больных от 1 года до 5 лет. Меньше всего случаев

заболевания ОКИ было выявлено среди людей 31 – 35 лет – только в сентябре 2022 г. и марте 2023 г.

4. Исследование сезонной динамики встречаемости бактерий рода *Salmonella* показало, что число заболевших сальмонеллезом оказалось максимальным в сентябре 2022 года и составило 48 человек.

Основное содержание работы

В главе «Обзор литературы» представлена краткая характеристика возбудителей острых кишечных инфекций, относящийся к бактериям родов *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, а также вирусам и грибам. Описаны и проанализированы современные методы диагностики острых кишечных инфекций.

В главе «Материал и методы» описаны методики изучения видового состава возбудителей острых кишечных инфекций бактериальной природы, выделенных от больных инфекционных отделений СОИКБ имени Н. Р. Иванова, г. Саратов.

В главе «Результаты и обсуждение» описаны и проанализированы экспериментально полученные данные о встречаемости различных бактериальных возбудителей острых кишечных инфекций в период с сентября 2022 года по март 2023 года. Проанализирован видовой состав бактерий, относящихся к роду *Salmonella*, изучена возрастная заболеваемость и сезонность.

Были проанализированы результаты анализов больных инфекционных отделений СОИКБ имени Н. Р. Иванова. Анализы проводились с использованием бактериологических методов исследования. С целью выявления условно-патогенной флоры, бактерий группы кишечной палочки, в частности, рода *Shigella*, *Salmonella*, *E. coli*, а также *Staphylococcus* и грибов рода *Candida* проводились посевы материалов от больных с признаками острых кишечных инфекций.

Всего за период с сентября 2022 г. по март 2023 г. было проведено 11117 анализов, из которых 8,3 % оказались положительными. В результате анализа

полученных данных не было выявлено ни одного представителя шигелл и *E. coli*, однако в разных инфекционных отделениях были обнаружены представители родов *Staphylococcus*, *Candida* и *Salmonella*. За 12 месяцев было выявлено 2,32 % положительных анализов на сальмонеллы, 2,31 % проб, содержащих грибы рода *Candida* и 3,67 % случаев выявления бактерий, относящихся к роду *Staphylococcus*.

Проведенный анализ данных показал, что у больных инфекционного отделения отсутствовали положительные анализы на типичных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, которые являются типичными возбудителями острых кишечных инфекций, однако было выявлено бактерионосительство представителей рода *Salmonella*, которые также являются возбудителями таких ОКИ, как сальмонеллез.

Небольшой процент больных показали носительство грибов рода *Candida* и бактерий, относящихся к роду *Staphylococcus*. Выявление данных микроорганизмов может быть связано с ослаблением иммунной системы из-за развития кишечной инфекции. Полученные нами данные могут стать основой клинико-эпидемиологической проверки встречаемости энтеробактерий среди больных инфекционных отделений различных учреждений здравоохранения.

При анализе полученных данных было выяснено, что видовой состав возбудителей ОКИ в СОИКБ имени Н. Р. Иванова в период с сентября 2022 г. по март 2023 г. был представлен такими родами микроорганизмов, как *Salmonella*, *Staphylococcus* и грибами рода *Candida*. Поскольку были выделены бактерии рода *Salmonella*, было проведено исследование видовой принадлежности данных возбудителей к различным видам данного рода при помощи реакции латексной агглютинации.

Из положительных проб на бактерии рода *Salmonella* были выделены представители 4 серологических групп, которые являются основными патогенными агентами при развитии ОКИ: *Salmonella* гр. В *typhimureum*, *Salmonella* гр. Д *enteritidis*, *Salmonella* гр. С *newport*, *Salmonella* гр. С *virchow*. Наиболее часто встречаются представители *Salmonella* гр. Д *enteritidis*.

Также полученные данные оценивались с точки зрения зависимости заболевания ОКИ и возраста заболевших. Наиболее часто обнаруживались бактерии рода *Salmonella* среди больных от 1 года до 5 лет. При этом максимальное значение заболевших возрастом 1 – 5 лет приходилось на ноябрь 2022 г., а минимальное на октябрь 2022 г. Меньше всего случаев заболевания ОКИ, вызванных сальмонеллами, было выявлено среди людей 31 – 35 лет – только в сентябре 2022 г. и марте 2023 г.

