МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ СТАФИЛОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Киев — 1979

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УССР

Утверждены бюро Президиума
УМС МЗ УССР
15.05. 1979 г.
Протокол № 12

411555

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ СТАФИЛОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Киев — 1979

Б-35239 и в.
616.981.25

Настоящие методические рекомендации являются переработанным и дополненным вариантом методического письма «Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций», утвержденного Управлением НИИ и координации научных исследований МЗ УССР 29.04.1971 г. Их повторное издание вызвано существенными изменениями в таксономии, оценке патогенных свойств различных видов стафилококков, методах лабораторной диагностики. Методические рекомендации дополнены разделом «Основные направления профилактики стафилококковых инфекций». Предназначены для бактериологов СЭС, дезинфекционных станций и лечебных учреждений, санитарных врачей, эпидемиологов, инфекционистов, педиатров, врачей отделений хирургического профиля, реанимации и интенсивной терапии, родовспомогательных учреждений.

Методические рекомендации составили — доктор медицинских наук *В. А. Знаменский*, кандидат медицинских наук *Н. В. Дегтяр, С. Н. Кузьминский* (Киевский институт усовершенствования врачей), *А. М. Меренкова* (МЗ УССР), кандидаты медицинских наук *К. В. Ященко, Л. С. Красюк, В. З. Чуднер* (Киевский НИИ эпидемиологии, микробиологии и паразитологии).

Ответственный за издание методических рекомендаций — ректор Киевского государственного института усовершенствования врачей, доктор медицинских наук, профессор *М. Н. Умовист*.

Республіканська
наукова медична
БІБЛІОТЕКА
МОЗ УРСР

I. ВВЕДЕНИЕ

Стафилококковые инфекции до настоящего времени остаются острой проблемой здравоохранения, отличаясь тяжестью, упорством течения и разнообразием клинических проявлений. Наибольшую озабоченность у медицинских работников вызывают внутрибольничные групповые заболевания стафилококковой этиологии, в основном, возникающие в родильных домах, отделениях хирургического профиля, в палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии, детских стационарах.

В патологии детского возраста вторичная стафилококковая инфекция приобрела особое значение и часто определяет исход основного заболевания.

Пристального внимания требует также профилактика пищевых отравлений стафилококковой природы.

Трудности профилактики и лечения стафилококковых заболеваний обусловлены широкой циркуляцией антибиотикорезистентных штаммов, чему способствуют злоупотребления в применении антибиотиков.

Целенаправленность и эффективность профилактических и лечебных мероприятий в значительной степени определяются качеством микробиологических исследований, правильной оценкой их результатов. В предыдущем методическом письме «Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций» (Киев, 1971) даны детальная характеристика Staphylococcus aureus, методы его выделения, идентификации, изучения факторов патогенности. Между тем, в настоящее время существенно изменились представления о таксономии микроорганизмов рода стафилококков. Доказана этиологическая роль при некоторых патологических состояниях коагулазонегативных видов стафилококков, считавшихся ранее непатогенными, к которым отнесен, кроме общеизвестного S. epidermidis, также S. saprophyticus. В связи с этим возникла необходимость отразить некоторые вопросы таксономии и дать биологическую характери-

стику стафилококков на современном уровне с вытекающими приемами их идентификации.

При этом опущены некоторые свойства золотистого стафилококка, в частности, не приводится характеристика продуцируемых им токсинов и ферментов, а также методики их определения, которые не используются в повседневной диагностической работе и изложены в вышеуказанном методическом письме, других инструктивно-методических и литературных материалах. Не повторяются также методики подготовки материалов для исследования.

Методы определения чувствительности возбудителей к химиотерапевтическим препаратам унифицированы приказом МЗ СССР № 250 от 13 марта 1975 года.

Современная классификация стафилококков потребовала изменения схемы идентификации возбудителей, в частности, разработки методики дифференциации S. epidermidis и S. saprophyticus, приемлемой для условий практических лабораторий. Эти вопросы еще не получили достаточного освещения в литературе, совершенно отсутствуют инструктивно-методические материалы такого характера. Авторы настоящих методических рекомендаций, проанализировав отечественную и зарубежную литературу и опираясь на собственный опыт, предлагают схему видовой идентификации стафилококков, рассчитанную на врачей-бактериологов СЭС и больниц.

Следует также отметить, что стафилококки подвержены широкой изменчивости, в связи с чем при их идентификации в практических лабораториях могут встречаться отдельные штаммы, вызывающие затруднения. Эти штаммы нуждаются в исследовании с использованием более сложных методик в специализированных лабораториях. Широкое применение предлагаемой схемы идентификации позволит накопить необходимый материал для последующего анализа и совершенствования методов лабораторной диагностики стафилококковых инфекций.

Различные виды стафилококков отличаются по своим патогенным свойствам и эпидемиологической значимости. Поэтому объем лабораторной работы по видовой идентификации стафилококков должен определяться целями исследования, характером обследуемого контингента и объектов, эпидемической ситуацией. В одних случаях принимается во внимание только S. aureus, в других — требуется проведение исследований на все виды стафилококков. Следует учитывать, что коагулазоотрицательные стафилококки являются нормальными обитателями кожных покровов, слизистых оболочек и лишь в особых

условиях могут вызывать патологию, осложняя эпидемическую обстановку.

В настоящих методических рекомендациях также изложены основные направления профилактики стафилококковых инфекций, вытекающие из требований приказа МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 г. «Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилении мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией», опыта работы группы профилактики стафилококковых инфекций Киевского НИИ эпидемиологии, микробиологии и паразитологии. Анализ эпидемиологических материалов последних лет позволяет прийти к заключению, что наиболее перспективным в борьбе со стафилококковыми инфекциями является комплексный подход, включающий современную качественную диагностику и проведение всех профилактических и противоэпидемических мероприятий с упором на разрыв механизма передачи инфекции.

Ряд частных вопросов профилактики стафилококковых инфекций можно найти в других инструктивно-методических материалах, ссылки на которые приводятся в тексте.

2. ТАКСОНОМИЯ И КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА STAPHYLOCOCCUS

2.1. Согласно современной классификации (Baird-Parker., в «Определителе» Берджи, 8-е издание, 1974; Рекомендации Международного Подкомитета по таксономии стафилококков и микрококков, 1976) род стафилококков относится к семейству Micrococcaceae, включающему также роды Micrococcus и Planococcus. Микроорганизмы последних двух родов в настоящее время признаются непатогенными.

Для всех представителей семейства Micrococcaceae характерны следующие признаки: форма клеток сферическая, 0,5—3,5 мкм в диаметре, в зависимости от плоскости деления и характера среды образуют различного рода скопления или правильные пакеты, спор не образуют, по Граму окрашиваются положительно, неподвижные или подвижные, хемогетеротрофы, аэробы или факультативные анаэробы, интенсивно продуцируют фермент каталазу (дифференциальный тест в отношении представителей семейства Streptococcaceae, в частности микроорганизмов рода Aerococcus, которые по некоторым свойствам могут напоминать стафилококки), глюкозу расщепляют до кислоты без газа, растут в присутствии 5% NaCl (многие представители размножаются при наличии в среде 10—15% NaCl), процент ГЦ пар (гуанин-цитозин) в ДНК в пределах 30—75.

