

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «ФармИнформ»



Макарова О.Е.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению изделия медицинского назначения:

**Среды питательные и компоненты сред в наборах и отдельных упаковках для
микробиологических исследований *in vitro***

Бектон Дикинсон энд Компани, США / Becton Dickinson and Company, 7 Loveton Circle, Sparks,
Maryland 21152, USA

НАЗНАЧЕНИЕ

После извлечения клеток из ткани или организма и помещения их в культуру культуральная среда должна обеспечивать все внешние условия, которые клетки имели *in vivo*. Это обеспечивает выживание клеток, их пролиферацию и дифференцировку. Внеклеточная среда должна обеспечивать клетки питательными и гормональными факторами, т.е. обладать всем необходимым для роста и выживания клеток.

Среды и компоненты для культивирования клеток производства Бектон Дикинсон энд Компани, США предназначены для накопления, обогащения и стимулирования роста различных видов клеточных линий и микроорганизмов, выращивания и поддержания культур клеток и тканей в лабораториях различного профиля. Изделия могут быть использованы для исследований в различных областях микробиологии, включая прикладную фармакологию, научные исследования, производство вакцин.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Питательные среды представляют собой растворы определенного состава, к которым добавляются компоненты невыясненного биологического происхождения (добавки плазмы, сыворотки крови, тканевые экстракты и т.д.). Основу питательных сред составляют солевые растворы. Минеральные компоненты в этих растворах подобраны так, что раствор выполняет буферные функции, поддерживая постоянный кислотнощелочной баланс среды в процессе культивирования. Постоянство pH среды является одним из главных требований условий культивирования.

Предназначены для выращивания и поддержания культур клеток и тканей в лабораториях различного профиля. Изделия могут быть использованы для исследований в различных областях микробиологии, включая прикладную фармакологию, научные исследования, производство вакцин. Компания производит жидкие, плотные, сухие питательные среды из растительного и животного сырья. Питательные среды представляют собой высоко гигроскопичный сухой порошок, плотный гель или раствор, в состав которого входят пептиды (мясо, казеин, соя, желатин), углеводы (лактоза, мальтоза, фруктоза), минеральные вещества (Na, K, Mg, Fe), селективные вещества (соли желчи и бычья желчь), витамины, необходимые для роста и метаболизма любых живых клеток. Стерильные среды расфасованы в стерильные стеклянные флаконы, чашки Петри или пробирки. На этикетке указаны условия и сроки хранения каждой. Все среды хранятся в прохладном, сухом удаленном от света месте. Использованные среды утилизируются стандартным способом, общепринятым на территории РФ.

«Добавки к питательным средам» (Компоненты) предназначены для придания средам селективных свойств в отношении тех или иных важных микроорганизмов. Среди добавок, поставляемых компанией сыворотка крови, эскулин, МУГ, молочная кислота, эмульсия яичного желтка, витамины и другие факторы роста микроорганизмов. Чаще всего в составе питательных сред применяют такие добавки, как сыворотка, лошадиная и баранья кровь. Эмульсия яичного желтка, витамины, эскулин, молочная кислота и другие обеспечивают микроорганизмы одним или несколькими необходимыми факторами роста. МУГ помогает дифференцировать микроорганизмы по флюоресцирующим продуктам разложения этого субстрата. Добавки вносят только в стерильные питательные среды с использованием всех правил асептики. Стерилизацию надо проводить аккуратно и всегда избегать перегревания сред. Приготовленные среды желателно использовать как можно раньше, но если потребуются их надо хранить в прохладном темном месте во влажной атмосфере. Выпускаемые компанией стерильные добавки представляют собой готовые к использованию растворы важнейших факторов роста, индикаторов и т. д. Добавки к питательным средам поставляются в упаковках с флакончиками, каждый из которых имеет индивидуальную этикетку с обозначением соответствующей добавки. Срок годности добавок указан на каждой этикетке; их хранят при 2-8°C, за исключением лошадиной сыворотки, которую хранят при -20°C. После приготовления раствора стабильность существенно варьирует, что определяет срок годности агаровых и бульонных сред. Растворенные добавки следует выбрасывать, так как даже при глубоком замораживании возможно быстрое разрушение антибиотиков или др. составляющих.

«Компоненты питательных сред», предназначены для приготовления питательных сред, используемых в лабораториях различного профиля при выращивании микроорганизмов. Изделия могут быть использованы для исследований в различных областях микробиологии, включая прикладную фармакологию, научные исследования, производство вакцин. Компоненты питательных сред расфасованы по 25, 500 г, 1, 5, 10, 25 или 50 кг. На этикетках указаны условия и сроки хранения каждой. Все компоненты хранятся в прохладном, сухом удаленном от света месте. Используемые среды, а также использованные компоненты питательных сред утилизируются стандартным способом, общепринятым на территории РФ.

