



ОБЛАСТНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«СТАРООСКОЛЬСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ КОЛЛЕДЖ»

**Методы лабораторной диагностики стафилококковой инфекции
в лаборатории клинической микробиологии ОГБУЗ «Старооскольская
окружная больница Святителя Луки Крымского»**

Выполнила студентка 320 группы
специальности 31.02.03
Лабораторная диагностика
Симакова Валерия Сергеевна

Научный руководитель
Устинова Ольга Вячеславовна

Старый Оскол - 2021 год

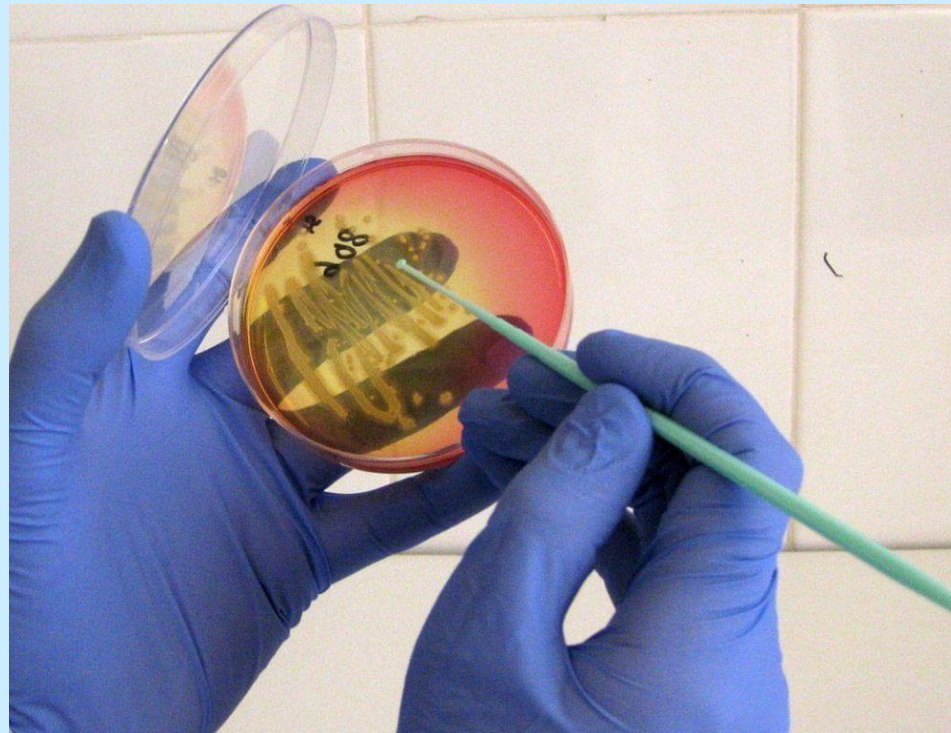
Актуальность

Среди большого количества условно-патогенных возбудителей лидируют кокки, к которым относятся и стафилококки. Стафилококки – уникальные микроорганизмы: они могут вызывать более 100 различных заболеваний, поражать любую ткань, любой орган, начиная от заболеваний кожи и подкожной клетчатки до тяжелейшего сепсиса (заражения крови), в том числе у новорожденных.



Цель работы

Изучение методов микробиологической диагностики стафилококковой инфекции в лаборатории клинической микробиологии ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского».



Задачи

- изучить учебно-методическую литературу, касающуюся как самого заболевания, так и его диагностики;
- оценить методы микробиологической диагностики стафилококковой инфекции, используемые в лаборатории клинической микробиологии ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского»;
- проанализировать статистические данные высеваемости патогенных стафилококков в ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского» за 2018-2020 гг.

Объект исследования: стафилококковая инфекция.

Предмет исследования: сравнение методов микробиологической диагностики стафилококковой инфекции.

Материалом исследования послужили годовые отчеты и лабораторные журналы о высеваемости патогенных стафилококков за 2018-2020 года, предоставленные ЛКМ ОГБУЗ «Старосокльская окружная больница святителя Луки Крымского».

Методы исследования:

- научно-теоретический анализ литературы;
- сравнение методов лабораторной диагностики стафилококковой инфекции;
- анализ статистических данных по данной проблеме.

Стафилококковая инфекция

Это сложный патологический процесс взаимодействия стафилококка и организма человека с широким диапазоном проявлений – от бессимптомного носительства до тяжелой интоксикации и развития гнойно-воспалительных очагов.



Лабораторная диагностика



стафилококковой инфекции

Микроскопический метод

Микроскопический метод имеет самостоятельное значение лишь при асептической работе с материалами, которые у здорового человека стерильны (например, кровь, спинномозговая жидкость). Обнаружение стафилококков при этом имеет самостоятельное диагностическое значение. В остальных случаях микроскопический метод применяется как предварительный, ориентировочный.



Биологический метод

Принцип его сводится к скармливанию остатков пищи, подозрительной на инфицированность стафилококком, выделенной культуры, промывных вод. Лучшей биологической моделью при этом являются 1,5-2-месячные котята (для исследования культуры) и взрослые кошки (при выявлении энтеротоксина). При капельных стафилококковых инфекции их этот метод не применяется.



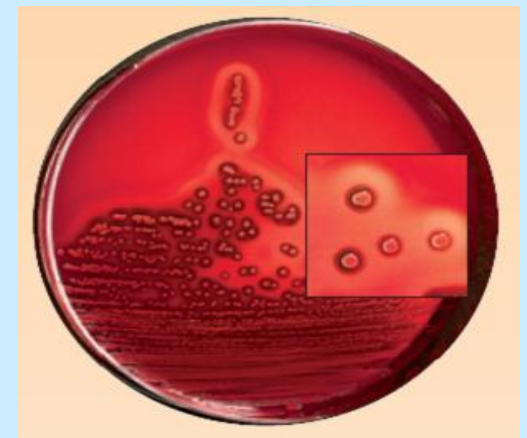
Бактериологический метод

Первый день исследования. Биоматериал засевают на ЖСА (желточно-солевой агар), МСА (молочно-солевой агар) и кровяной агар. Ставят в термостат при 37С на 24 часа.