2.2. Наибольшее сходство со стафилококками имеют микроорганизмы рода Micrococcus. Клетки микрококков обычно неподвижные, размером 0,5—3,5 мкм, морфологически в некоторых случаях трудно отличимы от стафилококков, колонии наряду с белой могут иметь желтую или розовую окраску, растут в присутствии 5—7,5% NaCl. В отличие от стафилококков являются строгими аэробами, глюкозу в анаэробных условиях не расщепляют. Не лизируются лизостафин эндопептидазой (1 ед/мл), чувствительны к лизоциму (100 мкг/мл). Некоторые виды микрококков резистентны к новобиоцину (МИК> >2 мкг/мл). Фосфатазой подавляющее большинство предста-

вителей не обладает. Аргинин обычно не гидролизуют. Ацетоин не образуют (реакция Фогес—Проскауэра отрицательная). Оптимальная температура роста 25—30°С. Существенно отличаются от стафилококков по нуклеотидному составу ДНК — процент ГЦ пар 66—75 (у стафилококков — 30—40). Микрококки обычно обнаруживаются на коже и слизистых оболочках здоровых людей и животных, в пыли, морской и речной воде, пищевых продуктах, особенно содержащих соль.

2.3. Род Planococcus представляет меньший интерес с точки зрения дифференциации со стафилококками ввиду четкого отличия морфологических и биохимических свойств. Эти микроорганизмы подвижны, клетки в препарате располагаются одиночно, парами, но особенно характерны тетрады. Строгие аэробы. Обычно планококки выделяются из морской воды.

2.4. Род Staphylococcus включает три вида S. aureus, S. epidermidis и S. saprophyticus. Клетки стафилококков неподвижны, диаметр их 0,5—1,5 мкм, по Граму окрашиваются положительно. Некоторые авторы указывают на способность стафилококков образовывать микрокапсулу. В препарате могут располагаться одиночно, парами, мелкими скоплениями, но наиболее характерен вид гроздьев винограда. Клеточная стенка стафилококков в отличие от микрококков содержит пептидогликан в ассоциации с рибитол- или глицерол-тейхоевыми кислотами.

Стафилококки являются факультативными анаэробами, чем отличаются от микрококков и планококков. Метаболизм осуществляется путем окисления (в аэробных условиях) и ферментации (в анаэробных условиях). Хорошо растут на простых питательных средах, оптимальный pH 7,0—7,5 (рост возможен в диапазоне pH 4,2—9,3). Температурный оптимум 35—40°С, но размножение культуры возможно в пределах 6,5—46°С. Большинство представителей способно расти на питательных средах, содержащих высокие концентрации хлористого натрия (10—15%) и желчи (40%). На плотных питательных средах колонии стафилококков средних размеров, непрозрачные, круглые, выпуклые, блестящие. Могут иметь золотистую, белую, желтую или кремовую окраску. Пигментообразование не имеет диагностического значения и может варьировать даже внутри одного штамма. На питательном бульоне рост в виде равномерного помутнения, затем образуется рыхлый осадок. Стафилококки образуют кислоту из многих углеводов. В числе исключений следует отметить арабинозу, которая окисляется лишь одним биоваром сапрофитического стафилококка. Стафилококки, как правило, дают положительную реакцию Фогес-Проскауэ-

ра (кроме одного биовара S. epidermidis). Характерной особенностью стафилококков, в отличие от микрококков и планококков, является способность в различной степени анаэробно ферментировать глюкозу (АФГ).

Некоторые исследователи в качестве родового теста предлагают использовать способность стафилококков окислять глицерин (Schleifer, Kloos, 1976). Многие стафилококки продуцируют фосфатазу, что используется для видовой дифференциации и типирования возбудителей. Стафилококки обладают нитратредуктазой (восстанавливают нитраты в нитриты), а S. epidermidis и особенно часто S. saprophyticus могут восстанавливать нитраты до аммония. Большинство стафилококков имеет аргининдигидролазу, которая менее характерна для S. saprophyticus.

Клетки стафилококков лизируются лизостафин эндопептидазой (1 ед/мл), резистентны к лизоциму (100 мкг/мл), чувствительны к новобиоцину (МИК<0,6 мкг/мл), за исключением S. saprophyticus. Процент ГЦ пар у стафилококков самый низкий среди всех представителей семейства Micrococcaceae (30—40). Стафилококки продуцируют экстрацеллюлярные токсины и ферменты.

2.4.1. S. aureus имеет основное значение в патологии человека. Кроме перечисленных общеродовых свойств, для него характерен ряд видовых особенностей, из которых основными можно считать следующие. Особое строение имеет клеточная стенка. Наиболее поверхностно расположен протеин А, обладающий своеобразной способностью реагировать с нормальной человеческой сывороткой и нормальным гамма-глобулином (в реакциях агглютинации и приципитации). К поверхностным структурам, характерным, главным образом, для золотистого стафилококка, относятся также хлопьеобразующий фактор (субстанция белковой природы), обусловливающий так называемую «реакцию плазмоагглютинации». Однако этот признак по специфичности уступает некоторым другим тестам, в частности реакции коагуляции плазмы (РКП). В отличие от S. epidermidis клеточная стенка золотистого стафилококка содержит рибитолтейхоевые кислоты (у первого — глицерол-тейхоевые кислоты), которые определяются в реакции преципитации. S. aureus наиболее приспособлен к росту в присутствии высоких концентраций NaCl (15%) и желчи (40%). Превосходит другие виды стафилококков по интенсивности ферментации глюкозы на стандартной среде с индикатором ВР. Анаэробная ферментация маннита (АФМ), которая широко учитывается в практической работе, является менее достоверным признаком

S. aureus, чем РКП. Во многих случаях ферментация маннита проявляется нечетко или наступает в поздние сроки (5—7 суток). Поэтому АФМ рекомендуется использовать лишь как один из дополнительных тестов при идентификации атипичных культур S. aureus. В процессе жизнедеятельности клетки S. aureus выделяют разнообразные биологически активные вещества (токсины, ферменты), которые могут играть определенную роль в проявлении патогенных свойств возбудителя: альфа-, бета-, гамма-, дельта-токсины, лейкоцидин, энтеротоксин, эксфолиативный токсин, летальный фактор, плазмокоагулаза, ДНК-аза, лецитовителлаза, гиалуронидаза и др. Определение всех вышеперечисленных факторов патогенности в повседневной диагностической практике не является обязательным и производится лишь при необходимости специального, более глубокого изучения выделенных культур. Наиболее точные результаты при идентификации S. aureus могут быть получены при комплексном использовании РКП и теста на ДНК-азу. Однако учитывая, что последний еще широко не используется в лабораторной практике, основным дифференциальным признаком S. aureus продолжает оставаться наличие плазмокоагулазы. Для идентификации атипичных коагулазоотрицательных культур в качестве дополнительных тестов следует применять АФМ и выявление лецитовителлазной активности. Следует учитывать, что каждый из этих тестов в отдельности, так же как и гемолитическая активность, не является надежным признаком, позволяющим отнести выделенную культуру к S. aureus. В настоящее время некоторые из этих тестов используются для биологического типирования золотистого стафилококка. Для типирования этого возбудителя существует также международный набор типовых стафилококковых бактериофагов.