Перечень изделий

1. Бульон для актиномицетов (Actinomyces Broth).
2. Агар для выделения актиномицетов (Actinomycete Isolation Agar).
3. Агар ацетатный дифференциальный (Acetate Differential Agar).
4. Пептон с «Ацидиказой» (Acidicase Peptone).
5. Адонитол для микробиологии (Adonitol).
6. Агар для бактериологии технический (Agar, Technical).
7. Агар класса А (Agar, Grade A).
8. Агар гранулированный (Agar, Granulated).
9. Агар очищенный (Agar, Purified).
10. Агароза для микробиологии (Agarose).
11. Агар для анаэробов (Anaerobic Agar).
12. Флаконы с антимикробной добавкой К (Antimicrobial Vial K).
13. Основа для приготовления кровяного агара с азидом натрия (Azide Blood Agar Base).
14. Декстрозный бульон с азидом натрия (Azide Dextrose Broth).
15. Мясной экстракт (паста) (Beef Extract, paste).
16. Мясной экстракт (порошок) (Beef Extract Powder).
17. Агар желчный с эскулином (Bile Esculin Agar).
18. Соли желчных кислот №3 (Bile Salts No.3).
19. Пептон «Биосат» (Biosat Peptone).
20. Висмут-сульфит агар (Bismuth Sulfite Agar).
21. Основа для приготовления кровяного агара (Blood Agar Base).
22. Основа для приготовления агара Борде-Жангу (Bordet Gengou Agar Base).
23. Сердечно-мозговая вытяжка (Brain Heart Infusion).
24. Агар с сердечно-мозговой вытяжкой (Brain Heart Infusion Agar).
25. Бульон с сердечно-мозговой вытяжкой модифицированный (Brain Heart Infusion Broth, Modified).
26. Агар для бруцелл (Brucella Agar).
27. Бульон для бруцелл (Brucella Broth).
28. Забуференная пептонная вода (Buffered Peptone Water).
29. Основа для приготовления агара для кампилобактерий (Campylobacter Agar Base).
30. Добавка антимикробных препаратов Блейзера для приготовления агара для кампилобактерий (Campylobacter Antimicrobial Supplement Blaser).
31. Добавка антимикробных препаратов Скирроу для приготовления агара для кампилобактерий (Campylobacter Antimicrobial Supplement Skirrow).
32. Транспортная среда Кэри-Блэра (Cary and Blair Transport Medium).
33. Кислотный гидролизат казеина с низким содержанием натрия и железа (Casamino Acids).
34. Основа для приготовления агара Кэсмана (Casman Agar Base).
35. Основа для приготовления агара с цетримидом (Cetrimide Agar Base – BD Pseudosei™ Agar).
36. Среда Чапман Стоун (Chapman Stone Medium).
37. Угольный агар (Charcoal Agar).
38. Шоколадный агар, агар GC с «ИзоВиталексом» (Chocolate Agar, GC Agar with BD IsoVitaleX).
39. Агар шоколадный с «ИзоВиталекс» и бацитроцином (Chocolate Agar with BD IsoVitaleX and

- Bacitracin).
40. Агар селективный для Клостридиум Диффициле (Clostridium Difficile Selective Agar).
 41. Коагулазный агар с маннитолом (Coagulase Mannitol Agar).
 42. Основа для приготовления колумбийского агара (Columbia Agar Base).
 43. Основа для приготовления кровяного колумбийского агара (Columbia Blood Agar Base).
 44. Бульон колумбийский (Columbia Broth).
 45. Агар колумбийский II (Columbia II Agar).
 46. Агар с раствором Чапека (Czappek Solution Agar).
 47. Бульон Чапека-Докса (Czappek-Dox Broth).
 48. Агар нейтрализующий Дей/Энгли (D/E Neutralizing Agar).
 49. Бульон нейтрализующий Дей/Энгли (D/E Neutralizing Broth).
 50. Декстроза для микробиологии (Dextrose).
 51. Агар для выделения сульфит-редуцирующих клостридий (Differential Reinforced Clostridial Agar).
 52. Д-маннитол для микробиологии (D-Mannitol).
 53. Д-сорбитол для микробиологии (D-Sorbitol Sorbite).
 54. Д-ксилоза для микробиологии (D-Xylose).
 55. Обогачительная добавка для питательных сред с концентратом эмульсии яичного желтка 50% (Egg Yolk Enrichment 50%).
 56. Раствор теллурита с яичным желтком (Egg Yolk Tellurite Enrichment).
 57. Эозин метиленовый синий агар модифицированный (Eosin Methylene Blue Agar, Modified, Holt-Harris & Teague).
 58. Обогачительная добавка Файлдса для питательных сред (Fildes Enrichment).
 59. Желатин для микробиологии (Gelatin).
 60. Пептон «Желизат» на основе лизированного желатина, для микробиологии (BD Gelysate Peptone).
 61. Глицерин для микробиологии (Glycerol).
 62. Селективный кровяной агар для стрептококков группы А с 5% добавлением крови барана (Group A Selective Strep Agar with 5 % Sheep Blood, BD ssA).
 63. Основа агара РС (РС Фпфк Ифью)ю
 64. Агар для геликобактера (Helicobacter Agar).
 65. Раствор гемоглобина 2% для микробиологии (Hemoglobin Solution 2%).
 66. Гемоглобин бычий лиофилизированный для микробиологии (Hemoglobin Bovine, Freeze-Dried).
 67. Обогачительная добавка «ИзоВиталекс» (BD IsoVilaleX Enrichment).
 68. КФ агар для стрептококков (KF Streptococcus Agar).
 69. Агар Клигlera с железом (Kligler Iron Agar).
 70. Агар MPC для лактобацилл (Lactobacilli MRS Agar).
 71. Бульон MPC для лактобацилл (Lactobacilli MRS Broth).
 72. Агар ЛБ Леннокса (LB Agar, Lennox).
 73. Агар ЛБ Миллера (LB Agar, Miller).
 74. Бульон ЛБ Леннокса (LB Broth, Lennox).
 75. Бульон ЛБ Миллера (LB Broth, Miller).
 76. Основа для приготовления агара для легионелл (Legionella Agar Base).
 77. Обогачительная добавка агара для легионелл (Legionella Agar Enrichment).
 78. Обогачительная добавка питательных сред для лептоспир (Leptospira Enrichment, Lyophilised).
 79. Обогачительная добавка питательных сред для лептоспир (Leptospira Enrichment EMJH).
 80. Основа для приготовления среды EMJH для лептоспир (Leptospira Medium Base EMJH).
 81. Агар Летина (Letheen Agar).
 82. Агар Летина модифицированный (Letheen Agar, Modified).
 83. Бульон Летина (Letheen Broth).
 84. Бульон Летина модифицированный (Letheen Broth, Modified).