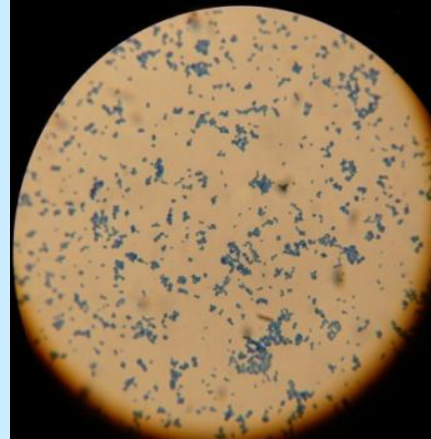
Второй день исследования. Изучение культуральных свойств:

- на желточно-солевом агаре патогенные стафилококки - вокруг колонии образуется помутнение в виде радужного (перламутрового) венчика, так как лецитовителиза стафилококка расщепляет лецитин питательной среды;
- на молочно-солевом агаре — колонии по цвету желтые, лимонно-желтые или белые;
- на кровяном агаре зоны гемолиза.



Третий день исследования:

1. Определяют чистоту выделенной культуры – окрашивают препарат по Граму:

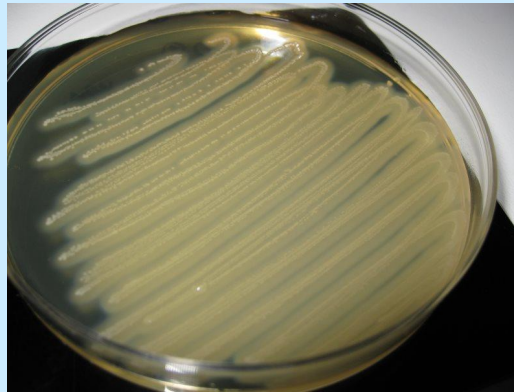


2. Определяют патогенные свойства:

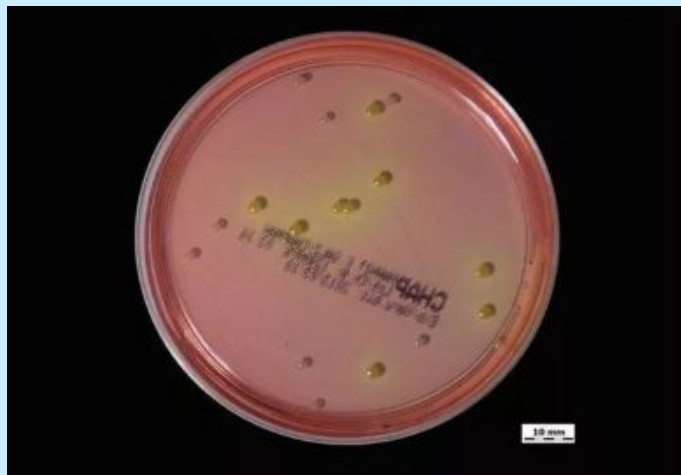
а) с чистой культуры ставят реакцию плазмокоагуляции.



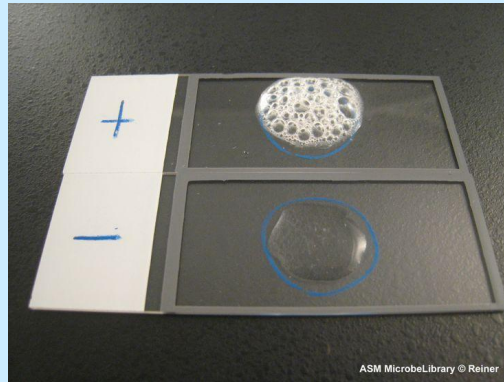
б) посев на желточно-солевом агаре – учет лецитиназной активности (перламутрового венчика):



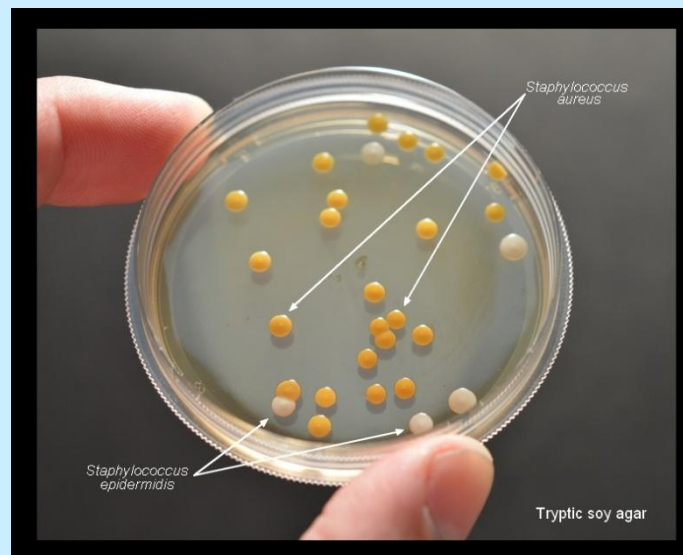
в) посев на мясопептонном агаре с 1 % маннитом. При положительном результате реакции наблюдается пожелтение среды вокруг бляшки, если же окрашена сама бляшка, то результат реакции отрицательный



г) определение каталазы: на предметное стекло наносят каплю 3% перекиси водорода и растирают в ней выделенную культуру. В случае положительной реакции образуются пузыри, исчезающие в течение минуты:



д) определение фосфатазной активности. Появление интенсивного желтого окрашивания вокруг посевов регистрируется как положительная реакция:



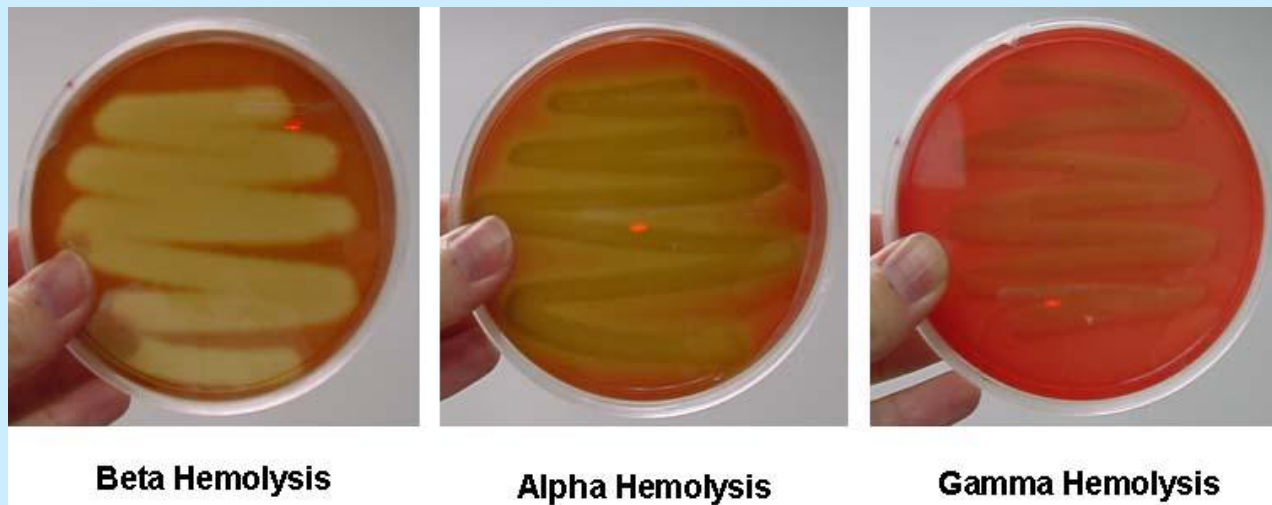
е) Определение ДНКазной активности.

При оценке реакции на ДНКазу возможны следующие варианты:

- наличие четкой зоны просветления среды - положительная реакция;
- полное отсутствие зоны просветления – отрицательная реакция.



ж) посев на кровяном агаре – для выявления гемолитических свойств

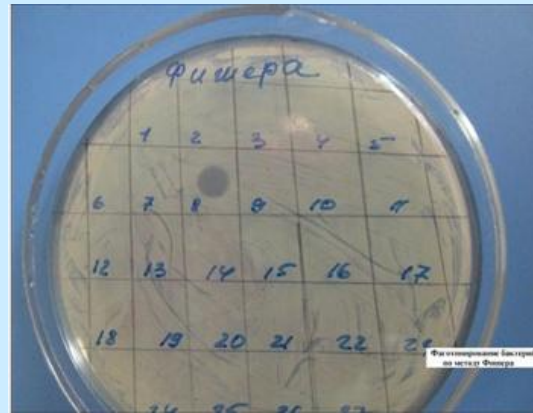


Beta Hemolysis

Alpha Hemolysis

Gamma Hemolysis

3. Фаготипирование – для выявления источника инфекции.



4. Посев культуры на МПА – для определения культуральных свойств.

5. Посев культуры стафилококка сплошным газоном для определения чувствительности к антибиотикам.

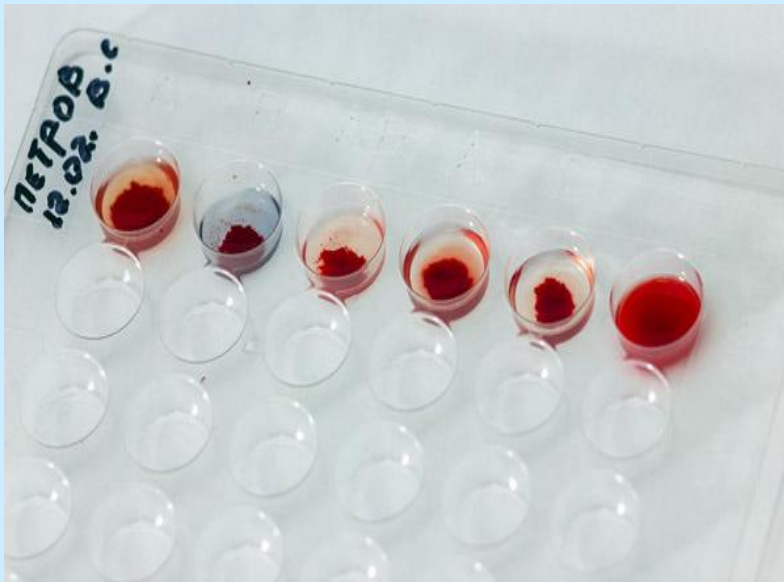


Четвертый день исследования. Производят учет результатов и идентификация выделенной культуры:

1. Реакция плазмокоагуляции – положительна.
2. На желточно-солевом агаре – перламутровый венчик вокруг колонии.
3. Расщепление маннита в анаэробных условиях (изменение цвета среды).
4. Определение каталазы – в случае положительной реакции образуются пузыри, исчезающие в течение минуты.
5. Определение фосфатазной активности – появление интенсивного желтого окрашивания вокруг посевов.
6. Определение ДНКазной активности – наличие четкой зоны просветления среды.
7. На кровяном агаре вокруг колонии зона гемолиза;
8. Лизис бактерий в соответствующем квадрате с фагом;
9. Диффузное помутнение на мясопептонном бульоне;
10. Определение зоны задержки роста – учет чувствительности к антибиотикам.

Серологические методы

Второе место по значимости занимают серологические методы, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. К таким методам можно отнести: реакцию пассивной гемагглютинации (РПГА) и иммуноферментный анализ (ИФА).



