



**Лабораторная
диагностика
стафилококковой
инфекции**

СЕМЕЙСТВО

Micrococaceae

РОД

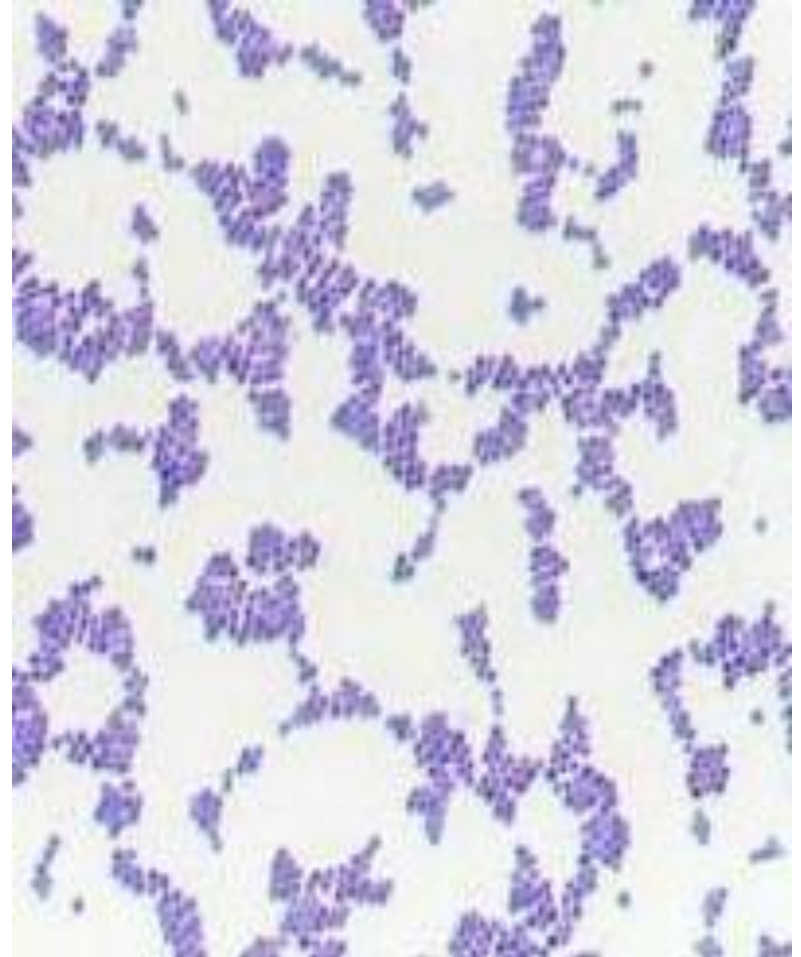
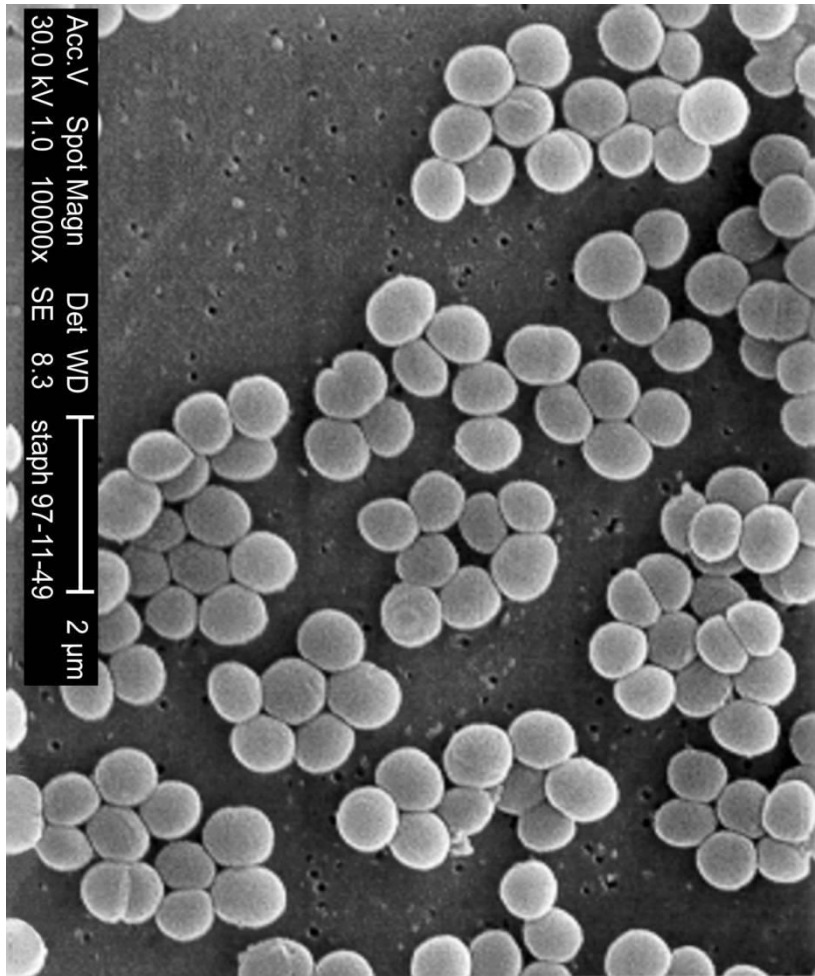
Staphylococcus