85. Агар Левина EMB (Levine EMB Agar).
86. Бульон селективный для листерий (Listeria Enrichment Broth).
87. Бульон селективный для листерий модифицированный (Listeria Enrichment Broth, Modified).
88. Добавка селективная для листерий (Listeria Selective Supplement).
89. Основа для приготовления среды Левенштейн (Lowenstein Medium Base).
90. Основа для приготовления агара ЛПИМ (LPM Agar Base).
91. Основа для приготовления агара Лурия, Миллера (Luria Agar Base, Miller).
92. Основа для приготовления бульона Лурия, Миллера (Luria Broth Base, Miller).
93. Агар с лизином и железом (Lysine Iron Agar).
94. Агар МакКонки без добавления кристаллического фиолетового (MacConkey Agar without Crystal Violet).
95. Агар МакКонки (MacConkey Agar).
96. Бульон МакКонки (MacConkey Broth).
97. Агар солодовый (Malt Agar).
98. Экстракт солода (Malt Extract).
99. Агар на экстракте солода (Malt Extract Agar).
100. Мальтоза для микробиологии (Maltose).
101. Агар тестовый микробиологический (Microbial Content Test Agar).
102. Основа для приготовления агара Миддлбрук 7H11 (Middlebrook 7H11 Agar Base).
103. Агар Миддлбрук 7H10 (Middlebrook 7H10 Agar).
104. Бульон Миддлбрук 7H9 (Middlebrook 7H9 Broth).
105. Агар Митис Саливариус (Mitis Salivarius Agar).
106. Бульон модифицированный для листерий (UVM Modified Listeria Enrichment Broth).
107. Среда для проведения теста подвижности микроорганизмов (Motility Test Medium).
108. Бульон Мюллер Хинтон (Mueller Hinton Broth).
109. Среда Мюллер Хинтон (Mueller Hinton Medium).
110. Агар микологический (Mycological Agar).
111. Агар «Микофил» с низким pH (BD Mycophil Agar with Low pH).
112. Основа для приготовления агара для микоплазм (Mycoplasma Agar Base, PPLO Agar Base).
113. Основа для приготовления бульона для микоплазм (Mycoplasma Broth Base).
114. Обогащительная добавка питательных сред для микоплазм, без пенициллина (Mycoplasma Enrichment without Penicillin).
115. Добавка для питательных сред для микоплазм (Mycoplasma Supplement).
116. «Неопептон» для микробиологии (Neopeptone).
117. Буфер нейтрализующий (Neutralizing Buffer).
118. Агар питательный (Nutrient Agar).
119. Бульон питательный (Nutrient Broth).
120. Желатин питательный (Nutrient Gelatin).
121. Антимикробная добавка к средам с новобиоцином (Novobiocin Antimicrobial Supplement).
122. Среда основная ОФ (OF Basal Medium).
123. Основа для приготовления среды оксфордской (Oxford Medium Base).
124. Добавка к средам антимикробная оксфордская модифицированная (Oxford Antimicrobial Supplement, Modified).
125. Добавка антимикробная ПАЛКАМ (PALCAM Antimicrobial Supplement).
126. Основа для приготовления среды ПАЛКАМ (PALCAM Medium Base).
127. Пептон для микробиологии (Peptone).
128. Пептонная вода (Peptone Water).
129. Пептон «Битек» для микробиологии (BiTek Proteose Peptone).
130. Основа для приготовления агара с феноловым красным (Phenol Red Agar Base).
131. Основа для приготовления бульона с феноловым красным (Phenol Red Broth Base).
132. Бульон с феноловым красным и декстрозой (Phenol Red Dextrose Broth).
133. Агар фенилаланиновый (Phenylalanine Agar).