Экспресс-диагностика стафилококков

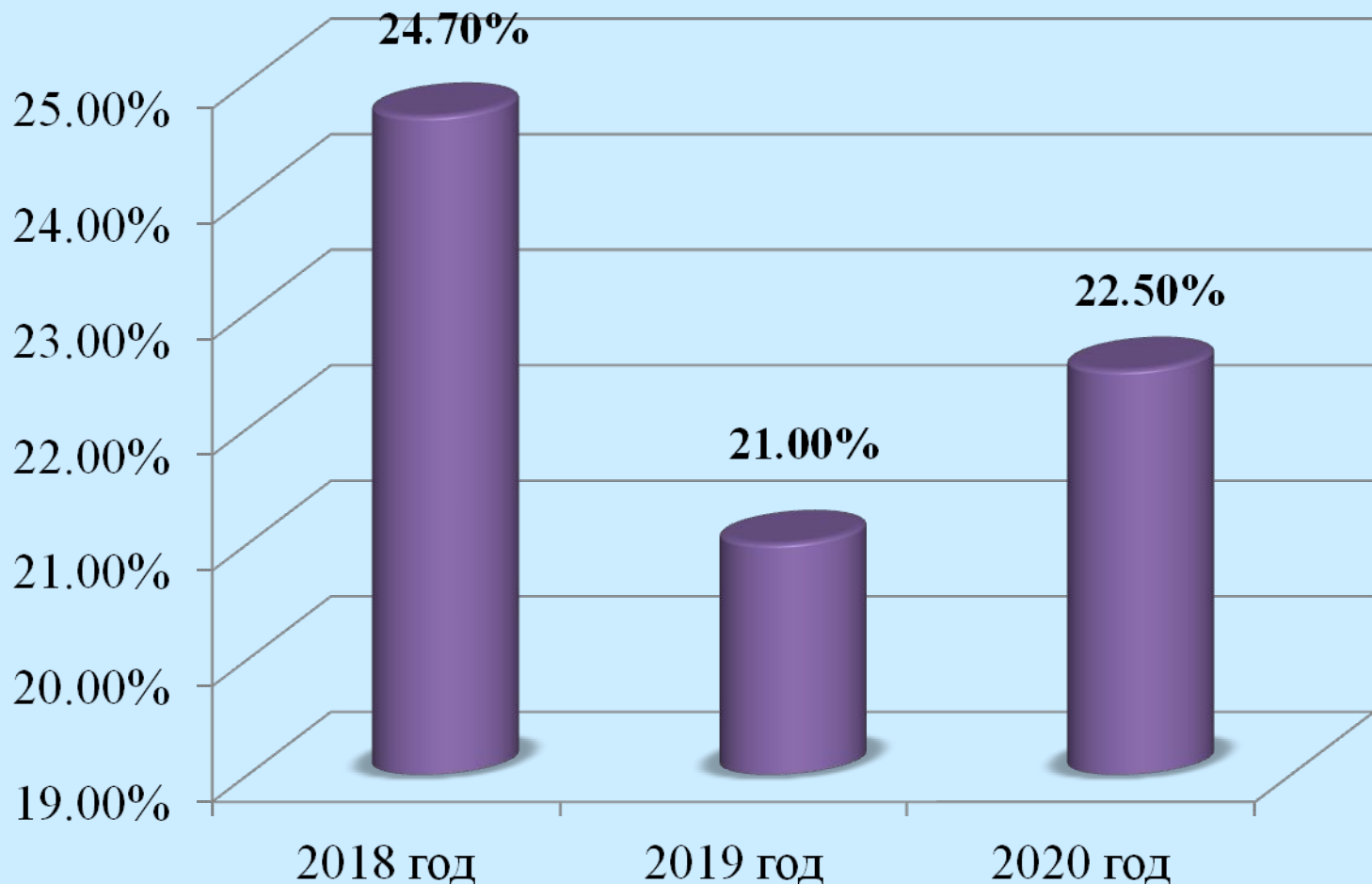
Наряду с рассмотренными методами особое значение приобретают методы экспресс-диагностики, которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени. К числу экспресс-методов можно отнести Микро-Ла-тест.



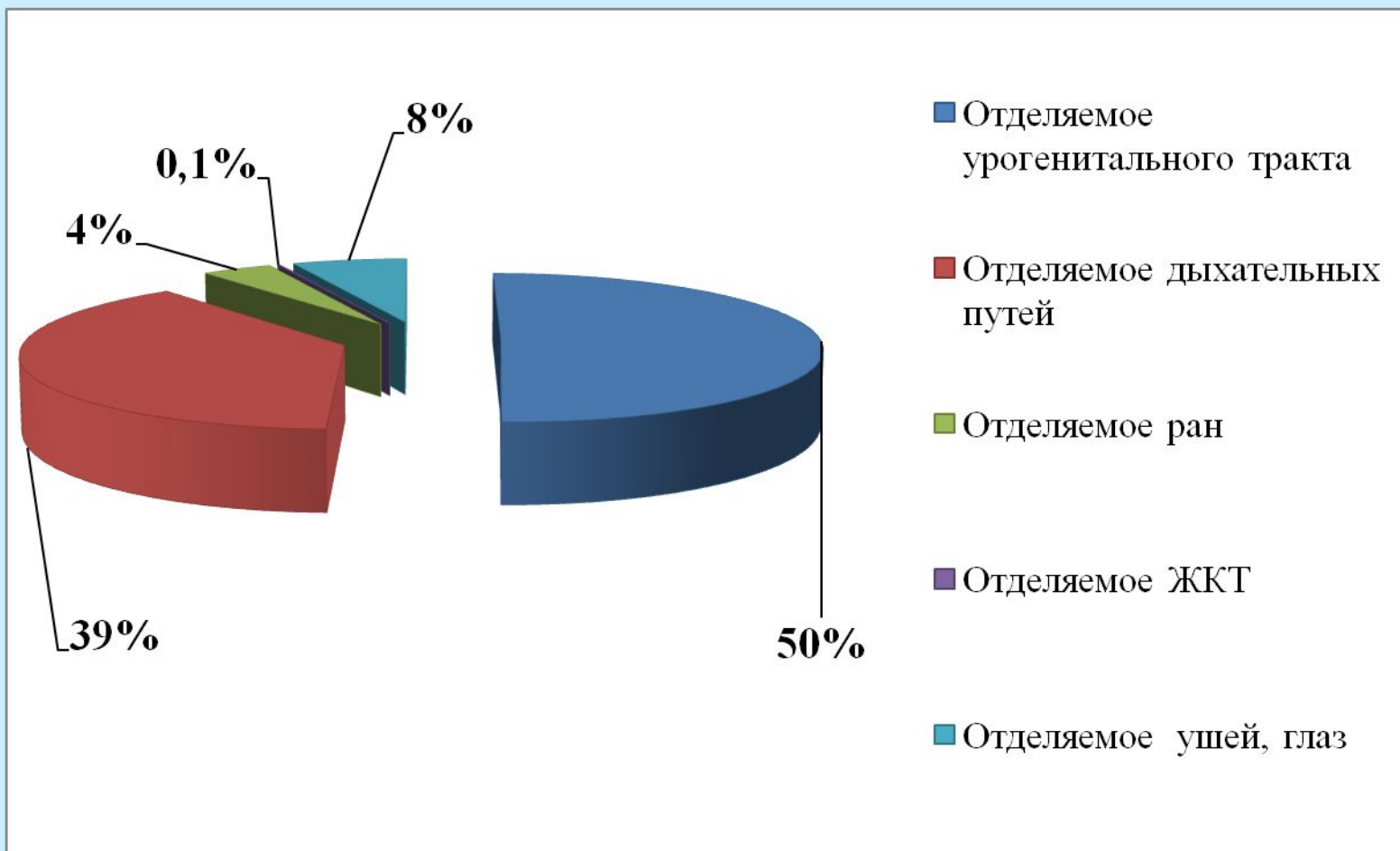
Количество проб биоматериала доставляемого из отделений города Старый Оскол