ВИДЫ

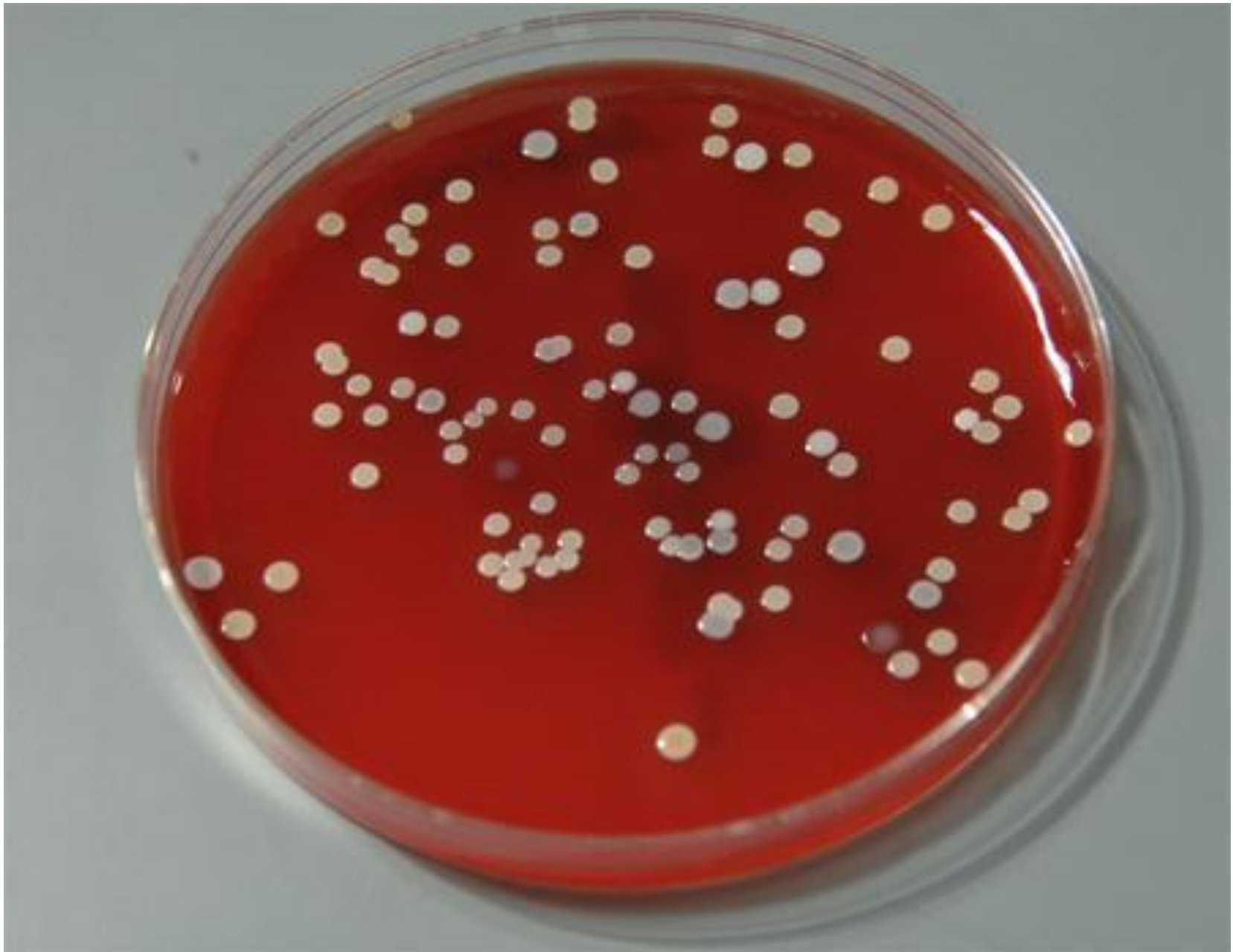
- **S. aureus**
- **S. epidermidis**
- **S. saprophyticus**
- **S. hominis**
- **S. haemolyticus**