2.4.2. S. epidermidis имеет ряд видовых особенностей: своеобразное строение клеточной стенки (отсутствие протеина А, наличие глицерола в соединении с тейхоевой кислотой), отсутствие коагулазы, ДНК-азы, альфа-токсина. S. epidermidis, как правило, не ферментирует, а подавляющее большинство госпитальных штаммов и не окисляет маннит. Анаэробные свойства выражены несколько слабее, чем у S. aureus, что иногда отражается на интенсивности ферментации глюкозы на среде с индикатором ВР. Колонии преимущественно белой или желтой окраски. На основании различий в окислении некоторых углеводов, фосфатазной активности и продукции ацетоина (реакция Фогес—Проскауэра) Baird—Parker (1974) выделил 4 биовара S. epidermidis, из которых основную роль в патологии человека играет биовар I, обладающий фосфатазой.

Биологические варианты S. epidermidis по Baird—Parker (1974).

Признаки	Биовары			
	1	2	3	4
Ацетоин	+	—	+	+
Фосфатаза	+	+	—	—
Кислота аэробно из:				
лактозы	+	±	—	±
мальтозы	+	—	+	+
маннита	—	—	—	+

Для биологического типирования штаммов S. epidermidis клинического происхождения более приемлема схема Акатова А. К. и Хатеневер М. Л. (1976). В литературе имеются сообщения о выявлении у S. epidermidis ряда токсико-ферментативных факторов которые, по-видимому, в определенных условиях могут определять его патогенные свойства. К ним относятся токсин, сходный с дельта-гемолизином (эпсилон-гемолизин), сукцинат-оксидазный фактор, проявляющий избирательную активность в отношении клеток печени, токсин разрушающий ткани глаза, ферменты липаза, эластаза и др. S. epidermidis относится к нормальной микрофлоре кожи и слизистых оболочек. В то же время, обладая условной патогенностью, может вызывать тяжелые заболевания и осложнения. Эпидермальный стафилококк считается одним из возбудителей раневой и гнойной инфекций, обусловливает, чаще всего, вторичную инфекцию мочевыводящих путей, особенно после инструментальных процедур, вызывает конъюнктивиты новорожденных, причем последние могут протекать по типу эпидемических вспышек и др. Наиболее тяжелой формой инфекции, вызываемой эпидермальным стафилококком, является послеоперационный эндокардит.

2.4.3. S. saprophyticus официально отнесен к роду стафилококков недавно (1976). Ранее он включался в род микрококков в связи с неспособностью к анаэробной ферментации глюкозы на стандартной среде, рекомендованной Международным Подкомитетом по таксономии стафилококков и микрококков (1965). Однако рядом исследователей было показано, что среди микрококков, делившихся на 8 биоферментативных групп, представители 4-х групп в определенных условиях ферментируют глюкозу. В дальнейшем у этих «микрококков» был исследо-

ван нуклеотидный состав ДНК (ГЦ — 30—37%), выявлена чувствительность к лизостафин эндопептидазе и определен ряд других свойств, характерных для рода стафилококков. Колонии сапрофитического стафилококка обычно белой окраски, но могут встречаться желтые, с оранжевым оттенком. По сравнению с другими видами стафилококков, S. saprophyticus несколько хуже переносит высокие концентрации NaCl, хороший рост наблюдается при концентрации соли в среде не более 5%. Способность расти в анаэробных условиях выражена слабо. В отличие от S. aureus и S. epidermidis ферментация глюкозы не выявляется в течение первых двух суток на стандартной среде с индикатором BP (которая наиболее соответствует стандартной среде Международного Подкомитета). Более чувствительной средой для этой цели является среда Хью-Лейфсона. Редко встречающиеся культуры S. saprophyticus, которые дают сомнительную ферментацию глюкозы на указанной среде, можно дифференцировать от микрококков по реакции Фогес—Проскауэра, которая у сапрофитических стафилококков положительна. В отличие от эпидермального стафилококка, большинство госпитальных штаммов окисляет маннит, хотя могут встречаться и маннитнегативные варианты. Характерным для сапрофитического стафилококка является отсутствие фосфатазы. S. saprophyticus считается резистентным к новобиоцину (МИК>2,0 мкг/мл). Широко распространен на коже и слизистых оболочках здоровых людей. По отношению к различным углеводам Baird—Parker (1974) разделил S. saprophyticus на 4 биовара. Показана этиологическая роль сапрофитического стафилококка при воспалительных заболеваниях мочевыводящих путей, вместе с тем не исключено, что S. saprophyticus может вызывать и другие формы патологии.

3. ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

3.1. Определение целей и задач исследования.

Лабораторные исследования с целью выявления и идентификации стафилококков производятся:

— при диагностике заболеваний;

— при плановых профилактических обследованиях

а) на бактерионосительство,

б) при исследовании объектов внешней среды (санитарно-бактериологический контроль);

— по эпидемическим показаниям

а) на бактерионосительство,

б) при исследовании объектов внешней среды.

В настоящее время имеются основания при определенных показаниях проводить исследование не только на S. aureus, но и на коагулазоотрицательные виды стафилококков.

При диагностике заболеваний исследование должно быть направлено на выявление всех видов стафилококков.

При плановых профилактических обследованиях определенных контингентов (работники отделений хирургического профиля, родовспомагательных учреждений, палат и отделений реанимации и интенсивной терапии, работники предприятий общественного питания и др.) устанавливается наличие только S. aureus (порядок обследования на носительство и методы санитарно-бактериологического контроля на наличие золотистого стафилококка изложены в ряде действующих инструктивно-методических материалов [1,2,3].

По эпидемическим показаниям обследование на носительство и исследование объектов внешней среды проводится, главным образом, на S. aureus. Лишь в отдельных случаях, когда имеет место распространение инфекций, вызываемых коагулазоотрицательными видами стафилококков, при бактериологическом контроле санитарно-гигиенического режима в родовспомогательных учреждениях, отделениях хирургического профиля, палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии наряду с S. aureus следует учитывать также и другие виды стафилококков.

3.2. **Материал для исследования.**

При диагностике заболеваний исследуют: кровь, экссудаты, спинномозговую жидкость, гной, слизь из носа и зева, мокроту, мочу, испражнения, рвотные массы и промывные воды желудка, желчь, секционный материал (паренхиматозные органы, кровь из сердца, лимфатические узлы, сосудистые тромбы, материал из очагов поражения).

При обследовании здоровых лиц с профилактической целью и по эпидемическим показаниям: слизь из носа и зева (по показаниям), смывы с рук, в некоторых случаях, испражнения.

При санитарно-бактериологических исследованиях с профилактической целью и по эпидемическим показаниям: воздух, смывы с инвентаря, предметов обихода, спецодежды, инстру-

---

[1] Приказ МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 года «Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилении мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией».

[2] «Инструкция о порядке расследования, учета и проведения лабораторного исследования в учреждениях санитарно-эпидемиологической службы при пищевых отравлениях», Москва, 1975.

[3] «Профилактика стафилококковых заболеваний у детей» (методическое письмо-рекомендации), Киев, 1975.

ментария, перевязочного материала и др., а также некоторые пищевые продукты.

Методики отбора проб и подготовки их к исследованию детально изложены в предыдущем методическом письме[4] и других инструктивно-методических материалах[1].