Название	2016 год	2017 год	2018 год
Женская консультация	577 проб	1050 проб	1367 проб
Гинекологическое отделение	533 пробы	516 проб	503 пробы
Отделение новорожденных	174 пробы	228 проб	176 проб
Отделение патологии новорожденных	354 пробы	223 пробы	282 пробы
Детская поликлиника	543 пробы	532 пробы	503 пробы
Взрослая поликлиника	113 проб	42 пробы	19 проб
Детское инфекционное отделение	348 проб	330 проб	355 проб
ЛОП отделение	109 проб	100 проб	98 проб
Детское соматическое отделение	341 проба	368 проб	513 проб
Детское хирургическое отделение	125проб	93 пробы	121 проба
Детское травматологическое отделение	4 пробы	1 проба	9 проб
Взрослое хирургическое отделение	32 пробы	15 проб	18 проб
Взрослое травматологическое отделение	22 пробы	25 проб	35 проб
Отделение реанимации и терапии	137 проб	81 проба	69 проб
Отделение патологии беременных	534 пробы	670 проб	815 проб
Урологическое отделение	35 проб	63 пробы	20 проб
Неврологическое отделение	2 пробы	5 проб	8 проб
Кардиологическое отделение	2 пробы	2 пробы	2 пробы
Гастроэнтерологическое отделение	2 пробы	2 пробы	7 проб
Травмпункт	1 проба	4 пробы	3 пробы

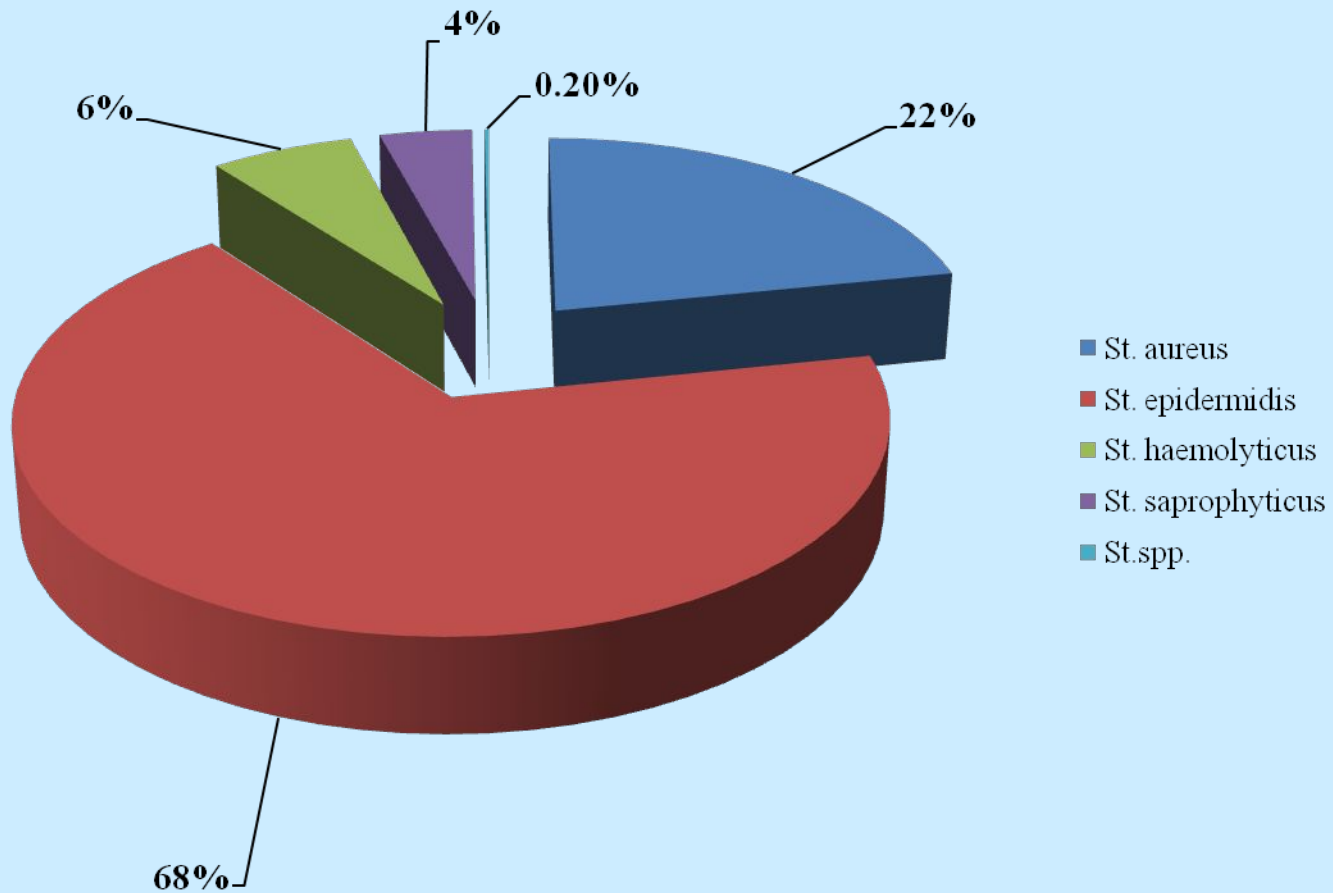
Частота высеваемости *Staphylococcus* из общего числа проб доставленных в ЛКМ ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского» в 2018-2020 гг