134. Агар фенилэтиловый с добавлением спирта (Phenylethyl Alcohol Agar).
135. Пептон «Фитон» для микробиологии (BD Phytone Peptone).
136. Агар «Фитон» дрожжевой (BD Phytone Yeast Extract Agar).
137. Агар для чашечного подсчета (Plate Count Agar).
138. Пептон «Полипептон» для микробиологии (BD Polypeptone Peptone).
139. Полисорбат 80 для микробиологии (Polysorbate 80).
140. Агар картофельный декстрозный (Potato Dextrose Agar).
141. Бульон картофельный декстрозный (Potato Dextrose Broth).
142. Агар для микоплазм ППЛО (PPLO Agar, Mycoplasma Agar).
143. Бульон для микоплазм ППЛО (PPLO Broth, Mycoplasma Broth).
144. Пептон протеозный (Proteose Peptone).
145. Агар Ф для псевдомонад (Pseudomonas Agar F).
146. Агар П для псевдомонад (Pseudomonas Agar P).
147. Основа для приготовления пурпурного агара (Purple Agar Base).
148. Основа для приготовления пурпурного бульона (Purple Broth Base).
149. Среда Рака-Рея № 3 (Raka-Ray No. 3 Medium).
150. Среда Раппапорта-Вассилиадиса модифицированная полужидкая (Rappaport-Vassiliadis Medium, Modified Semisolid).
151. Основа для приготовления угольного агара Реган-Лой (Regan-Lowe Charcoal Agar Base).
152. Среда для клостридий улучшенная (Reinforced Clostridial Medium, RCM).
153. Агар Сабуро модифицированный (Sabouraud Agar, Modified).
154. Агар Сабуро декстрозный (Sabouraud Dextrose Agar).
155. Бульон Сабуро декстрозный (Sabouraud Dextrose Broth).
156. Агар Сабуро мальтозный (Sabouraud Maltose Agar).
157. Бульон Сабуро мальтозный (Sabouraud Maltose Broth).
158. Среда Сабуро жидкая (Sabouraud Medium, Fluid).
159. Сахароза для микробиологии (Saccharose).
160. Бульон Шедлера (Schaedler Broth).
161. Бульон Шедлера с витамином K1 (Schaedler Broth with Vitamin K1).
162. Бульон селенитовый (Selenite Broth).
163. Бульон селенитовый с цистином (Selenite Cystine Broth).
164. Агар теллуритовый сывороточный (Serum Tellurite Agar).
165. Цитратный агар Симмонса (Simmons Citrate Agar).
166. Молоко снятое специальное для микробиологии (Skim Milk).
167. Крахмал растворимый для микробиологии (Soluble Starch).
168. Гидролизат соевой муки для микробиологии (Soytone Bacto).
169. Агар стандартных методов (Standard Methods Agar).
170. Среда 110 для стафилококков (Staphylococcus Medium 110).
171. Добавка Б для питательных микробиологических сред, с растворителем (Supplement B).
172. Добавка ВиИкс для питательных микробиологических сред, с растворителем (Supplement VX).
173. Основа для приготовления бульона ТАТ (TAT Broth Base).
174. Теллуритовый раствор 1% для микробиологии (Tellurite Solution 1%).
175. Среда тиогликолевая, обогащенная витамином K1 и гемин (Thioglycollate Medium, Enriched with Vitamin K1 and Hemin).
176. Среда тиогликолевая Бревера модифицированная (Thioglycollate Medium, Brewer Modified).
177. Среда тиогликолевая жидкая (Thioglycollate Medium, Fluid).
178. Жидкая тиогликолевая среда с мясным экстрактом (Thioglycollate Medium, Fluid with Beef Extract).
179. Бульон Тодд-Хьюита (Todd Hewitt Broth).
180. Агар на томатном соке (Tomato Juice Agar).
181. Среда транспортная Стюарта, Тошача и Пацулы (Transport Medium, Stuart, Toshach and

Patsula).