3.3. **Бактериоскопия нативного материала.**

Бактериоскопическому исследованию подлежат экссудаты, гной, спинномозговая жидкость и секционный материал. Приготовление препаратов для микроскопии и окраска их по Граму осуществляются по общепринятой методике. Первичная бактериоскопия позволяет составить представление о характере и количестве микрофлоры в исследуемом материале.

3.4. **Посев материала.**

Набор сред и методика посева определяются рядом положений.

а) Элективные солевые среды применяются при исследовании материалов, обсемененных посторонней микрофлорой (испражнения, слизь из носа и зева и т. п., а также объекты внешней среды).

б) Для выделения только S. aureus из вышеуказанных материалов используются элективные солевые среды обычного состава (желчно-солевой агар — ЖСА Г. Н. Чистовича, солевой бульон). При проведении исследований на все виды стафилококков применяются ЖСА и солевой бульон с пониженным содержанием хлористого натрия (конечная концентрация NaCl в среде — 5%).

в) При диагностическом исследовании материалов, содержащих смешанную микрофлору, среды накопления не применяются, так как необходимо дифференцировать наличие единичных клеток (случайная контаминация) и массивное обсеменение стафилококками, свидетельствующее об активном инфекционном процессе.

г) При исследовании на бактерионосительство среды накопления также не применяются. Посев производится только на плотную питательную среду, для определения массивности обсеменения верхних дыхательных путей стафилококками.

д) Среды накопления используются при исследовании патологических материалов из закрытых полостей, которые могут содержать незначительные количества стафилококков и при многих санитарно-бактериологических исследованиях.

3.4.1. Посев материала от больных.

а) Материалы, не содержащие посторонней микрофлоры.

---

[4] «Бактериологическая диагностика стафилококковых инфекций» (методическое письмо). Киев, 1971.

Кровь рекомендуется засевать непосредственно у постели больного. После взятия крови из вены игла со шприца снимается и через канюлю производится посев 5—10 мл крови на 50—100 мл сахарного бульона (при обследовании больного во время антибиотикотерапии количество сахарного бульона должно превышать объем засеваемой крови в 20—30 раз). Посевы инкубируют при 37°. Ежедневно в течение первых 3-х дней, а затем на 5 и 7-е сутки производится высев на чашку с кровяным агаром. Посевы на кровяном агаре инкубируют в термостате 18—24 часа. Отсутствие роста стафилококков при высеве из сахарного бульона на 7-е сутки инкубации позволяет выдать отрицательный ответ. Исследование крови дает лучшие результаты при использовании в качестве среды накопления полужидкой среды Китт—Тароцци. Для исключения возможного загрязнения посевов, особенно в случае выделения коагулазоотрицательных стафилококков или смешанных культур, рекомендуется произвести повторное исследование и установить идентичность первично и повторно выделенных культур путем их типирования. Известен также метод многопробных посевов по М. А. Раппопорт. Кровь берут в пробирку с раствором цитрата натрия и доставляют в лабораторию, где производят посев по 1 мл в 20 пробирок с сахарным бульоном. Опыт показывает, что количество засеваемых пробирок можно сократить, а посев производить по нескольку капель. Наличие роста в единичных пробирках или выделение неоднородной микрофлоры свидетельствует о загрязнении.

Экссудат, спинномозговую жидкость, гной из закрытых очагов засевают на чашки с кровяным агаром и пробирки с сахарным бульоном. Посевы инкубируют при 37° в течение 18 часов, затем производят высев из сахарного бульона на чашки с кровяным агаром, которые также выдерживают 18 часов при 37°.

б). Клинический материал, содержащий постороннюю микрофлору, засевают только на плотные питательные среды. Слизь из носа и зева засевается тампоном, а мокрота, гной, отделяемое из открытых воспалительных очагов — по 2—3 капли на чашки с ЖСА с пониженным содержанием NaCl и по 1 капле на чашки с кровяным агаром. Испражнения, осадок мочи и промывных вод желудка, рвотные массы засеваются по 2—3 капли на чашки с ЖСА с пониженным содержанием хлористого натрия. Для выделения других возможных возбудителей производится параллельный посев на соответствующие плотные питательные среды. Посевы выращивают при 37° 24—48 часов.

3.4.2. При обследовании здоровых лиц слизь из носа и (по показаниям) из зева, взятая стерильным тампоном, засевается

на чашки с ЖСА. Если слизь из зева берется путем смыва стерильным физиологическим раствором (5 мл), то на чашку с ЖСА засевается 0,1 мл смывной жидкости. Посевы инкубируют при 37° 24—48 часов. Смывы с рук подращивают на солевом бульоне в течение 18—24 часов при 37° и затем производят высев на ЖСА. Посевы инкубируют при 37° 24—48 часов.

3.4.3. Посев материала при исследовании объектов внешней среды.

а). Для посевов по эпидемическим показаниям используют ЖСА и солевой бульон. В особых случаях, о которых говорилось выше, для выявления всех видов стафилококков, применяют среды с пониженным содержанием хлористого натрия.

Смывы с инвентаря, инструментария и т. д. засевают на солевой бульон, инкубируют посевы при 37° 18—24 часа, затем производят высев на ЖСА. Посевы выращивают при 37° 24—48 часов.

При пищевых отравлениях из исследуемого материала, после предварительной обработки, готовят 10-кратные разведения в 0,1% пептонной воде (от 10^{-1} до 10^{-6}), которые засевают по 0,1 мл на чашки с ЖСА. Посевы инкубируют 24—48 часов при 37°. Одновременно производят посев исходной суспензии на солевой и сахарный бульон, согласно соответствующей инструкции. Посевы инкубируют 18—24 часа. Высев из сред накопления производится только при отсутствии роста стафилококков на плотных средах.

Воздух исследуют при помощи прибора Кротова. На каждую чашку с ЖСА засевают 250 л воздуха при скорости аспирации 25 л/мин. Посевы инкубируют при 37° в течение 24—48 часов.

б). С профилактической целью исследование объектов внешней среды производится аналогично, для посева материала используются ЖСА и солевой бульон. При исследовании пищевых продуктов с профилактической целью среды накопления не применяются.

3.5. **Количественная оценка роста стафилококков *.**

3.5.1. При прямом посеве материала от больных производится ориентировочная оценка количества выросших колоний в крестах:

++++ сливной рост,
+++ густой рост изолированный колоний,
++ значительный рост (до 100 колоний),
+ единичные колонии (до 25).

---

* За основу взята методика, изложенная в приказе МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 года.

3.5.2. При обследовании на бактерионосительство, для определения массивности обсеменения стафилококками верхних дыхательных путей, при прямом посеве тампоном, ориентировочная количественная оценка роста производится аналогично.

Для более точного определения количества стафилококков, содержащихся на тампоне, последний ополаскивают в 5 мл стерильного физиологического раствора путем встряхивания в течение 10 минут, затем отжимают и удаляют. 0,1 мл полученной взвеси засевают на чашку с ЖСА. Количество стафилококков, содержавшихся на тампоне, рассчитывают путем умножения числа выросших на данной чашке колоний на 50.

Таким же образом рассчитывается количество стафилококков, содержавшихся в 5 мл смыва из зева.

Результат, выражающийся числом 10^3 и более микробных клеток, является показателем высокой обсемененности и свидетельствует о носительстве, представляющем эпидемическую опасность.