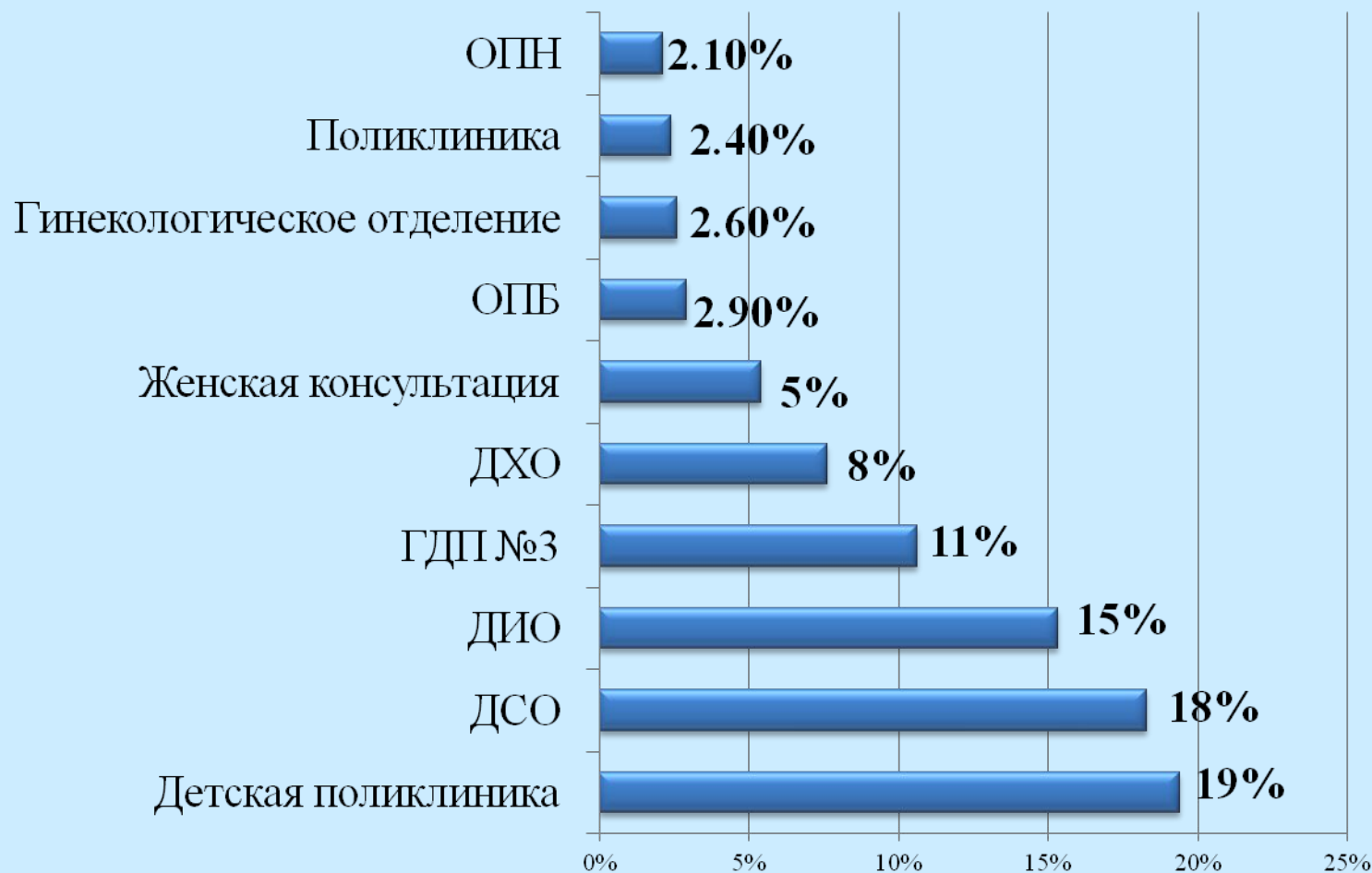
Частота высеваемости *Staphylococcus* из различного клинического материала в 2020 году



