

В. С. Алексина

Научные руководители: к.м.н. Е. В. Карпова, к.м.н., доцент Т. А. Петровская

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

**ВЫДЕЛЕНИЕ ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА
И МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНОГО ЗОЛОТИСТОГО СТАФИЛОКОККА
В КЛИНИЧЕСКИХ ОБРАЗЦАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
ХРОМОГЕННОЙ СРЕДЫ**

Введение

Staphylococcus aureus является возбудителем, который часто выделяется в клинических образцах. *S. aureus* в настоящее время является наиболее распространенной причиной нозокомиальных инфекций среди грамположительных патогенов [1]. Метициллинрезистентный золотистый стафилококк (MRSA) устойчив ко всем бета-лактамам антибиотикам, при этом сохраняет чувствительность к цефтаролину и цефтобипролу, новым цефалоспорином V поколения, устойчивость к которым встречается крайне редко и связана с распространением определенных генетических линий [2]. Скрининг на MRSA важен по терапевтическим и эпидемиологическим причинам. Методы, используемые для обнаружения *S. aureus* и MRSA в клинических образцах, должны обладать высокой чувствительностью и специфичностью, а также проводиться в течение короткого времени. Согласно Европейских рекомендаций EUCAST, принадлежность к фенотипу метициллинрезистентности может быть выявлена при определении чувствительности *S. aureus* к цефокситину диско-диффузионным методом [3]. Однако данный метод требует выделения чистой культуры и занимает несколько дней. В идеале хромогенные селективные среды позволяют изолировать *S. aureus* и выявить резистентность к метициллину за один этап [4]. Эффективная, быстрая микробиологическая диагностика и определение чувствительности необходимы для лечения, контроля и предупреждения инфекций, вызванных MRSA.

Цель

Оценить эффективность обнаружения *Staphylococcus aureus* и MRSA в клинических образцах с использованием селективной хромогенной среды, содержащей антибиотик.

Материал и методы исследования

Для выделения золотистого стафилококка стерильным ватным тампоном были взяты мазки с миндалин у 10 студентов. Материал инокулировали на хромогенную селективную питательную среду MRSA chromogenic agar base (Laboratorios Conda S.A., Spain) без добавления антибиотика тампоном (площадка) и далее выполняли полуколичественный посев по секторам с помощью стерильных одноразовых бактериальных пестель. Для выделения метициллинрезистентных стафилококков использовали MRSA chromogenic agar base (Laboratorios Conda S.A., Spain) с включением 1 флакона добавки цефокситиновой MRSA, растворенного в 5 мл теплой стерильной дистиллированной воды. Для контроля качества использовали штаммы *S. aureus* ATCC 25923 и MRSA 45579. Инкубировали чашки в аэробных условиях при $35\pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 часов. Рост на хромогенной среде без антибиотика колоний голубого/синего цвета свидетельствовал о присутствии в клиническом образце *S. aureus*. К MRSA относили голубые/синие

колонии, выросшие также на чашке с включением цефокситиновой добавки. Дополнительно для подтверждения принадлежности выделенных колоний к виду *S. aureus* проводили тестирование колоний на продукцию плазмокоагулазы. Одну колонию выделенной культуры помещали в пробирку эппендорф, содержащую разведенную, согласно инструкции производителя, плазму кроличью цитратную сухую стерильную (Микроген, РФ). При положительном результате отмечалась коагуляция плазмы через 2–18 часов после инкубации.

Результаты исследования и их обсуждение

У восьми студентов был отмечен рост синих колоний на хромогенной среде без антибиотика в количестве 104 КОЕ/мл, т.е. рост стафилококков присутствовал только на первом секторе. Также на данной среде был получен рост контрольных штаммов. При постановке теста на продукцию плазмокоагулазы были получены положительные результаты для всех восьми штаммов, выделенных из биоматериала. У двух человек рост культуры *S. aureus* на хромогенной среде получен не был.

Данная хромогенная среда разработана для скрининга метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus*. α -Глюкозидаза, продуцируемая *Staphylococcus aureus*, расщепляет хромогенный субстрат и придает колониям *Staphylococcus aureus* синий цвет. Цефокситин ингибирует рост *Staphylococcus aureus*, чувствительных к метициллину.

Примеры роста колоний золотистого стафилококка на MRSA хромагаре без добавления антибиотика представлены на рисунке 1.