182. Пептон «Триптиказа» для микробиологии (BD Trypticase Peptone).
183. Бульон соевый «Триптиказа» (Trypticase Soy Broth).
184. Триптон для микробиологии (Tryptone Peptone).
185. Триптонная вода (Tryptone Water).
186. Триптоза для микробиологии (Tryptose Peptone).
187. Агар с триптозой (Tryptose Agar).
188. Основа для кровяного агара с триптозой (Tryptose Blood Agar Base).
189. Бульон с триптозой (Tryptose Broth).
190. Бульон с триптозой фосфатный (Tryptose Phosphate Broth).
191. Агар TSN (TSN Agar).
192. Раствор TTC 1% стерильный (TTC Solution 1 %, Sterile).
193. «Твин 80» (полисорбат) для микробиологии (Tween 80 - Polysorbate 80).
194. Среда УВА (агар пивной универсальный) (UBA Medium).
195. Бульон универсальный обогащенный (Universal Preenrichment Broth).
196. Основа для приготовления агара с мочевиной (Urea Agar Base).
197. Бульон с мочевиной (Urea Broth).
198. Бульон для тестирования уреазной активности микроорганизмов (Urease Test Broth).
199. Бульон UVM для селективного культивирования листерий (UVM Modified Listeria Enrichment Broth).
200. Ингибитор Мартина и Льюиса (с ванкомицином, колистином, анизомицином) (V-C-A Inhibitor).
201. Ингибитор Мартина и Льюиса (с ванкомицином, колистином, анизомицином и триметопримом) (V-C-A-T Inhibitor).
202. Ингибитор Тайера Мартина (с ванкомицином, колистином и нистатином) (V-C-N Inhibitor).
203. Ингибитор Тайера Мартина (с ванкомицином, колистином, нистатином и триметопримом) (V-C-N-T Inhibitor).
204. Раствор витамина K1 и гемина (Vitamin K1-Hemin Solution).
205. Среда дифференциальная WL (WL Differential Medium).
206. Бульон питательный WL (WL Nutrient Broth).
207. Среда питательная WL (WL Nutrient Medium).
208. Агар дезоксихолатный с ксилозой и лизином (Xylose Lysine Desoxycholate Agar, XLD Agar).
209. Добавка антимикробная для изоляции йерсиний (цефсулодин-новобиоцин) (Yersinia Antimicrobial Supplement CN).
210. Основа селективного агара для йерсиний (Yersinia Selective Agar Base, CIN Agar Base).
211. Агар на дрожжевой муке (YM Agar, Yeast Mold Agar).
212. Бульон на дрожжевой муке (YM Broth, Yeast Mold Broth).
213. Агар морской 2216 (Marine Agar 2216)
214. Бульон морской 2216 (Marine Broth 2216)

МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

При выращивании бактерий применяют стационарный способ, способ глубинного культивирования с аэрацией и метод проточных питательных сред. В соответствии со способами выращивания бактериальные культуры разделяют на *периодические* (при стационарном и глубинном культивировании) и *непрерывные* (при проточном культивировании).

Стационарный способ — наиболее часто используемый на практике. Состав сред остаётся постоянным, с ними не проводят никаких дополнительных манипуляций.

Способ глубинного культивирования применяют при промышленном выращивании бактериальной биомассы, для чего используют специальные котлы-реакторы. Они снабжены систе-

мами поддержания температуры, подачи в бульон различных питательных веществ, перемешивания биомассы и постоянной подачи кислорода. Создание аэробных условий по всей толще среды способствует протеканию энергетических процессов по аэробному пути, что способствует максимальной утилизации энергетического потенциала глюкозы и, следовательно, максимальному выходу биомассы.

Метод проточных сред (промышленный способ культивирования) позволяет постоянно поддерживать бактериальную культуру в экспоненциальной фазе роста, что достигают постоянным внесением питательных веществ и удалением определённого числа бактериальных клеток. Пребывание бактерий в экспоненциальной стадии роста обеспечивает максимальный выход различных БАВ (витамины, антибиотики и др.).

Первичная идентификация бактерий

В большинстве случаев изучение особенностей роста для первичной идентификации возбудителей проводят на колониях, выросших в течение 18-24 ч. Характер роста бактерий на различных средах может дать много полезной информации. На практике используют сравнительно небольшой набор критериев. В жидких средах обычно учитывают характер поверхностного (образование плёнки) или придонного роста (вид осадка) и общее помутнение среды. На твёрдых средах бактерии формируют колонии — *изолированные структуры, образующиеся в результате роста и накопления бактерий*. Колонии возникают как следствие роста и размножения одной или нескольких клеток. Таким образом, *пересев из колонии в дальнейшем даёт возможность оперировать с чистой культурой возбудителя*. Рост бактерий на плотных средах имеет больше характерных особенностей.

ГЕМОЛИЗ

Некоторые бактерии выделяют **гемолизины** — вещества, разрушающие эритроциты. На КА их колонии окружают зоны просветления. Образование гемолизинов (и соответственно — размеры зон гемолиза) может быть вариabельным, и для адекватного определения гемолитической активности следует просматривать чашки с посевами против источника света (рис. 1-14). Активность гемолизинов может проявляться в полном или неполном разрушении эритроцитов.

α-Гемолиз. Разрушение эритроцитов может быть неполным, с сохранением клеточной стромы. Подобный феномен называют α-гемолиз. Просветление среды вокруг колоний обычно незначительно, позднее среда вокруг колоний может приобретать зеленоватую окраску. Подобный рост характерен для пневмококка, а также для группы так называемых зеленеющих стрептококков.

