



**Лабораторная  
диагностика  
стафилококковой  
инфекции**

# СЕМЕЙСТВО

**Micrococaceae**

# РОД

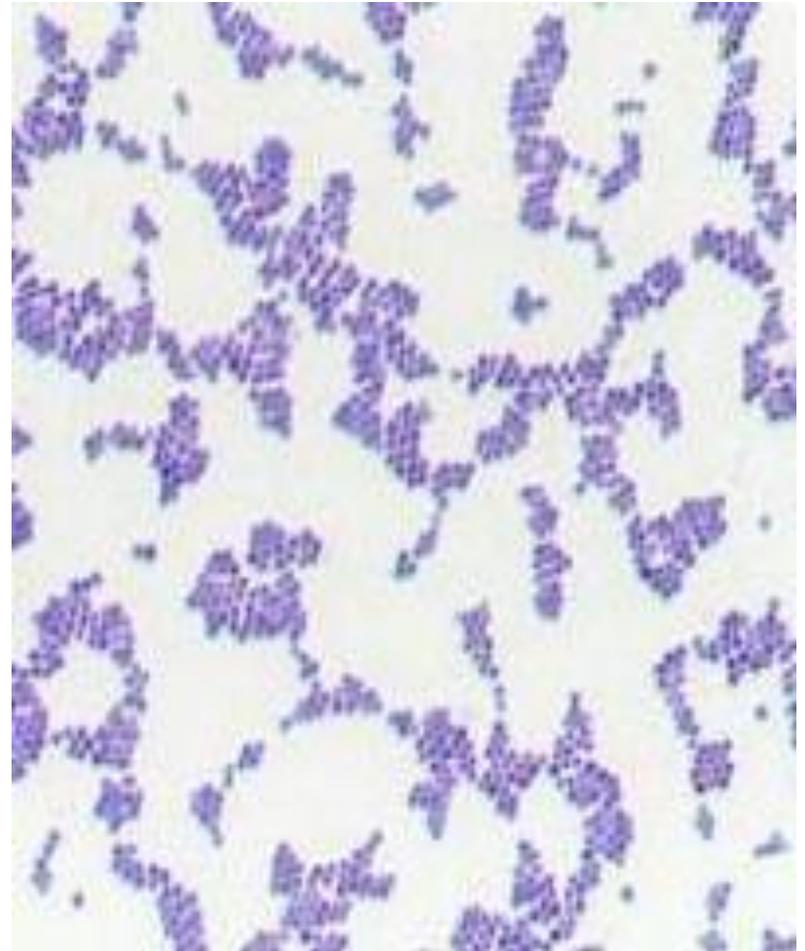
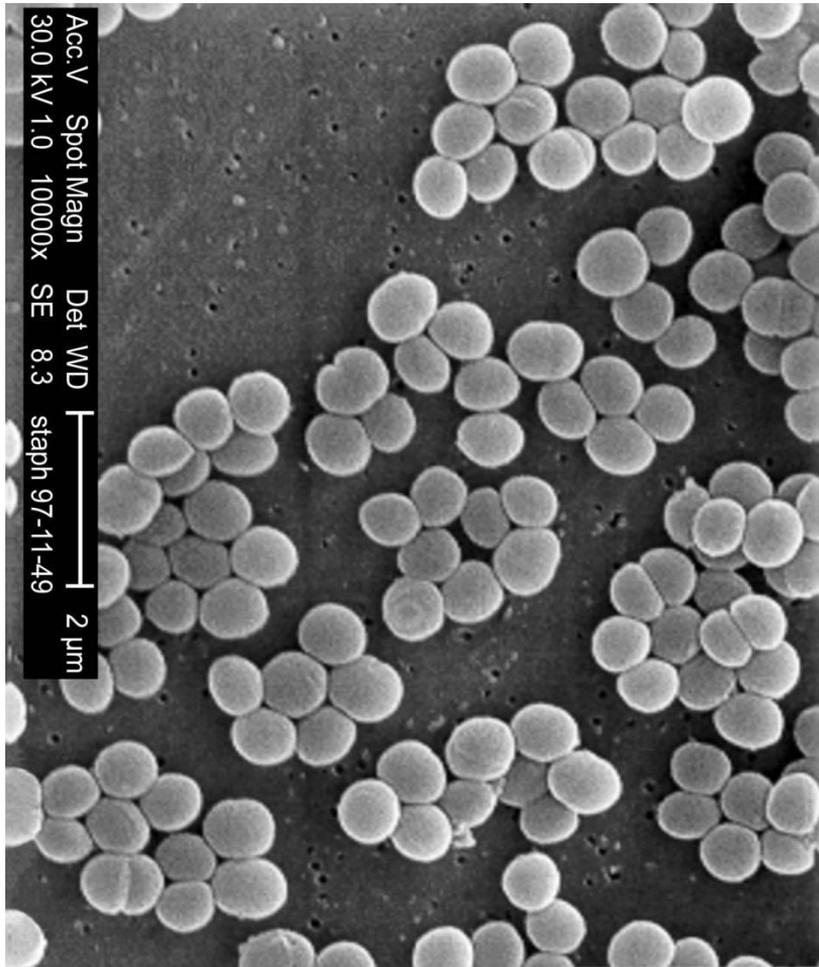
**Staphylococcus**