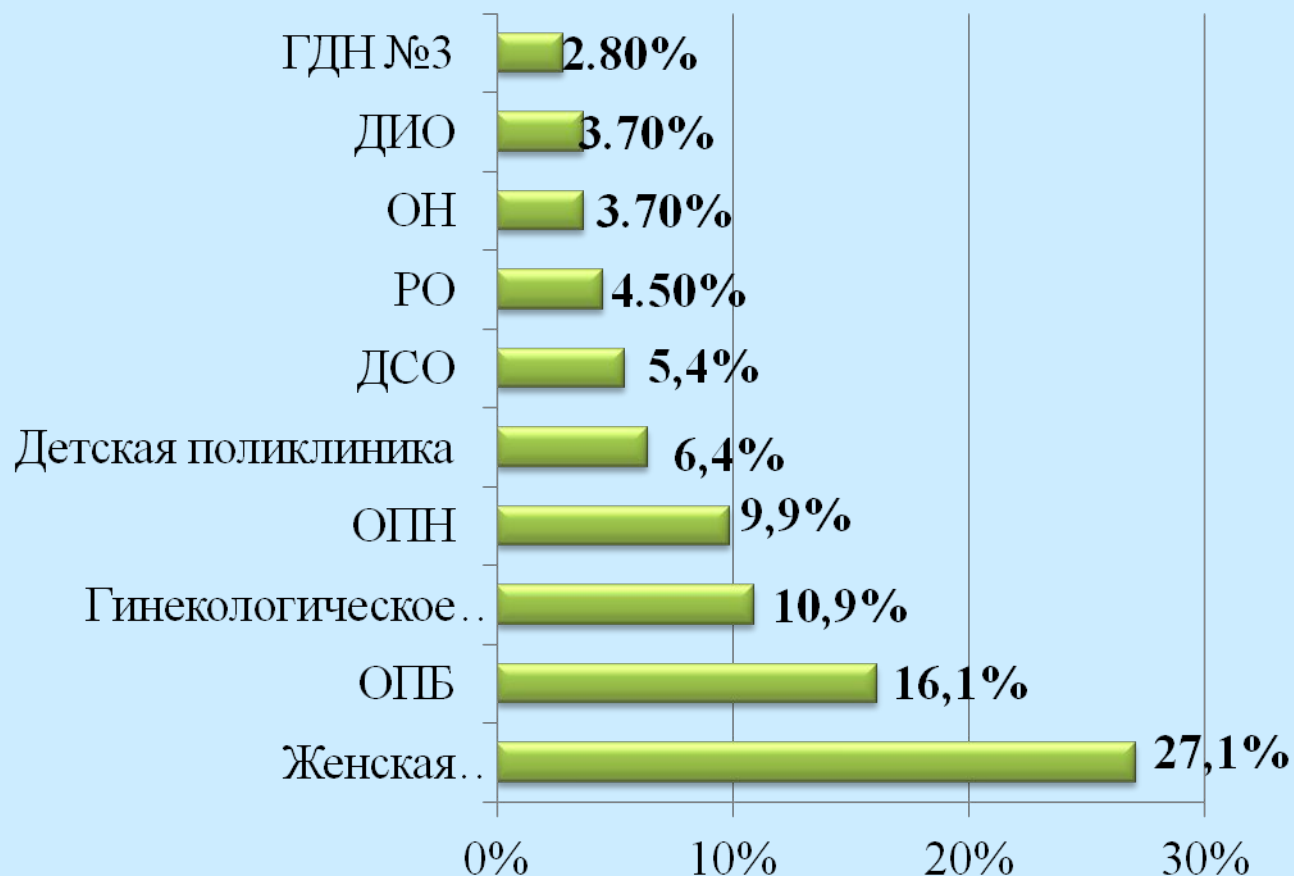
Видовой состав Staphylococcus



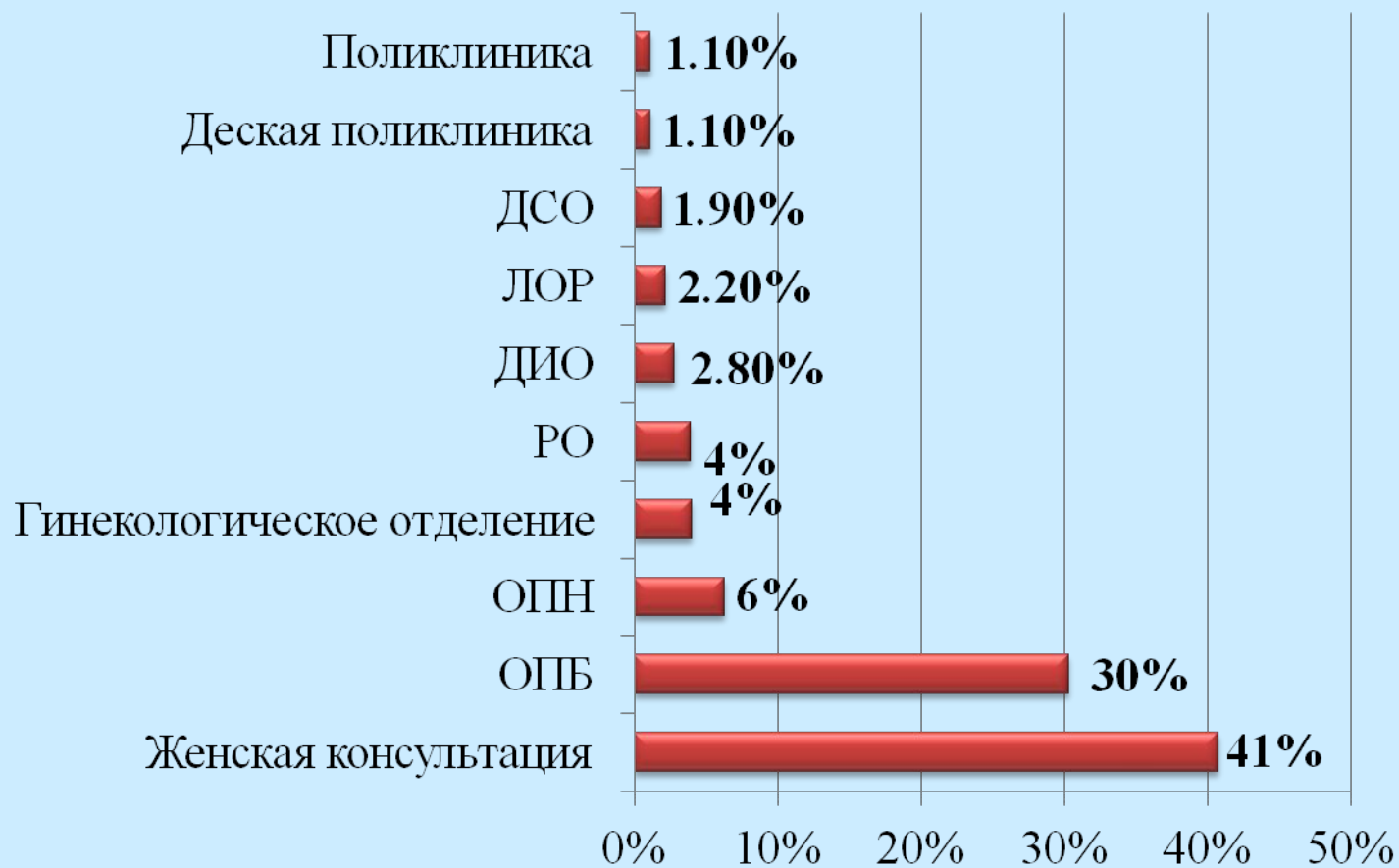
Высеваемость *St. aureus* по отделениям ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского»