β-Гемолиз. Гораздо большая группа бактерий вызывает полное разрушение эритроцитов, или β-гемолиз. Их колонии окружены прозрачными зонами различного размера. Например, *Streptococcus pyogenes* и *Staphylococcus aureus* образуют большие зоны гемолиза, а *Listeria monocytogenes* или *Streptococcus agalactiae* — небольшие, диффузные зоны. Для определения гемолитической активности не следует применять шоколадный агар (ША), так как образующиеся зоны α- или β-гемолиза не имеют характерных особенностей и вызывают одинаковое позеленение среды.

РАЗМЕРЫ И ФОРМА КОЛОНИЙ

Важные признаки колоний — их размеры и форма. Колонии могут быть большими или мелкими. Величина колоний — признак, позволяющий различать различные виды, роды и даже типы бактерий.

В большинстве случаев колонии *грамположительных бактерий* мельче колоний *грамотрицательных бактерий*. Колонии бактерий могут быть плоскими, приподнятыми, выпуклыми, иметь вдавленный или приподнятый центр. Другой важный признак — **форма краёв колоний**. При изу-

чении формы колоний учитывают характер её поверхности: матовый, блестящий, гладкий или шероховатый. Края колоний могут быть ровными, волнистыми, дольчатыми (глубоко изрезанными), зубчатыми, эрозированными, бахромчатыми и т.д. Размеры и формы колоний часто могут изменяться. Подобные изменения известны как **диссоциации**. *Наиболее часто обнаруживают S- и R-диссоциации*. S-колонии круглые, гладкие и выпуклые, с ровными краями и блестящей поверхностью. R-колонии — неправильной формы, шероховатые, с зубчатыми краями.

ЦВЕТ КОЛОНИЙ

При просмотре посевов также обращают внимание на цвет колоний. Чаще они бесцветные, белые, голубоватые, жёлтые или бежевые; реже — красные, фиолетовые, зелёные или чёрные. Иногда колонии ирризируют, то есть переливаются всеми цветами радуги [от греч. *iris*, радуга]. Окрашивание возникает в результате способности бактерий к пигментообразованию. На специальных дифференцирующих средах, включающих специальные ингредиенты или красители, колонии могут приобретать разнообразную окраску (чёрную, синюю и др.) за счёт включения красителей либо их восстановления из бесцветной формы. В данном случае их окраска не связана с образованием каких-либо пигментов.

КОНСИСТЕНЦИЯ КОЛОНИЙ И ОСОБЕННОСТИ РОСТА НА СРЕДЕ

Полезную информацию могут дать консистенция колоний и особенности роста на среде. Обычно эту информацию можно получить при прикосновении к колониям петлёй. Колонии могут легко сниматься со среды, вращать в неё или вызывать её коррозию (образуя трещины и неровности). Консистенция колоний может быть твёрдой или мягкой.

Мягкие колонии — маслянистые или сливкообразные; могут быть слизистыми (прилипают к петле) или низкими (тянущимися за петлёй).

Твёрдые колонии — сухие, восковидные, волокнистые или крошковатые; могут быть хрупкими и ломаться при прикосновении петлёй.

Запах

Запах — менее важный признак колоний, поскольку вызываемые им ассоциации носят субъективный характер. В частности, культуры синегнойной палочки имеют запах карамели, культуры листерий — молочной сыворотки, протеев — гнилостный запах, нокардий — свежескопанной земли.

Биохимические методы идентификации бактерий

Методов, используемых для идентификации особенностей метаболизма бактерий, очень много, но на практике применяют небольшое их количество. Большинство способов основано на использовании дифференциально-диагностических сред, включающих различные индикаторы.

СПОСОБНОСТЬ К ФЕРМЕНТАЦИИ УГЛЕВОДОВ

Способность к ферментации углеводов оценивают по изменению окраски среды вследствие образования органических кислот (соответственно, происходит уменьшение pH), вызывающих изменение окраски индикатора.

«Пёстрый» ряд. Для определения сахаролитической активности применяют среды Хисса; в их состав входят 1% пептонная вода (или МПБ), индикатор Андраде и один из углеводов. При расщеплении углевода происходит изменение цвета среды с жёлтого на красный. Поскольку бактерии различают по способности ферментировать те или иные углеводы, то ряды пробирок приобретают пёстрый вид. Поэтому этот набор сред и называют «пёстрый» (или цветной) ряд.

Стеклянные поплавки. Для определения способности микроорганизмов ферментировать

углеводы с образованием кислоты и газа в сосуды со средами вносят стеклянные поплавки (запаянные с одного конца короткие трубочки), всплывающие после наполнения их газом.

Посев и культивирование

При достаточном содержании патогенных бактерий в образце проводят посев на плотные питательные среды (для получения изолированных колоний). Если в исследуемом материале бактерий мало, то посев проводят на жидкие среды обогащения. На практике выделение относительно неприхотливых бактерий обычно проводят на простых средах (например, на КА, агаре Плоскирева, тиогликолевом бульоне, агаре Сабуро и т.д.). Для выделения прихотливых видов в среды вносят **питательные вещества** (кровь, сыворотку, дрожжевой экстракт и др.), а также **поглощители токсических метаболитов, образующихся при росте бактерий** (например, древесный уголь). Для посевов применяют микробиологические петли, реже иглы и шпатели.