# 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)

$\beta$ -лактамазы (разрушают антибиотики – пенициллины, цефалоспорины...)

# **Токсины**

**Гемолизин**

**Лейкоцидин**

**Эксфолиатин**

**Некротоксин**

**Энтеротоксин**

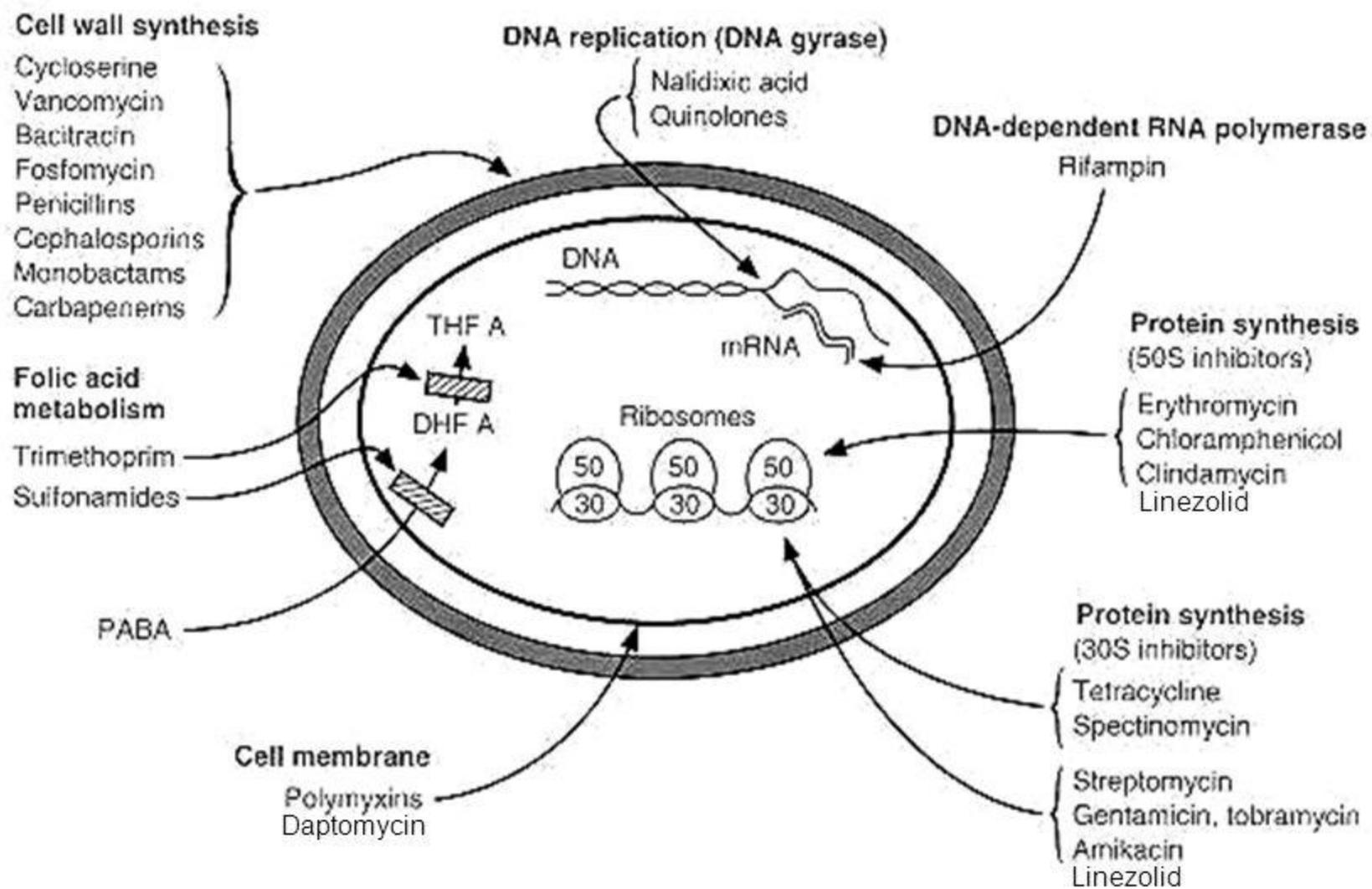
**Нейротоксин**

**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  $60^\circ$ .**

**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

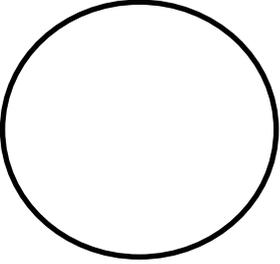
2 мг/л

1 мг/л

0.5 мг/л

0,25 мг/л

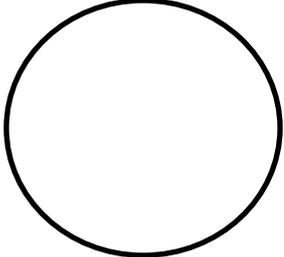
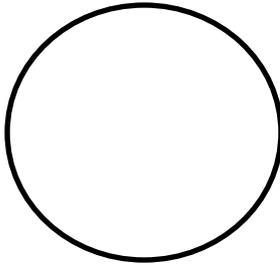
# Протокол. Лабораторная диагностика стафилококковой инфекции

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): \_\_\_\_\_

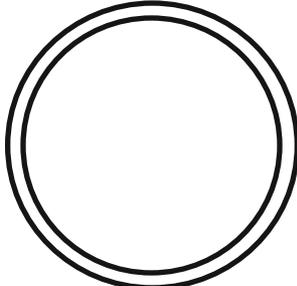
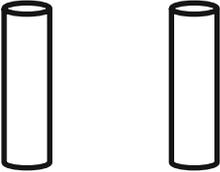
Проверил: \_\_\_\_\_

# 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"> <li>- среды Гисса с глюкозой и маннитом (культивирование в анаэробных условиях)</li> <li>- кровяной агар</li> </ul> <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"> <li>- 0,1 мл газоном для определения чувствительности к официальному препарату «Бактериофаг стафилококковый»</li> <li>- тампоном (газоном) для определения чувствительности к антибиотикам дискодиффузионным методом</li> </ul> <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): \_\_\_\_\_