Staphylococcus aureus



Колонии *S. aureus* на кровяном агаре



Колонии *S. aureus* на желточно-солевом агаре



ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ СТАФИЛОКОККОВ

Микрокапсула (способствует адгезии, разобщает стадии фагоцитоза)

Белок А (блокирует Fc-фрагмент антител, разобщает действие системы комплемента, кооперацию клеток в иммунном ответе, оказывает антифагоцитарное и местное токсическое действие)

Ферменты агрессии

Плазмокоагулаза (образует сгусток вокруг бактерий из компонентов крови)

Фибринолизин (нарушает тромбообразование)

Коллагеназа (разрушает волокна соединительной ткани)

Гиалуронидаза (разрушает коллоид межклеточного вещества, суставов)

Лецитиназа (разрушает лецитин мембран – повышает их проницаемость)

Нейраминидаза (расщепляет нейраминовые (сиаловые) кислоты)

Эндонуклеазы (ДНКаза, РНКаза)

β-лактамазы (разрушают антибиотики – пенициллины, цефалоспорины...)

Токсины

Гемолизин

Лейкоцидин

Эксфолиатин

Некротоксин

Энтеротоксин

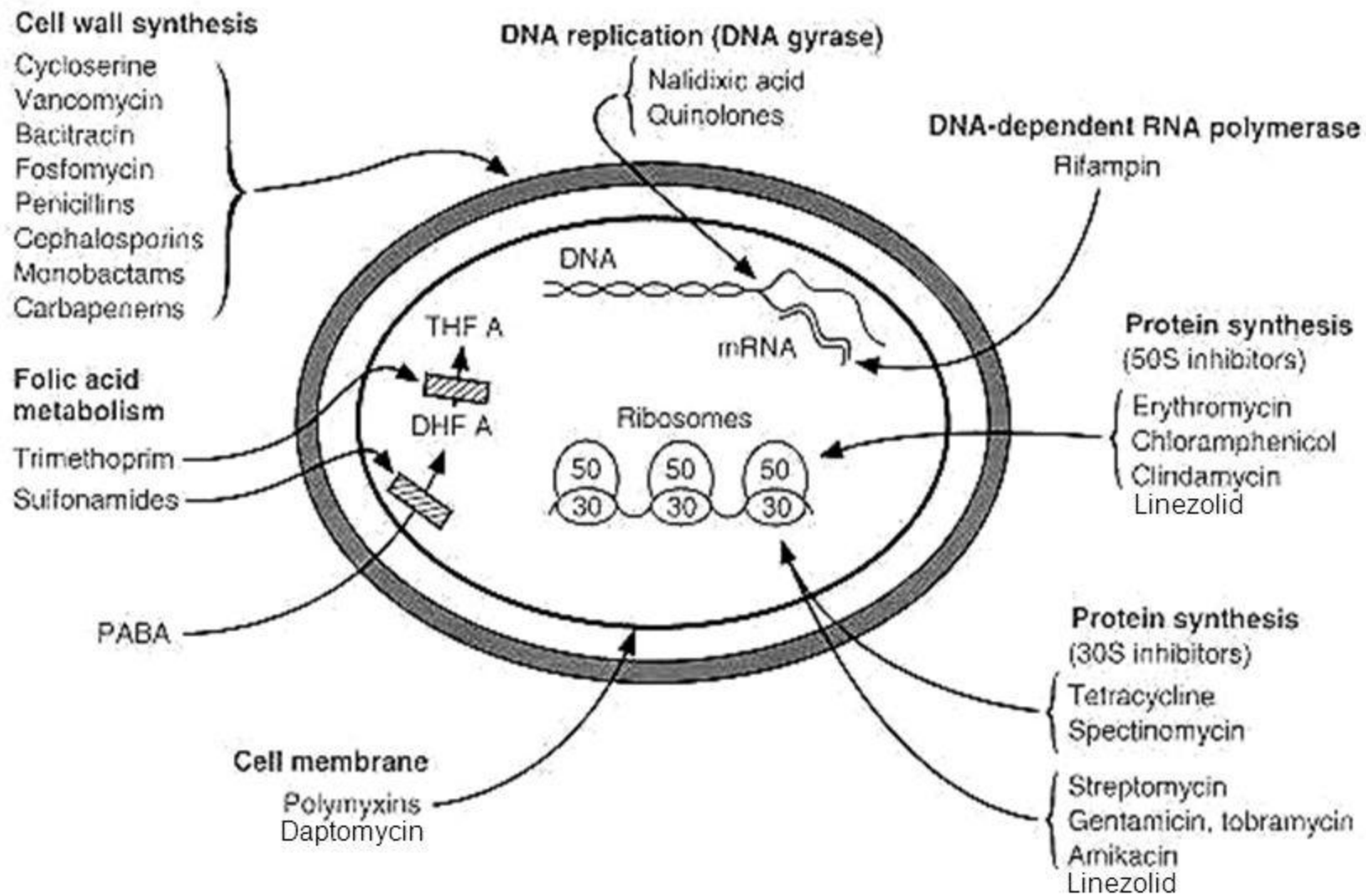
Нейротоксин

СТШ

Стафилококковая инфекция



Antibiotic Mechanism of Action



Методы определения чувствительности к противомикробным препаратам

Диффузионный метод

Взвесь бактериальной культуры (инокулюм) в физиологическом растворе соответствует оптической плотности 0,5 по стандарту Mc Farland и содержащий примерно $1,5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл.

Посев можно производить двумя способами:

1-й способ: ватный тампон необходимо погрузить в стандартную суспензию микроорганизма, затем избыток инокулюма удалить, отжав тампон о стенки пробирки. Инокуляцию проводят штриховыми движениями в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60° .

2-й способ: инокулюм наносят пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 1-2 мл, равномерно распределяют по поверхности покачиванием, после чего удаляют избыток пипеткой.

Приоткрытые чашки подсушивают при комнатной температуре в течение 10-15 мин.

Аппликацию дисков (полосок для Е-теста) проводят с помощью стерильного пинцета или автоматического диспенсера. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15-20 мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм следует помещать не более 6 дисков с АБП. Диски должны равномерно контактировать с поверхностью агара, для чего их следует аккуратно прижать пинцетом.

Диаметр зон задержки роста измеряют с учетом диска с точностью до 1 мм.

Е-тест представляет собой узкую полоску полимера (0,5x6,0 см), на которую нанесен градиент концентраций препарата (от минимальных до максимальных). Подавление роста микроорганизма вокруг полоски Е-теста происходит только в той зоне, где концентрация вещества, диффундирующего из носителя, выше МПК, при этом образуется каплевидная зона ингибиции.

Величину МПК учитывают в том месте, где граница зоны подавления роста вплотную подходит к носителю.