ПОЛУЧЕНИЕ ИЗОЛИРОВАННЫХ КОЛОНИЙ

Для получения изолированных колоний на практике наиболее часто используют модификацию рассева по Дригальски. Для этого материал наносят на поверхность плотной питательной среды ближе к краю и делают «бляшку». Затем из неё материал распределяют по четырём квадратам, проводя петлёй штрихи, как показано на рис. 1-12, обжигая петлю после засева каждого квадрата. Подобный метод позволяет получить изолированные колонии и изучать их. Исключение составляет техника посева при бактериологическом исследовании мочи (техника штрихового засева показана на рис. 1-13). Указанные методы пригодны для посева аэробных и факультативно анаэробных бактерий, а также нестрогих анаэробов.

ТЕМПЕРАТУРА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Патогенные бактерии вариабельны в отношении температур, оптимальных для их роста, но большинство из них неплохо развивается при 35-37 °С. Исключение составляют некоторые атипичные микобактерии, возбудитель чумы, листерии и лептоспиры (температурный оптимум 20-30 °С), а также *Campylobacter jejuni* (температурный оптимум 42 °С).

СОСТАВ ГАЗОВОЙ СРЕДЫ

Бактерии чётко разделяют по отношению к содержанию кислорода в атмосфере культивирования.

Аэробы. Посевы аэробных бактерий культивируют в простых термостатах. Некоторые факультативно анаэробные виды также можно культивировать при атмосферном воздухе, но более оптимально помещение посевов в термостаты с дозированной подачей кислорода. На практике их чаще помещают в эксикаторы, куда вносят горящую свечу; после её выгорания в атмосфере снижается содержание кислорода и повышается содержание CO₂.

Анаэробы. Посевы анаэробных бактерий в жидких средах заливают вазелиновым или другим маслом. При использовании плотных сред посевы культивируют в специальных устройствах — анаэростатах (откуда откачивают воздух) либо заливают посевы тонким слоем агара. Анаэробные условия можно создать химическим путём, поместив посевы в эксикаторы, на дно которых заливают щелочной раствор пирогаллола, поглощающего кислород. Также можно использовать методы Фортнера, Цейслера и Вейнберга.

Метод Фортнера. Посевы проводят на чашку Петри с толстым слоем среды, разделённым пополам узкой канавкой, вырезанной в агаре. На одну половину засевают культуру аэробных бак-

терий, на другую — анаэробных. Края чашки заливают парафином и инкубируют в термостате. Первоначально наблюдают рост аэробов, а затем (после поглощения кислорода) — рост анаэробов.

МЕТОДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

При выращивании бактерий применяют стационарный способ, способ глубинного культивирования с аэрацией и метод проточных питательных сред. В соответствии со способами выращивания бактериальные культуры разделяют на *периодические* (при стационарном и глубинном культивировании) и *непрерывные* (при проточном культивировании).

Стационарный способ — наиболее часто используемый на практике. Состав сред остаётся постоянным, с ними не проводят никаких дополнительных манипуляций.

Способ глубинного культивирования применяют при промышленном выращивании бактериальной биомассы, для чего используют специальные котлы-реакторы. Они снабжены системами поддержания температуры, подачи в бульон различных питательных веществ, перемешивания биомассы и постоянной подачи кислорода. Создание аэробных условий по всей толще среды способствует протеканию энергетических процессов по аэробному пути, что способствует максимальной утилизации энергетического потенциала глюкозы и, следовательно, максимальному выходу биомассы.

Метод проточных сред (промышленный способ культивирования) позволяет постоянно поддерживать бактериальную культуру в экспоненциальной фазе роста, что достигают постоянным внесением питательных веществ и удалением определённого числа бактериальных клеток. Пребывание бактерий в экспоненциальной стадии роста обеспечивает максимальный выход различных БАВ (витамины, антибиотики и др.).

Первичная идентификация бактерий

В большинстве случаев изучение особенностей роста для первичной идентификации возбудителей проводят на колониях, выросших в течение 18-24 ч. Характер роста бактерий на различных средах может дать много полезной информации. На практике используют сравнительно небольшой набор критериев. В жидких средах обычно учитывают характер поверхностного (образование плёнки) или придонного роста (вид осадка) и общее помутнение среды. На твёрдых средах бактерии формируют колонии — *изолированные структуры, образующиеся в результате роста и накопления бактерий*. Колонии возникают как следствие роста и размножения одной или нескольких клеток. Таким образом, *пересев из колонии в дальнейшем даёт возможность оперировать с чистой культурой возбудителя*. Рост бактерий на плотных средах имеет больше характерных особенностей.

ГЕМОЛИЗ

Некоторые бактерии выделяют **гемолизины** — вещества, разрушающие эритроциты. На КА их колонии окружают зоны просветления. Образование гемолизинов (и соответственно — размеры зон гемолиза) может быть переменным, и для адекватного определения гемолитической активности следует просматривать чашки с посевами против источника света (рис. 1-14). Активность гемолизинов может проявляться в полном или неполном разрушении эритроцитов.