За изученный период число заболевших сальмонеллезом оказалось максимальным в сентябре 2022 года и составило 48 человек, в весенний период этот показатель снижался. Основной пик заболеваемости приходился на ноябрь. В последующие месяцы с декабря по февраль наблюдалось постепенное снижение заболеваемости, но, тем не менее, показатель находился на высоком уровне. Уровень заболеваемости вновь увеличивался в марте.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что уровень заболеваемости острыми кишечными инфекциями бактериальной этиологии находятся на высоком уровне. 2,32 % выделяемых бактерий при бактериологическом анализе кала относятся к роду *Salmonella*, который является основным возбудителем острых кишечных инфекций. В связи с этим остается актуальным мониторинг встречаемости бактерий, способных вызывать острые кишечные инфекции, а также разработка противоэпидемических мероприятий, направленных на предотвращение заболеваемости.

Выводы

1. Видовой состав возбудителей острых кишечных инфекций был представлен бактериями рода *Staphylococcus*, дрожжеподобными грибами рода *Candida*, а также основными возбудителями ОКИ – бактериями рода *Salmonella*.

2. Оценка встречаемости бактерий рода *Salmonella* различных серологических групп показала наличие представителей 4 серологических групп, которые являются основными патогенными агентами при развитии ОКИ: *Salmonella* гр. В *typhimurium*, *Salmonella* гр. Д *enteritidis*, *Salmonella* гр. С *newport*, *Salmonella* гр. С *virchow*. Наиболее часто встречаются представители *Salmonella* гр. Д *enteritidis*.

3. Анализ частоты встречаемости бактерий рода *Salmonella* в зависимости от возраста пациентов показал, что наиболее часто обнаруживались бактерии рода *Salmonella* среди больных от 1 года до 5 лет. Меньше всего случаев заболевания ОКИ было выявлено среди людей 31 – 35 лет – только в сентябре 2022 г. и марте 2023 г.

4. Исследование сезонной динамики встречаемости бактерий рода *Salmonella* показало, что число заболевших сальмонеллезом оказалось максимальным в сентябре 2022 года и составило 48 человек.

Список использованных источников

1. Antimicrobial resistance patterns in Enterobacteriaceae isolated from an urban wastewater treatment plant / F. da S. Miguel [et al.] // FEMS Microbiology Ecology. – 2007. – V. 60. – P. 166–176.
2. МУ 4.2.2039-05 Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Методические указания. — М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006. — 126 с.
3. МУ 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. —М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. — 91 с.
4. СанПин 3.3686-21 Санитарно-эпидемические требования по профилактике инфекционных болезней: Санитарные правила и нормы. – М. : Министерство Юстиции Российской Федерации, 2021. – 1092 с.
5. ГОСТ 25375-82. Методы, средства и режимы стерилизации и дезинфекции изделий медицинского назначения. – М. : Государственный комитет СССР по стандартам, 1982. – 11 с.
6. Приказ Минздрава РФ от 7 февраля 2000 г. № 45 «О системе мер по повышению качества клинических лабораторных исследований в учреждениях здравоохранения Российской Федерации».
7. ГОСТ Р ЕН 12322-2010. Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии эксплуатационных характеристик питательных сред. – Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии Российской Федерации, 2010. – 12 с.
8. МР Биологические и микробиологические факторы. Бактериологическая диагностика брюшного тифа и паратифов А, В, С. – М. : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2007. – 19 с.
9. МУК 4.2.3019—12. Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном

федеральном уровнях. – М. : Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2012. – 61 с.

10. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями. – М. : Министерство здравоохранения СССР, 1984. – 45 с.

11. Инструкция по микробиологической диагностике кишечных заболеваний, вызванных шигеллами, сальмонеллами, энтеропатогенными кишечными палочками. – М. : Медицина, 1967. – 77 с.