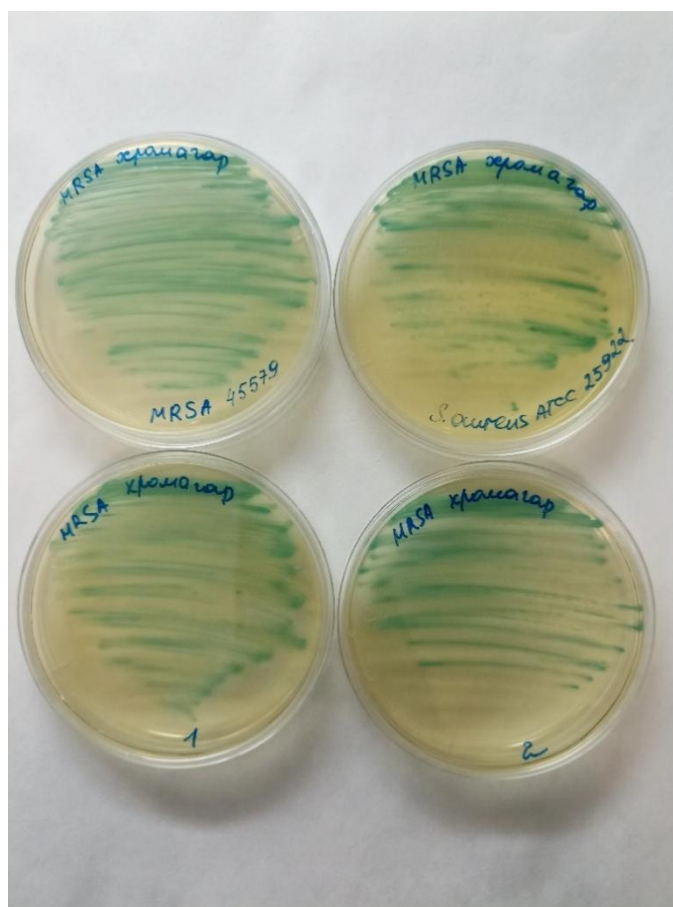


Рисунок 1 – Колонии *S. aureus*, выращенные на среде MRSA хромагаре без включения антибиотика

На хромогенной среде с добавлением цефокситина роста культур из биоматериала получено не было, что свидетельствует об отсутствии MRSA в клинических образцах. В то же время, на данной среде был отмечен рост контрольного штамма MRSA 45579. Результаты посевов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Индикация золотистого стафилококка в исследуемых материалах

Номер клинического образца	Рост на хромогенной среде без антибиотика	Рост на хромогенной среде с цефокситиновой добавкой	Продукция плазмокоагулазы
1	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
2	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
3	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
4	Роста нет	Роста нет	-
5	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
6	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
7	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
8	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
9	Роста нет	Роста нет	-
10	104 КОЕ/мл; синий цвет	Ингибируется	+
S.aureus ATCC 25923	Обильный рост; синий цвет	Ингибируется	+
MRSA 45579	Обильный рост; синий цвет	Обильный рост; синий цвет	+

Таким образом, MRSA хромагар показал свою эффективность в отношении выявления золотистого стафилококка в клинических образцах и может использоваться для обнаружения MRSA в патологическом материале.

Выводы

Хромогенная селективная среда является высокоспецифичным и эффективным средством для изоляции и идентификации *S. aureus* и MRSA непосредственно в клинических образцах. Для получения достоверных результатов необходимо соблюдать все технические условия по приготовлению и хранению питательной среды, указанные в инструкции производителя.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Staphylococcus aureus Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments / N. Ahmad-Mansour [et al.] // Toxins. – 2021. – Vol. 13, № 10. – P. 677.
2. Гостев, В. В. Современные представления об устойчивости Staphylococcus aureus к бета-лактамам / В. В. Гостев, О. Е. Пунченко, С. В. Сидоренко // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2021. – Т. 23, № 4. – С. 375–387. – DOI 10.36488/cmasc.2021.4.375–387.
3. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version. 14.0.2024. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Available at: <http://www.eucast.org>. – Accessed 29.10.2024.
4. Chromagar™ requires secondary confirmation strategies to minimize false positive/negative results for detection of Staphylococcus aureus / S. Sirobhushanam [et al.] // Journal of Microbiological Methods. – 2019. – Vol. 161. – P. 71–73.