Эллипс-тест
(E-тест)



Диско-
диффузионный
метод

Критерии чувствительности стафилококков к антибиотикам (дискодиффузионный метод)

| № п/п | Наименование дисков с препаратами | Содержание препарата в диске, мкг | Среда** | Диаметры зон подавления роста культур, мм | | |
|-------|---|-----------------------------------|---------|---|---------------|----------------|
| | | | | Устойчивых | Промежуточных | Чувствительных |
| 1 | Бензилпенициллин | 10 ЕД (6 мкг) | 1 | ≤28 | - | ≥29 |
| 2 | Оксациллин -для <i>S. aureus</i> -для коагулазонегативных стафилококков | 1 | 1 | ≤10 | 11-12 | ≥13 |
| | | | 1 | ≤17 | - | ≥18 |
| 3 | Эритромицин | 15 | 1 | ≤13 | 14-22 | ≥23 |
| 4 | Клиндамицин | 10 | 1 | ≤14 | 15-20 | ≥21 |
| 5 | Ципрофлоксацин | 5 | 1 | ≤15 | 16-20 | ≥21 |
| 6 | Левифлоксацин | 5 | 1 | ≤13 | 14-16 | ≥17 |
| 7 | Гентамицин | 10 | 1 | ≤12 | 13-14 | ≥15 |
| 8 | Ванкомицин | 30 | 1 | - | - | ≥15 |
| 9 | Линезолид | 30 | 1 | - | - | ≥21 |
| 10 | Триметоприм/ сульфаметоксазол (ко-тримоксазол) | 1,25/23,75 | 1 | ≤10 | 11-15 | ≥16 |
| 11 | Фузидин | 10 | 1 | ≤15 | 16-21 | ≥22 |
| 12 | Доксициклин | 30 | 1 | ≤12 | 13-15 | ≥16 |
| 13 | Рифампицин | 5 | 1 | ≤16 | 17-19 | ≥20 |
| 14 | Левомецетин | 30 | 1 | ≤12 | 13-17 | ≥18 |

**Используемая среда: Мюллера-Хинтон согласно "Методическим указаниям по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам"

Метод серийных разведений

Метод серийных разведений в жидких средах позволяет установить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) и минимальную бактерицидную концентрацию (МБК) препарата для выделенного возбудителя.

В 8 пробирках готовят серию двойных разведений препарата на питательной среде, соответствующей потребностям возбудителя. Конечный объём среды в каждой пробирке составляет 1 мл. Контролем служит пробирка, содержащая стерильную питательную среду. В каждую пробирку вносят по 0,05 мл физиологического раствора, содержащего 10^6 /мл микробных клеток. Пробирки инкубируют 10-18 ч при 37 °С (или до появления бактериального роста в контрольной пробирке). По истечении указанного срока результаты учитывают по изменению оптической плотности среды.

Для уточнения результата делают высев каждой пробы на плотную среду и еще через 24 часа проводят подсчет колонии образующих единиц.

Концентрация антибиотика (мг/л)

Контроль

0

0.25

0,5

1

2

4

8

16

32



Рост микроорганизма

МБК

Роста нет

Нет
роста
МБК

Единичные
колонии
МИК

Сплошной рост



4 мг/л

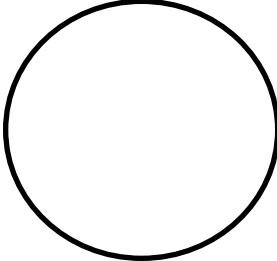
2 мг/л

1 мг/л

0.5 мг/л

0,25 мг/л

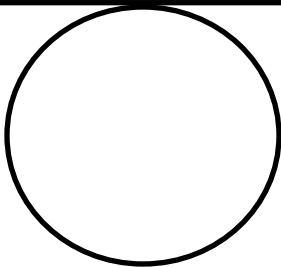
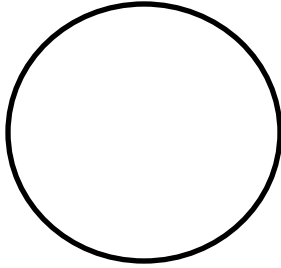
Протокол. Лабораторная диагностика стафилококковой инфекции

| Исследуемый материал | Что сделать | Результат |
|--|---------------------------------|--|
| Рост <i>S. aureus</i> на питательном агаре | Описать характер роста | <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> <hr/> |
| Рост <i>S. aureus</i> на питательном бульоне | Описать характер роста | <hr/> <hr/> <hr/> |
| Мазок-препарат из чистой культуры <i>S. aureus</i> , окраска по Граму. | Промикроскопировать, зарисовать |  |