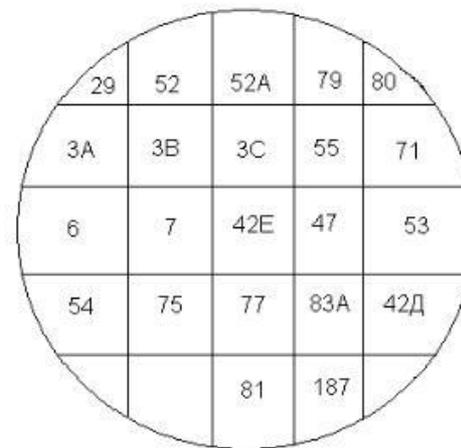
Проверил: \_\_\_\_\_



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):** \_\_\_\_\_

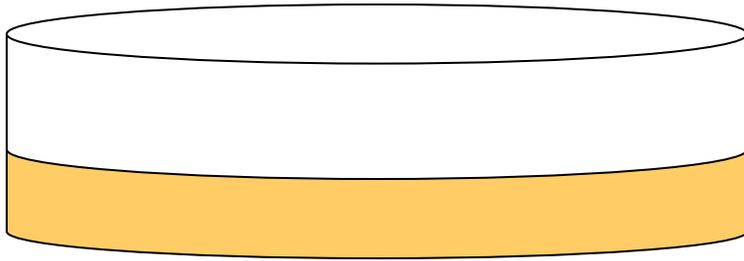
**Проверил:** \_\_\_\_\_

# Фагогруппы *S. aureus*

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

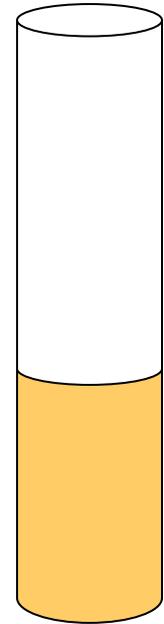
# Фаготипирование *S.aureus*

Посев газоном

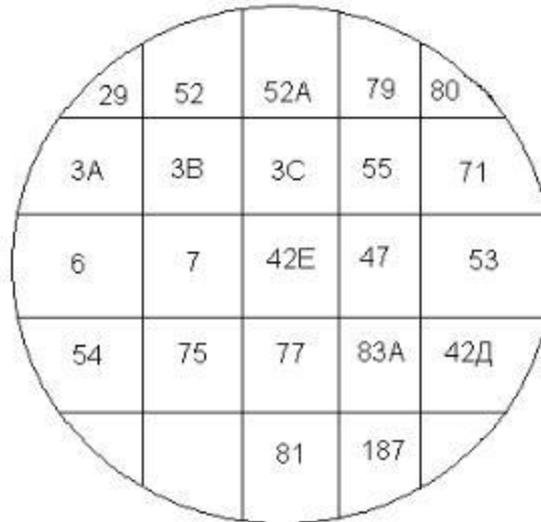


Питательный агар