Такой же степени обсемененности, как правило, соответствует рост на ++++ и +++ при прямом посеве.

3.6. **Отбор колоний.**

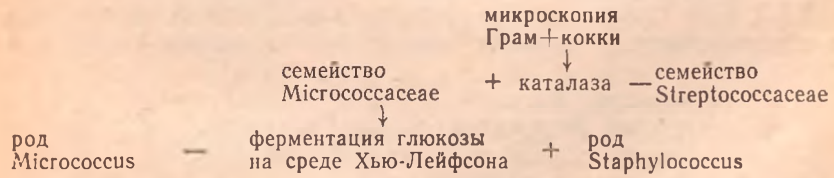
Исследованию подлежат колонии как обладающие, так и не обладающие лецитовителлазной и гемолитической активностью. Подозрительные колонии, не менее 2-х каждого типа, отсевают на скошенный агар. Посевы инкубируют при 37° 18—24 часа.

3.7. **Идентификация выделенных культур** включает: установление принадлежности к семейству Micrococcaceae, роду Staphylococcus, и одному из видов.

К семейству Micrococcaceae относят культуры грамположительных кокков, с характерным расположением клеток, дающие четкую реакцию на каталазу.

К роду Staphylococcus относят культуры, обладающие признаками семейства Micrococcaceae и ферментирующие глюкозу на среде Хью-Лейфсона.

КЛЮЧ К РОДУ STAPHYLOCOCCUS



Для идентификации S. aureus основным тестом является реакция коагуляция плазмы (РКП), дополнительными — опре-

деление лецитовителлазной активности (ЛВА), анаэробная ферментация маннита (АФМ) и проба на ДНК-азу.

Для идентификации S. epidermidis основными тестами являются: РКП, ЛВА, фосфатаза, дополнительными — при дифференциации с S. aureus — АФМ и ДНК-аза,

— при дифференциации с S. saprophyticus — окисление маннита (ОМ) и ферментация глюкозы на среде с индикатором ВР (ФГВР).

Для идентификации S. saprophyticus основными тестами являются: РКП, ЛВА. фосфатаза, дополнительными — при дифференциации с S. epidermidis — ОМ и ФГВР,

— при дифференциации с микрококками — реакция Фогес — Проскауэра.

Возможные сочетания перечисленных признаков у различных видов стафилококков представлены в таблице 1.

471555

Таблица 1

Видовая идентификация стафилококков

Вид	Признак							Примечания
	РКП	ЛВА	АФМ	ДНК-аза	фосфатаза	ОМ	ФГВР	
S. aureus	+	+	н/с	н/с	н/с	н/с	н/с	
	+	—	+	н/с	н/с	н/с	н/с	
	+	—	—	+ *	н/с	н/с	н/с	встречаются редко
	—	+	+	н/с	н/с	н/с	н/с	
S. epidermidis	—	—	н/с	н/с	+	н/с	н/с	
	—	+	—	н/с	н/с	н/с	н/с	встречается
	—	—	н/с	н/с	—	— **	+	крайне
	+	—	—	— *	н/с	н/с	н/с	редко
S. saprophyticus ***	—	—	н/с	н/с	—	+	—	встречается
	—	—	н/с	н/с	—	—	—	редко

Обозначения: н/с — при данном сочетании признаков тест не ставится.

* — при отсутствии возможности определить ДНК-азу, такие культуры условно относятся к S. aureus, так как положительная РКП, в подавляющем большинстве случаев, сочетается с наличием ДНК-азы.

** — некоторые культуры S. epidermidis, не обладающие фосфатазой, могут окислять маннит.

*** — если культура S. saprophyticus, подозреваемая как этиологический фактор, даст сомнительный или отрицательный результат в тесте ферментации глюкозы на среде Хью-Лейфсона (такие культуры довольно редки), то ее следует дифференцировать с микрококками по реакции Фогес—Проскауэра. У S. saprophyticus эта реакция положительна, у микрококков — отрицательна.

Республіканська
наукова медична
БІБЛІОТЕКА
МОЗ УРСР

Схема бактериологического исследования на стафилококки

1 день.	Посев материала, бактериоскопия (при необходимости).
2—3 день.	Просмотр посевов на плотных средах, количественная оценка роста, учет лецитовителлазной активности *, отбор колоний на скошенный агар. Высев из сред накопления на плотные питательные среды.
3—4 день.	Идентификация выделенных культур: окраска по Граму, микроскопия, постановка и учет реакции на каталазу, посев культур грамположительных кокков, дающих положительную реакцию на каталазу на среду Хью-Лейфсона ** и плазму.
4—5 день.	Учет ферментации глюкозы на среде Хью-Лейфсона. Учет РКП и сопоставление результата с наличием лецитовителлазной активности. Посев культур, не обладающих одним из этих признаков (РКП или ЛВА) на среду для определения АФМ *** или ДНК-азы. Выдача ответа о выделении S. aureus. Посев культур, не обладающих плазмокоагулазой, на среды для определения фосфатазной активности, окисления маннита и среду с глюкозой и индикатором ВР. Типирование выделенных культур S. aureus.
5—6 день.	Учет типирования S. aureus, выдача ответа. Учет реакции на фосфатазу, окисления маннита и ферментации глюкозы на среде с индикатором ВР. Выдача ответа о выделении S. epidermidis и S. saprophyticus. Типирование выделенных культур S. epidermidis и S. saprophyticus.
6—7 день.	Учет типирования. S. epidermidis и S. saprophyticus, выдача ответа.

3.7. **Типирование стафилококков.**

3.7.1. Типирование S. aureus.

Для типирования S. aureus предложены методы фаготипи-

Обозначения: * — если при первичном посеве среды с желтком не использовались, то необходимо произвести дополнительный посев на ЖСА.

** — если исследование производится только на S. aureus, то посев на среду Хью-Лейфсона производить не требуется, достаточно учета РКП и ЛВА.

*** — отрицательный результат учитывается на 5-е сутки.

рования, серологического типирования, биологического типирования, а также метод антибиотикограммы.

Серологическое типирование с помощью монорецепторных сывороток применяется, в основном, для научных целей и в нашей стране не получило широкого распространения. Метод биологического типирования, предложенный Baird — Parker A. C. (1974), основан на экологическом принципе и не позволяет проводить внутривидовое распределение S. aureus человеческого происхождения.

Определение антибиотикограммы используется в качестве дополнительного способа типирования возбудителя. Однако способность стафилококков быстро приобретать устойчивость к антибиотикам снижает ценность этого метода.

Наиболее доступным и широко применяемым является метод фаготипирования. Однако число штаммов, не типируемых этим способом, составляет 30—60% и, по данным ряда авторов, имеет тенденцию к увеличению. Методика фаготипирования подробно излагается в наставлении, прилагаемом к набору типовых стафилококковых бактериофагов.

В связи с указанным недостатком метода фаготипирования, в качестве дополнительного предлагается метод биологического типирования S. aureus, рассчитанный на дифференциацию штаммов, выделяемых от человека. Типирование производится по лецитовителлазной активности, способности гемолизировать человеческие эритроциты (дельта-гемолизин) и чувствительности к лечебному поливалентному стафилококковому бактериофагу. Эти признаки, как указывалось выше, не являются видоспецифическими для S. aureus (встречаются с частотой менее 80%) и позволяют, в зависимости от их различных сочетаний у культур, выделить 8 биологических вариантов (таблица 2).