Выполнил (ФИО): _____


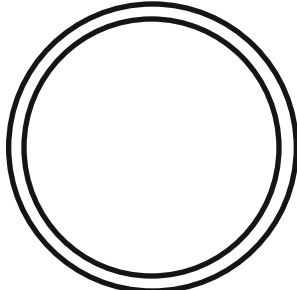
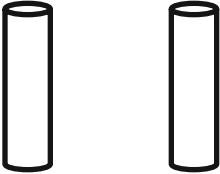
Проверил: _____

Протокол. Бактериологическое исследование гноя

| День исслед-я | Исследуемый материал | Что сделать | Результат |
|---------------|-----------------------------|---|--|
| 1 день | Гнойное отделяемое | 1) Бактериоскопия с окраской по Граму (демонстрация) 2) Произвести посев на чашку с ЖСА штриховкой |  |
| 2 день | Рост колоний на чашке с ЖСА | 1) Изучить и описать морфологию колоний 2) Приготовить мазок-препарат, окрасить по Граму, изучить морфологию, зарисовать 3) Произвести пересев на скошенный агар для накопления чистой культуры | 1) _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ _____ 2)  |

Выполнил (ФИО): _____

Проверил: _____

| | | | |
|--------|---|--|--|
| 3 день | Рост культуры на скошенном агаре | <p>1) Описать рост на скошенном агаре, провести бактериоскопию</p> <p>2) Произвести посевы на</p> <ul style="list-style-type: none"> - среды Гисса с глюкозой и маннитом (культивирование в анаэробных условиях) - кровяной агар <p>3) Поставить тест на плазмокоагулазу (просмотр каждые 2 часа)</p> <p>4) Приготовить взвесь бактерий в физиологическом растворе по стандарту мутности и произвести посев:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 0,1 мл газонотом для определения чувствительности к официальному препарату «Бактериофаг стафилококковый» - тампоном (газонотом) для определения чувствительности к антибиотикам дискодиффузионным методом <p>5) Произвести посев на питательный бульон</p> | |
| 4 день | <p>1) Рост на средах Гисса с глюкозой и маннитом</p> <p>2) Рост на кровяном агаре</p> <p>3) Тест на плазмокоагулазу</p> | <p>1) Оценить сахаролитические свойства</p> <p>2) Изучить и зарисовать особенности роста</p> <p>3) Оценить плазмокоагулазную активность</p> | <p>1) </p> <p>2) </p> <p>3) </p> |

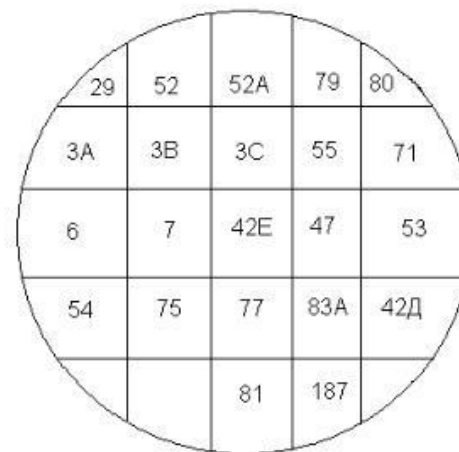
Выполнил (ФИО): _____

Проверил: _____

5 день

Выращенные посевы
(фаготипирование)

Определить фаговар и
фагогруппу *S.aureus*



A circular grid divided into 20 cells, arranged in 5 rows and 4 columns. The cells contain the following numbers and letters:

| | | | | |
|----|----|-----|-----|-----|
| 29 | 52 | 52A | 79 | 80 |
| 3A | 3B | 3C | 55 | 71 |
| 6 | 7 | 42E | 47 | 53 |
| 54 | 75 | 77 | 83A | 42Д |
| | | 81 | 187 | |