0,1 мл



культура *S.aureus*  
в МПБ

A circular grid divided into 23 squares, used for phage typing. The squares are numbered with specific phage types.

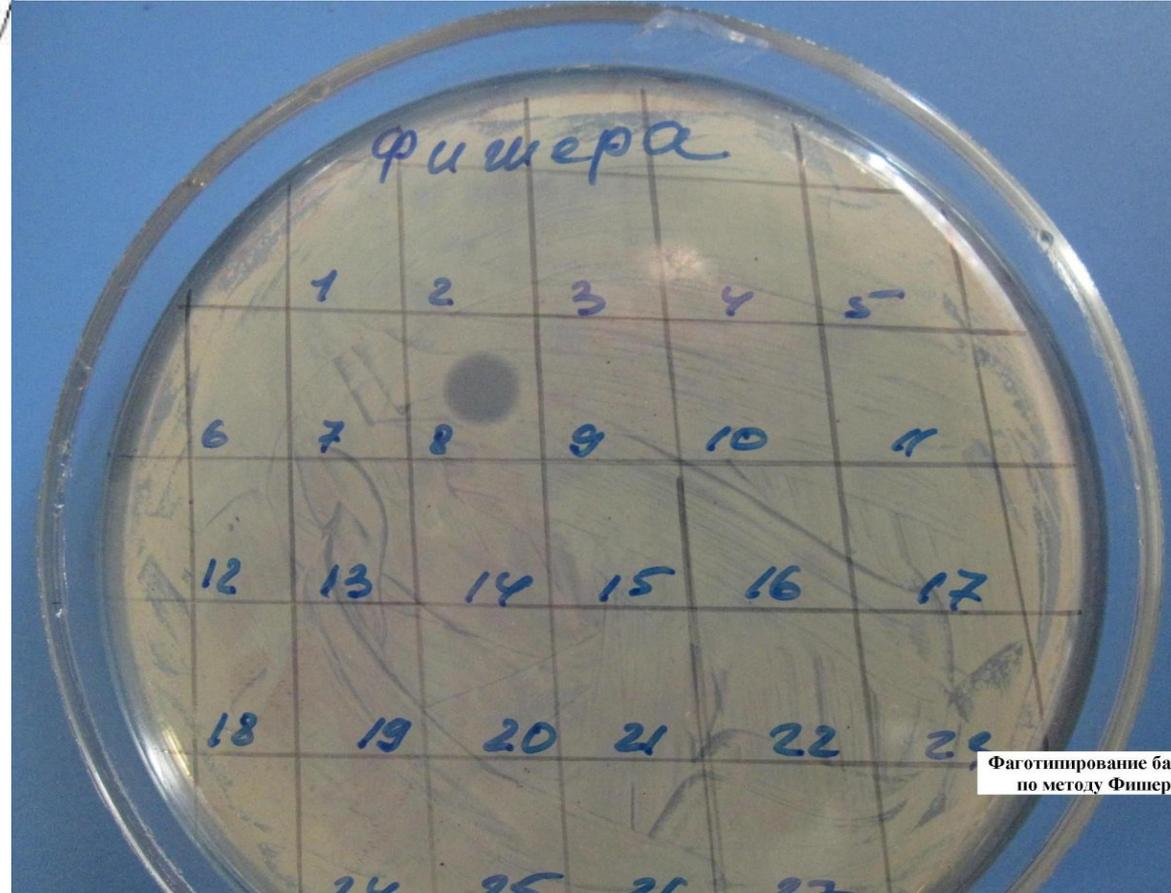
29	52	52A	79	80
3A	3B	3C	55	71
6	7	42E	47	53
54	75	77	83A	42Д
		81	187	

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

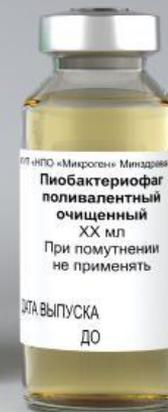


**МИКРОХИГЕН**

**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