В целях экономии времени, сред и посуды при необходимости биотипировать золотистый стафилококк первичный посев предлагается производить на комбинированную среду — желточно-солевой кровяной агар (см. приложение), на котором одновременно определяются лецитовителлаза и гемолитические свойства.

3.7.2. Типирование S. epidermidis производится по схеме А. К. Акатова и М. Л. Хатеневер (1976), приведенной в таблице 3.

3.7.3. Типирование S. saprophyticus производится по схеме Baird—Parker (1974), приведенной в таблице 4.

3.7.4. Типирование стафилококков применяется:

— при проведении плановых профилактических обследований,

Таблица 2

Биологические варианты S. aureus

Биовар	Признаки		
	продукция лецитовителлазы	наличие дельта-гемолизина	чувствительность к лечебному поливалентному стафилофагу
I	+	—	—
II	+	+	—
III	+	+	+
IV	—	+	—
V	—	+	+
VI	—	—	+
VII	—	—	—
VIII	+	—	+

Таблица 3

Биологические варианты S. epidermidis по А. К. Акатову и М. Л. Хатеневер

Признаки	Биовары				
	1	2	3	4	5
Желатиназа	±	—	+	—	+
Гемолиз *	+	±	—	—	+
Лецитовителлаза	—	—	—	+	+
Фосфатаза	+	—	+	+	±
Лизоцим **	—	—	±	±	+

* — желательно применять эритроциты кролика (можно и другие),

** — признак определять необязательно.

Таблица 4

Биологические варианты S. saprophyticus по Baird — Parker

Признаки	Биовары			
	1	2	3	4
Ацетоин	+	+	+	+
Кислота аэробно из:				
арабинозы,	—	—	—	+
лактозы,	—	+	+	+
мальтозы.	+	+	+	+
маннита	—	—	+	+

— при исследованиях по эпидемическим показаниям,

— при необходимости установления идентичности первично и повторно выделенных культур от больных.

4. ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ПРОФИЛАКТИКИ СТАФИЛОКОККОВЫХ ИНФЕКЦИЙ

Многообразие путей и факторов передачи возбудителей стафилококковых инфекций, широкое распространение бактерионосительства без клинических проявлений, значительная устойчивость стафилококков к воздействию факторов внешней среды и быстрое приобретение резистентности к антибактериальным препаратам диктуют необходимость проводить профилактические и противоэпидемические мероприятия одновременно в отношении всех звеньев эпидемического процесса: источника инфекции, путей передачи и восприимчивости контингента.

4.1. Мероприятия в отношении источников инфекции.

Источником инфекции при стафилококковых заболеваниях является человек — больной или бактерионоситель без клинических проявлений.

В условиях родовспомогательных учреждений и лечебных стационаров роль основных источников инфекции играют бактерионосители без клинических проявлений из числа медицинского и обслуживающего персонала с локализацией стафилококков на слизистых оболочках носа, а также — больные, имеющие выраженные проявления гнойно-септической инфекции.

Мероприятия в отношении источников инфекции должны быть направлены на выявление, изоляцию и лечение больных, выявление и санацию бактерионосителей без клинических проявлений.

4.1.1. Для предупреждения заноса стафилококковых инфекций в родовспомогательные учреждения профилактические мероприятия следует проводить с момента обращения беременных в женские консультации.

Женские консультации должны выявлять и лечить гнойничковые и вспомогательные заболевания у беременных, выявлять стойких стафилоносителей среди них, проводить санитарно-просветительную работу по вопросам профилактики заболеваний стафилококковой этиологии.

Эти мероприятия должны способствовать снижению опасности внутриутробного заражения плода и инфицирования новорожденного во время родов, предупреждению возникновения аутоинфекции у родильниц, рожениц и новорожденных после выписки из родовспомогательного учреждения.

4.1.2. Для выявления источников инфекции в приемном отделении лечебного стационара врач осматривает всех поступающих. При этом обследуются кожные покровы, зев, проводится термометрия.

4.1.3. Лица, поступающие на работу в лечебно-профилактические учреждения, проходят медицинский осмотр с обязательным обследованием отоларингологом, стоматологом и бактериологическим обследованием на носительство золотистого стафилококка.

4.1.4. Медицинский и обслуживающий персонал должен подвергаться диспансерному обследованию 2 раза в год для своевременного выявления и излечения кариозных зубов, хронических воспалительных очагов верхних дыхательных путей и проведению бактериологического обследования на носительство золотистого стафилококка 4 раза в год.

4.1.5. При возникновении в стационаре гнойно-септических инфекций среди больных (даже единичных случаев) в отделении проводится внеплановый одномоментный медицинский осмотр больных, медицинского и обслуживающего персонала и бактериологическое обследование на носительство золотистого стафилококка.

4.1.6. При возникновении в отделениях акушерского, хирургического профиля, палатах и отделениях реанимации и интенсивной терапии гнойно-септических заболеваний, возбудителями которых явились коагулазоотрицательные виды стафилококков, кроме обследования, предусмотренного в п. 4.1.5, рекомендуется также учитывать носительство S. epidermidis и S. saprophyticus.

4.1.7. Для предупреждения дальнейшего распространения внутрибольничных стафилококковых инфекций необходимо провести эпидемиологическое обследование по выявлению источников и путей передачи, инфекции, противоэпидемические и профилактические мероприятия [1,2].

4.1.8. Выявленные бактерионосители подлежат санации.

Всесоюзный научно-исследовательский институт дезинфекции и стерилизации МЗ СССР рекомендует для санации носителей следующие препараты:

---

[1] «Инструктивно-методические указания о мерах предупреждения стафилококковой инфекции в акушерских стационарах», Москва, 1970.

[2] Приказ МЗ СССР, № 720 от 31 июля 1978 г.

Гексахлорофен	— 1% гедсахлорофеновая мазь при локализации стафилококков в носу (1 раз в сутки, 5—6 дней смазывать передние отделы носа).
Трибаск (Трибромсалицилин — анилид; зарубежные названия — бромсалан, темасепт)	— 3% мазь (трибаск — 3 г, вазелин — 97 г). Закладывать в нос 2 раза в день, в течение 5—6 дней.
Хлорофиллипт	— Для носа — 2% маслянный раствор закапывать 3 раза в день, 6—7 дней. Для зева — 1% спиртовый раствор (20—30 мл на 100 мл воды), полоскать 3 раза в день, 6—7 дней.
Стафилококковый бактериофаг	— По рекомендации ВНИИДС МЗ СССР Для носа — 2 раза в день на 15—20 мин ватные тампоны, смоченные бактериофагом, закладывать в нос. 5—6 дней. Для зева — Полоскание 3 раза в день цельным фагом, 7—6 дней. По рекомендации авторов настоящих методических рекомендаций. Для носа — 50% стафилофаговая мазь (ланолин 25%, вазелин 25%, стафилофаг 50%) Закладывать 1 раз в день, 5 дней. Для зева — Орошение дыхательных путей через рот 1 раз в день, в течение 5 дней в возрастающих дозах: 1-й день — 1 мл, 2-й день — 1,5 мл, 3-й день — 2 мл, 4 и 5 дни — по 3 мл.
Фурациллин	— Раствор 1 : 5000, 1 раз в сутки полоскание и протирание переднего отдела носа, 6—7 дней.
Риванол	— Раствор 1 : 5000 (свежеприготовленный), 1 раз в сутки полоскание зева и протирование переднего отдела носа, 6—7 дней.
Борная кислота	— 1% раствор, 1 раз в сутки полоскание зева и протирание переднего отдела носа, 6—7 дней.
Раствор Люголя (1 часть йода, 2 части калия йодида, 17 частей воды)	— 1 чайная ложка раствора на 200 мл воды — полоскать зев ежедневно 1 раз в сутки.
Люголь в глицерине (йод — 1 часть, калия йодида — 2 части, глицерина — 94 части, вода — 3 части).	— Смазывать зев 1 раз в сутки, 6—7 дней.
Калий марганцевокислый	— 0,01% водный раствор, полоскать зев 1 раз в сутки, 6—7 дней.
Настой листьев эвкалипта	— 10 г листьев залить стаканом холодной воды, кипятить на слабом огне 15 мин. Остудить, процедить. 1 столовая ложка отвара на стакан воды Полоскать 1 раз в сутки ежедневно.