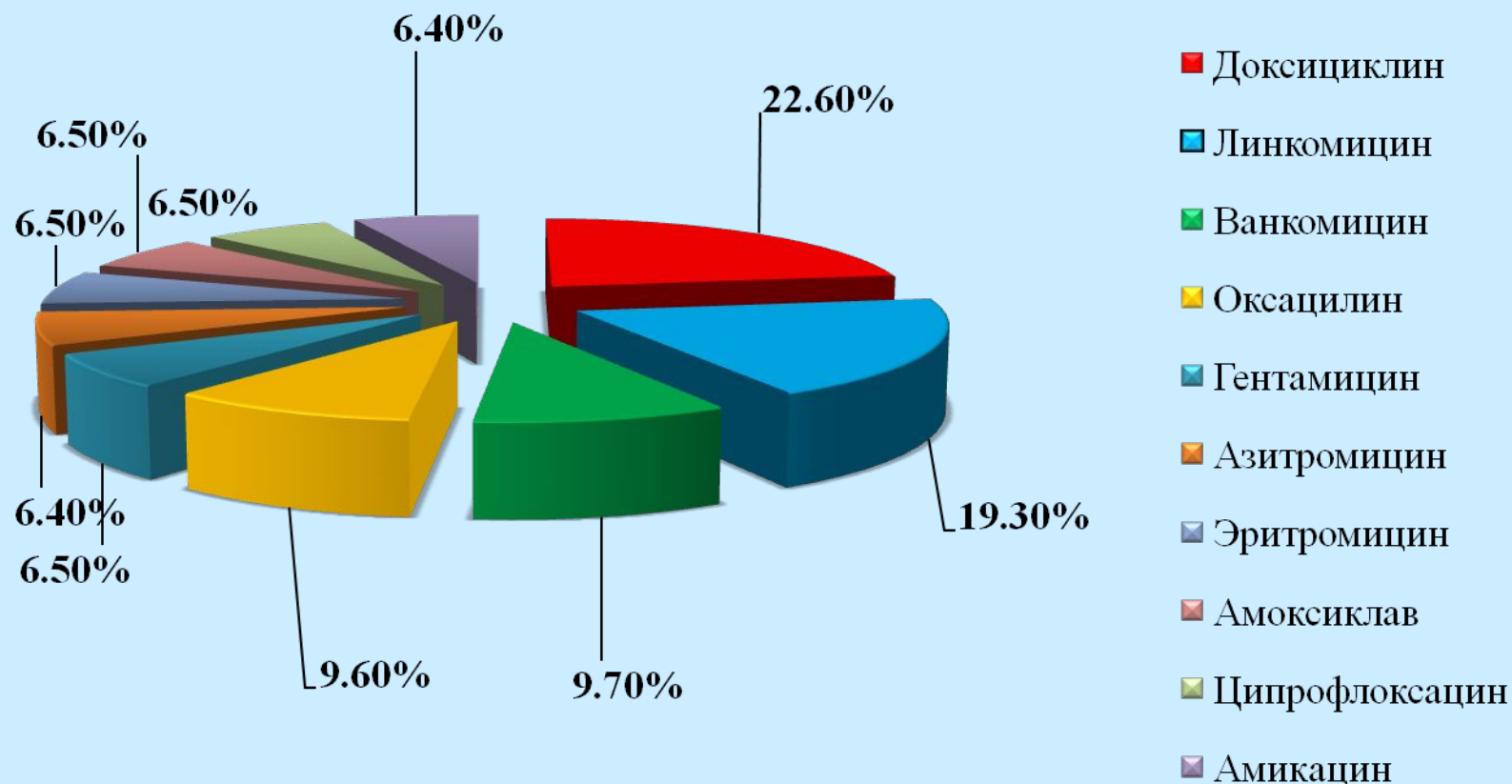
Высеваемость *St. epidermidis* по отделениям ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского»



Высеваемость *St. haemolyticus* по отделениям ОГБУЗ «Старооскольская окружная больница святителя Луки Крымского»



Чувствительность микроорганизмов рода *Staphylococcus aureus* к антибактериальным препаратам



Выводы

На основе анализа исследовательской работы можно сделать следующие выводы:

1. Основное место в диагностике стафилококковой инфекции в настоящее время занимает микробиологическая диагностика возбудителя.

2. Наиболее эффективным методом в диагностике стафилококковой инфекции является бактериологический метод (посев на дифференциальные питательные среды).

3. Частота высеваемости патогенных стафилококков из биологического материала остается на стабильном высоком уровне – 21,0-24,7%.

Заключение

Рассмотрев все методы лабораторной диагностики стафилококковой инфекции можно сделать вывод, что их диагностическая ценность неравнозначна. Ведущим методом микробиологической диагностики является бактериологический метод, который используют почти при всех заболеваниях, несмотря на его недостатки: длительность исследования (от 4-5 дней), опасность (так как накапливается чистая культура возбудителя), сравнительную дороговизну.

Второе место по значимости занимает серологический метод, поскольку взаимодействие антигена и антитела характеризуется высокой степенью специфичности. Недостатком метода является и то, что с его помощью нельзя точно идентифицировать возбудителя и определить его антибиотикограмму. Но в то же время это совершенно безопасный, относительно недорогой метод, позволяющий за короткое время поставить диагноз.

Биологический метод неэкономичен, негуманен, поэтому находит ограниченное применение.

Достоинствами микроскопического метода являются простота, быстрота, экономичность. Однако он находит ограниченное применение, так как может быть использован лишь при наличии каких-либо морфологических или тинкториальных особенностей возбудителя и достаточном его содержании в исследуемом материале. Данный метод является ориентировочным.

Наряду с рассмотренными методами особое значение приобретают методы экспресс-диагностики, которые позволяют поставить микробиологический диагноз в течение короткого промежутка времени с момента доставки исследуемого материала в лабораторию. К числу экспресс-метода можно отнести Микро-Ла-тест.

Информационные ресурсы

1. Аكوпова, И.С. Видовой состав стафилококковой микрофлоры / И.С. Аكوпова, И.А. Новицкий, О.В. Перьянова. – СПб.: Аура, 2016. – 121с.
2. Бондаренко, В.М. Общий анализ представлений о патогенных и условно патогенных бактериях / В.М. Бондаренко // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – М., 2015. – № 4. – С.20-26.
3. Волков, И.И. Совершенствование микробиологической диагностики стафилококковых инфекций и экологические аспекты, их возбудителей /И.И. Волков. – СПб.: Эко-Мед, 2016. – 130с.
4. Гончарова, Г.И. Стафилококки / Г.И. Гончарова, В.Г. Дорофейчук, А.В. Смоленская. – М.: Микрос, 2015. – 466с.
5. Дерябин, Д.Г. Стафилококки: экология и патогенность / Д.Г. Дерябин. – Екатеринбург: УРО РАН, 2015. – 238с.
6. Дехнич, А.В. *Staphylococcus aureus* / А.В. Дехнич. – Смоленск: Профмед, 2014. – 122с.
7. Касымов, К.Т. Патогенные стафилококки / К.Т. Касымов. – М.: Лабораторное дело, 2016. – 303с.
8. Красильников, А.П. Устойчивость к антисептикам клинических штаммов *Staphylococcus* / А.П. Красильников, А.А. Адарченко, О.П. Собешук // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2014.– №7. – С.30-36.
9. Областной доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Белгородской области в 2019 году». – Белгород, 2020. – 255с.

Спасибо за внимание!