**Сделать заключение по
бактериологическому
исследованию гноя**

Заключение: _____

Выполнил (ФИО): _____

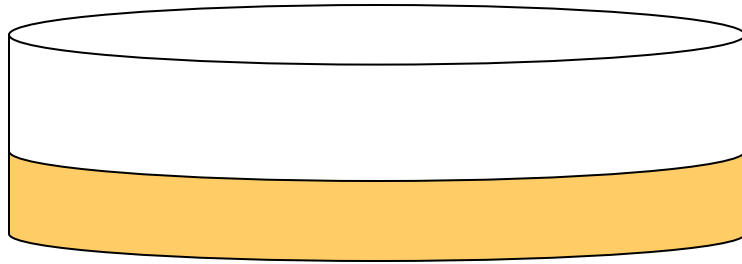
Проверил: _____

Фагогруппы *S. aureus*

| Фагогруппы | Номера бактериофагов |
|-------------------|--|
| I | 29, 52, 52A, 79, 80 |
| II | 3A, 3C, 55, 71 |
| III | 6, 42E, 47, 53, 54, 75, 77, 83A, 84, 85 |
| V | 94, 96 |
| Вне групп | 81, 95 |

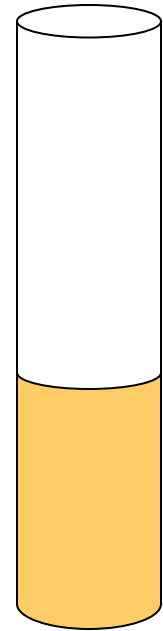
Фаготипирование *S.aureus*

Посев газоном

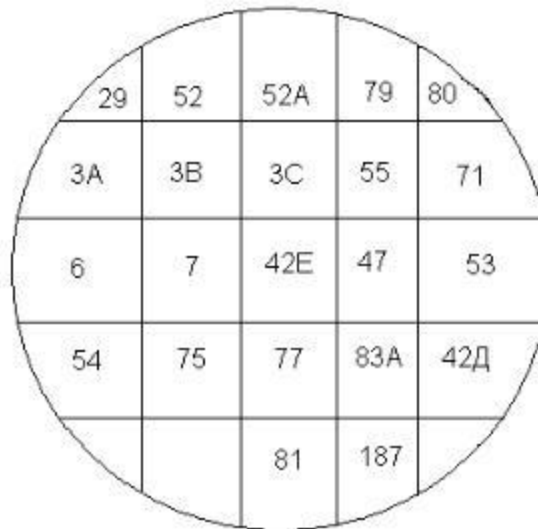


Питательный агар

0,1 мл



культура *S.aureus*
в МПБ

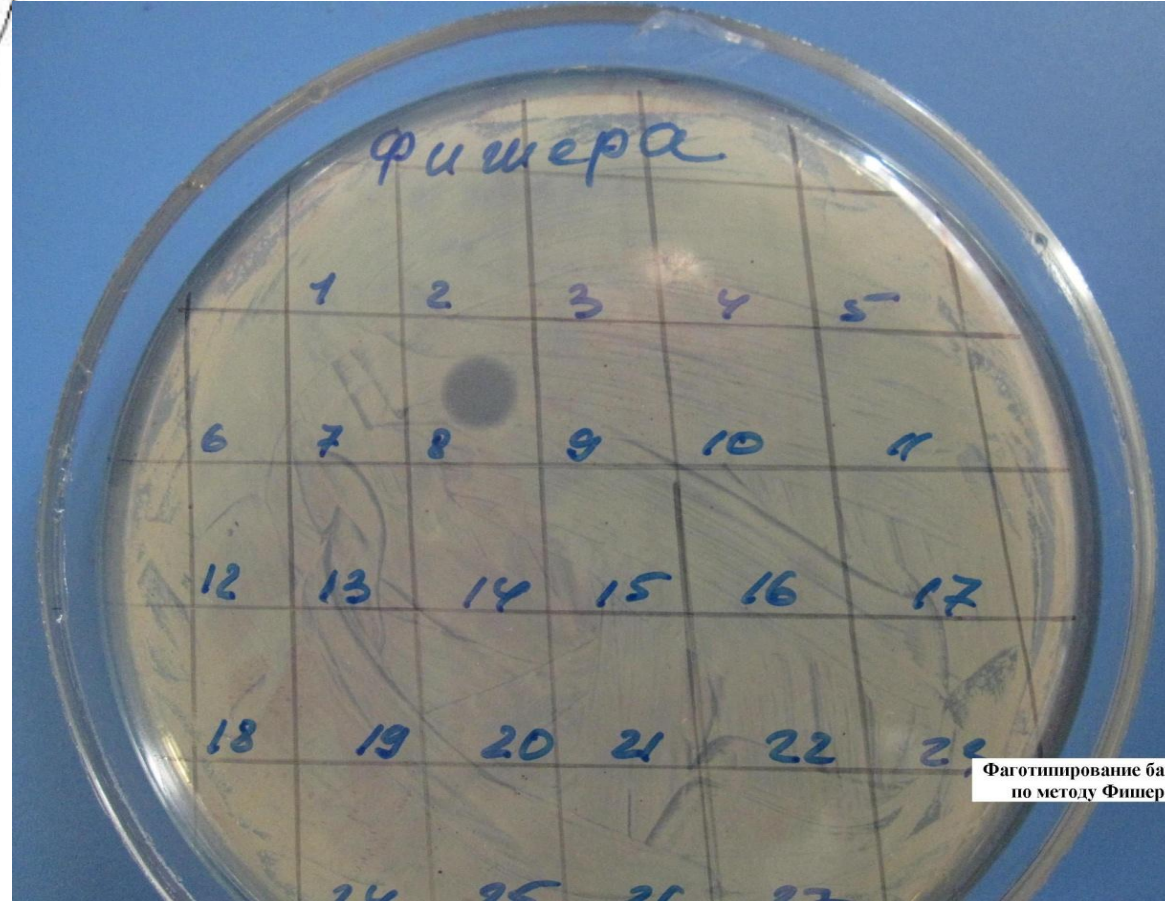


Дно засеянной чашки расчерчивают маркером на 23 квадрата (по числу типовых бактериофагов)

Фаготипирование



| | | | | |
|----|----|-----|-----|-----|
| 29 | 52 | 52A | 79 | 80 |
| 3A | 3B | 3C | 55 | 71 |
| 6 | 7 | 42E | 47 | 53 |
| 54 | 75 | 77 | 83A | 42Д |
| | | 81 | 187 | |



Фаготипирование бактерий по методу Фишера

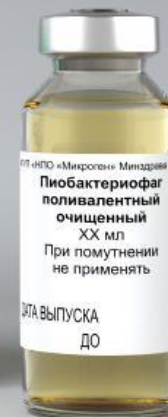


МИКРОХИГЕН

Пиобактериофаг
поливалентный очищенный
 Пиобактериофаг
 раствор для приема внутрь,
 местного и наружного применения

4 флакона по 20 мл

Стерильно При помутнении не применять
 Способ применения – см. Инструкцию



Показания.
 Лечение и профилактика гнойно-воспалительных и энтеральных заболеваний, вызванных бактериями рода *Staphylococcus* у взрослых и детей.





**Показания к применению.
Лечение заболеваний
стафилококковой этиологии у детей
и взрослых.**



Анатоксин стафилококковый



Показания к применению.
Специфическая иммунотерапия острой и хронической (в стадии обострения) стафилококковой инфекции у взрослых.

Вакцина стафилококковая лечебная (Антифагин стафилококковый)



Состав препарата: комплекс растворимых термостабильных антигенов стафилококка. Активным веществом является комплекс пептидогликана и тейхоевых кислот, извлекаемый из микробных клеток.

Показания к применению: лечение гнойничковых заболеваний кожи стафилококковой этиологии: фурункулы, карбункулы, стафилодермия.

Иммуностимулирующие препараты бактериального происхождения



SMED.RU



Показания: профилактика и лечение острых и хронических заболеваний органов дыхания