Известно, что санация не всегда дает стойкий эффект. Наряду с общепризнанной способностью стафилококков быстро приобретать резистентность к санирующим препаратам, одной из существенных причин неудач санации является то обстоятельство, что санируются обычно только выявленные носители. Многие источники инфекции могут оставаться нераспознанными, в связи с чем не удается прервать эпидемический процесс.

Для повышения эффективности санации рекомендуется:

а) 1 раз в квартал проводить профилактическую санацию всего медицинского и обслуживающего персонала с обязательной регистрацией даты проведения санации и препарата, который использовался;

б) в период эпидемического неблагополучия — одномоментно санировать весь персонал и, по возможности, всех лиц, находящихся на излечении в данном отделении независимо от результатов бактериологического обследования и плановых профилактических санаций;

в) санирующие препараты необходимо менять каждые 7 дней, при плановых профилактических санациях также следует каждый раз производить смену санирующего препарата и, по возможности, предварительно проверять чувствительность выделенных в отделении стафилококков к избранному препарату;

г) сотрудники с хроническими воспалительными процессами верхних дыхательных путей, не поддающимися лечению, переводятся, по возможности, на другую работу.

4.2. Мероприятия, направленные на разрыв механизма передачи инфекции.

В распространении стафилококковых инфекций основную роль играет воздушно-капельный механизм передачи, меньшее значение имеют контактный и фекально-оральный.

Основными санитарно-гигиеническими мероприятиями, направленными на разрыв путей передачи инфекции являются:

4.2.1. Изоляция выявленных больных с гнойно-септическими инфекциями в специальные отделения, секции, палаты с ультрафиолетовыми бактерицидными облучателями закрытого типа.

4.2.2. Запрещение самовольных передвижений больных из указанных палат в другие палаты и отделения.

4.2.3. Выделение специального помещения для выписки больных из указанных палат после завершения лечения.

4.2.4. Проведение ежедневной уборки в палатах для больных с гнойно-септическими инфекциями с обязательным использованием дезинфицирующих средств (хлорамин Б — 1% с

0,5% моющего средства; перекись водорода — 3% с 0,5% моющего средства; дезоксан — 1—0,2%). Уборочный инвентарь маркировать и использовать строго по назначению. После использования обеззараживать погружением на 1 час в 1% раствор хлорамина Б, 0,2% раствор сульфохлорантина или 2% раствор дихлора 1.

4.2.5. Медицинский и обслуживающий персонал в палатах для больных с гнойно-септическими инфекциями должен работать в халатах, масках, шапочках и обуви, которые необходимо менять каждый день. Персонал должен обрабатывать руки растворами бактерицидных препаратов (80% этиловый спирт, 0,5% раствор хлорамина). Для каждого сотрудника этих палат должно выделяться индивидуальное полотенце, которое необходимо менять ежедневно.

4.2.6. Для предупреждения возникновения внутрибольничных инфекций в отделениях лечебно-профилактических учреждений всех профилей необходимо не реже 2 раз в день проводить уборку помещений влажным способном с применением мыльно-содового раствора, санитарно-гигиенический режим в стационаре поддерживать по типу режима инфекционных отделений.

4.2.7. Хранение, обработка и стерилизация медицинского инструментария, резиновых перчаток, перевязочного материала и белья производится в соответствии с требованиями приказа МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 г. «Приложение 1».

4.3. Мероприятия, направленные на повышение защитных сил организма.

Учитывая широкое распространение стафилококковых инфекций среди больных и здоровых и отсутствие средств санации, дающих абсолютный эффект, необходимо также проводить мероприятия по повышению специфической и неспецифической реактивности организма. Наряду с общеизвестными мерами по укреплению организма (правильное полноценное питание, рациональный режим труда и отдыха, закаливание и т. д.) необходимо проводить:

4.3.1. беременным — профилактические прививки стафилококковым анатоксином;

4.3.2. больным, поступающим в хирургические отделения, с целью снижения вероятности послеоперационных гнойных осложнений, назначать официнальный препарат РНК-нуклеинат натрия (внутримышечно): при плановых операциях по 2 мл 5% раствора на 0,5% растворе новокаина за 48 и 24 часа до операции, при ургентных — перед операцией, на следующие сутки и через 5 дней после второго введения.

4.4. Основные организационные положения.

4.4.1. Комплекс мероприятий по предупреждению возникновения внутрибольничных инфекций проводить согласно приказу МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 г.

4.4.2. Успех проводимых профилактических и противоэпидемических мероприятий во многом зависит от их правильного планирования, четкой последовательности проведения, сознательного отношения медицинских работников и обслуживающего персонала к своим обязанностям. В целях усиления борьбы с внутрибольничными инфекциями, в планах лечебно-профилактических учреждений, санитарно-эпидемиологических и дезинфекционных станций должно быть предусмотрено проведение соответствующих мероприятий.

4.4.3. Санитарно-эпидемиологическая служба обеспечивает методическое руководство и контроль за проведением профилактических и противоэпидемических мероприятий в отношении стафилококковых инфекций.

4.4.4. Ответственность за проведение комплекса мероприятий по недопущению внутрибольничных инфекций возлагается на главных врачей и заведующих отделениями лечебно-профилактических учреждений.

5. ПРИЛОЖЕНИЕ

5.1. Питательные среды.

Желточно-солевой агар (ЖСА) Г. Н. Чистовича.

К 100 мл расплавленного и охлажденного до 40—45° мясопептонного агара, содержащего 10% хлористого натрия, добавляют 20 мл желточной взвеси, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки. Для приготовления желточной взвеси желток асептически извлекают из яйца и взбалтывают в 200 мл стерильного физиологического раствора. Культуры, обладающие ферментом лецитовителлазной через 24—48 часов образуют колонии, окруженные зоной помутнения и радужным венчиком. При наличии только помутнения без радужного ободка проба на лецитовителлазу считается отрицательной.

Желточно-солевой агар с пониженным содержанием хлористого натрия.

К 100 мл расплавленного и охлажденного до 40—45° мясопептонного агара, содержащего 6% хлористого натрия, добавляют 20 мл желточной взвеси, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки. Конечная концентрация соли в среде — 5%.

Кровяной агар.

К 100 мл расплавленного и охлажденного до 40—45° 2% мясо-пептонного агара добавляют 5 мл дефибринированной крови человека, барана или кролика, тщательно перемешивают и разливают в стерильные чашки. Культуры, обладающие гемолитической активностью, образуют вокруг колоний зоны просветления.

Желточно-солевой кровяной агар.

К 100 мл расплавленного и охлажденного до 40—45° 2% мясо-пептонного агара, содержащего 10% хлористого натрия, добавляют 20 мл тщательно перемешанной смеси, состоящей из 5 мл дефибринированной крови человека и 15 мл желточной взвеси. Агар тщательно перемешивают со смесью и разливают в стерильные чашки. На этой среде одновременно можно учитывать наличие лецитовителлазы и гемолиза.

Сахарный бульон.

Для приготовления основы смешивают 1 часть перевара Хоттингера и 2 части мясной воды, добавляют 0,5% хлористого натрия, устанавливают pH 8,0, кипятят 30 мин., фильтруют. В качестве основы можно также использовать мясо-пептонный бульон, бульон Мартена. К 100 мл питательной основы добавляют 0,25 г глюкозы, предварительно растворенной в небольшом количестве дистиллированной воды. Среду разливают в стерильную посуду и стерилизуют при 112° 20 мин.

Солевой бульон.

К 100 мл питательной основы прибавляют 7,5 г хлористого натрия, разливают в пробирки или флаконы и стерилизуют при 120° 20 мин.

Солевой бульон с пониженным содержанием хлористого натрия.

К 100 мл питательной основы добавляют 5 г хлористого натрия, разливают в пробирки или флаконы и стерилизуют при 120° 20 мин.

Полужидкая среда (Китт—Тароцци).

К 100 мл бульона Мартена или мясо-пептонного бульона (pH — 7,6—7,8) добавляют 0,3—0,5 г глюкозы и 0,1 г агар-агара, разливают в посуду с кусочками вареной печени или мяса, стерилизуют при 120° 30 мин.

Среда Хью-Лейфсона.

К 100 мл дистиллированной воды добавляют 0,3 агар-агара, 0,2 г пептона, 0,5 г хлористого натрия, подогревают до расплавления агара. Затем вносят 0,03 г двузамещенного фосфата калия, 1 г глюкозы и 0,3 мл 1% водного раствора бромтимолового синего. Доводят pH до 7,4—7,5 (цвет среды синий), разливают в стерильные пробирки высоким столбиком

(5—6 мл) и стерилизуют при 112° 20 мин. После стерилизации цвет среды травянистый (pH — 7,1—7,2). Перед посевом среду регенерируют. Посев производят уколом (до дна), заливают стерильным вазелиновым маслом и инкубируют при 37° 24—48 часов. Пожелтение всей или только нижней части столбика среды свидетельствует о ферментации глюкозы.

Среды с индикатором ВР (глюкозой и маннитом).

Готовят согласно способу, указанному на этикетке. Для определения ферментации среды разливают высоким столбиком (5—7 мл), для окисления маннита — низким столбиком (2—3 мл). Посев производят уколом в глубину столбика так, чтобы большая часть инокулируемой культуры осталась в нижнем слое среды. Среду для определения ферментации маннита заливают 1—2 мл стерильного вазелинового масла. Среду с глюкозой не заливают вазелиновым маслом. Посевы инкубируют при 37° 24 часа. Отрицательный результат ферментации маннита учитывают через 5—7 суток. Посинение всего столбика или нижней его части свидетельствует о ферментации, посинение всего низкого столбика или его верхней части — об окислении.

Бульон Кларка.

К 100 мл дистиллированной воды добавляют 0,5 г фосфорнокислого двузамещенного калия (K_2HPO_4), 0,5 пептона, 0,5 глюкозы, перемешивают, нагревают до кипения, фильтруют, разливают в пробирки по 1 мл и стерилизуют при 112° 30 мин.

5.2. **Реактивы и методы постановки реакций.**

Определение каталазы.

На чистое обезжиренное предметное стекло наносят каплю 1% водного раствора перекиси водорода, в которой суспендируют 1 каплю суточной агаровой культуры. В положительном случае происходит интенсивное образование пузырьков газа.

Реакция коагуляции плазмы.

Используется сухая или нативная кроличья плазма в разведении 1 : 5 со стерильным физиологическим раствором. Разведенная плазма разливается в стерильные пробирки по 0,5 мл и в ней суспендируется 1 петля 18—20-часовой агаровой культуры. Пробирки помещают в термостат при 37°. Учет осуществляется через 1—2, 3, 18 и 24 часа. Можно через 3 часа инкубации при 37° учесть предварительные результаты, оставить посевы при комнатной температуре на 18—20 часов. Окончательный учет реакции производится на следующий день. Дробный учет необходим, так как в поздние сроки возможно расплавление сгустка под действием фибринолизина. Каждый опыт должен сопровождаться следующими контролями: плаз-

ги, обильно смоченной раствором аммиака. Фосфатазу можно определять, используя агар с 0,05% паранитрофенил фосфата (см. приложение 3 Приказа МЗ СССР № 720 от 31 июля 1978 г.).

Реакция Фогес — Проскауэра (по Барриту).

К 1 мл 2-суточной культуры на бульоне Кларка добавляют 0,2 мл 40% раствора КОН и 0,6 мл 5% спиртового раствора альфа-нафтола. В положительных случаях появляется ярко-красное окрашивание. Для получения более четких результатов учет рекомендуется производить после инкубации пробирок в термостате в течение 1 часа.

ОТРЫВНОЙ ЛИСТ
УЧЕТА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Направить в Киевский НИИ, эпидемиологии, микробиологии и паразитологии МЗ УССР, 252150, Киев-150, спуск Степана Разина, 4.

1. Методические рекомендации по микробиологической диагностике и профилактике стафилококковых инфекций.

2. Утверждены бюро Президиума Ученого медицинского совета МЗ УССР 15 мая 1979 года, протокол № 12.

3. _____
(кем и когда получены)

_____

4. Лечебно-профилактические учреждения, которые внедрили данные методические рекомендации _____

_____

_____

5. Формы внедрения (семинары, подготовка и переподготовка специалистов, сообщения и пр.) и результаты применения метода (количество наблюдений за год и эффективность) _____

_____

6. Авторский критерий эффективности: высеваемость трех видов стафилококков и их соотношения _____

_____

7. Замечания и предложения _____

_____

_____

_____

Подпись _____
(должность, фамилия, имя, отчество заполнившего документ)

Дата

СОДЕРЖАНИЕ

1. Введение 3
2. Таксономия и краткая характеристика микроорганизмов рода Staphylococcus 6
3. Лабораторная диагностика 11
Определение целей и задач исследования 11
Материал для исследования 12
Бактериоскопия нативного материала 13
Посев материала 13
Количественная оценка роста 15
Отбор колоний 16
Идентификация выделенных культур 16
Типирование стафилококков 18
4. Основные направления профилактики стафилококковых инфекций . 21
5. Приложение 26

БФ 27431. Подп. к печати 31.V. 1979 г. Зак. 2611. Тираж 2000.
Формат 60×84 1/16.

4-я военная типография.