α -Гемолиз. Разрушение эритроцитов может быть неполным, с сохранением клеточной стромы. Подобный феномен называют α -гемолиз. Просветление среды вокруг колоний обычно незначительно, позднее среда вокруг колоний может приобретать зеленоватую окраску. Подобный рост характерен для пневмококка, а также для группы так называемых зеленеющих стрептококков.

β -Гемолиз. Гораздо большая группа бактерий вызывает полное разрушение эритроцитов, или β -гемолиз. Их колонии окружены прозрачными зонами различного размера. Например, *Strep-*

Staphylococcus aureus образуют большие зоны гемолиза, а *Listeria monocytogenes* или *Streptococcus agalactiae* — небольшие, диффузные зоны. Для определения гемолитической активности не следует применять шоколадный агар (ША), так как образующиеся зоны α - или β -гемолиза не имеют характерных особенностей и вызывают одинаковое позеленение среды.

РАЗМЕРЫ И ФОРМА КОЛОНИЙ

Важные признаки колоний — их размеры и форма. Колонии могут быть большими или маленькими. Величина колоний — признак, позволяющий различать различные виды, роды и даже типы бактерий.

В большинстве случаев колонии грамположительных бактерий мельче колоний грамотрицательных бактерий. Колонии бактерий могут быть плоскими, приподнятыми, выпуклыми, иметь вдавленный или приподнятый центр. Другой важный признак — **форма краёв колоний**. При изучении формы колоний учитывают характер её поверхности: матовый, блестящий, гладкий или шероховатый. Края колоний могут быть ровными, волнистыми, дольчатыми (глубоко изрезанными), зубчатыми, эрозированными, бахромчатыми и т.д. Размеры и формы колоний часто могут изменяться. Подобные изменения известны как **диссоциации**. Наиболее часто обнаруживают S- и R-диссоциации. S-колонии круглые, гладкие и выпуклые, с ровными краями и блестящей поверхностью. R-колонии — неправильной формы, шероховатые, с зубчатыми краями.

ЦВЕТ КОЛОНИЙ

При просмотре посевов также обращают внимание на цвет колоний. Чаще они бесцветные, белые, голубоватые, жёлтые или бежевые; реже — красные, фиолетовые, зелёные или чёрные. Иногда колонии ирризируют, то есть переливаются всеми цветами радуги [от греч. *iris*, радуга]. Окрашивание возникает в результате способности бактерий к пигментообразованию. На специальных дифференцирующих средах, включающих специальные ингредиенты или красители, колонии могут приобретать разнообразную окраску (чёрную, синюю и др.) за счёт включения красителей либо их восстановления из бесцветной формы. В данном случае их окраска не связана с образованием каких-либо пигментов.

КОНСИСТЕНЦИЯ КОЛОНИЙ И ОСОБЕННОСТИ РОСТА НА СРЕДЕ

Полезную информацию могут дать консистенция колоний и особенности роста на среде. Обычно эту информацию можно получить при прикосновении к колониям петлёй. Колонии могут легко сниматься со среды, вращать в неё или вызывать её коррозию (образуя трещины и неровности). Консистенция колоний может быть твёрдой или мягкой. **Мягкие колонии** — маслянистые или сливкообразные; могут быть слизистыми (прилипают к петле) или низкими (тянущимися за петлёй).

Твёрдые колонии — сухие, восковидные, волокнистые или крошковатые; могут быть хрупкими и ломаться при прикосновении петлёй.

Запах

Запах — менее важный признак колоний, поскольку вызываемые им ассоциации носят субъективный характер. В частности, культуры синегнойной палочки имеют запах карамели, культуры листерий — молочной сыворотки, протеев — гнилостный запах, нокардий — свежескопанной земли.

РАСЩЕПЛЕНИЕ БЕЛКОВ

Некоторые бактерии проявляют протеолитическую активность, выделяя протеазы, катализи-

рующие расщепление белков. Наличие протеолитических ферментов из группы коллагеназ определяют при посеве уколом в МПЖ. При положительном результате наблюдают его разжижение в виде воронки либо послойно сверху вниз. Способность к расщеплению белков и аминокислот также можно оценивать по изменению окраски среды, так как образующиеся продукты — аммиак, индол и сероводород — сдвигают pH в щелочную сторону, вызывая изменение окраски индикатора.

Образование аммиака. Для определения способности к образованию NH_3 проводят посев в МПБ, и между его поверхностью и пробкой закрепляют полоску лакмусовой бумаги. *При положительном результате бумажка синеет.*

Образование индола и H_2S . Обычно для определения способности к образованию индола и сероводорода также проводят посев в МПБ, между его поверхностью и пробкой закрепляют бумажки: в первом случае пропитанные раствором щавелевой кислоты (*при образовании индола бумажка краснеет*), во втором — раствором ацетата свинца (*при образовании H_2S бумажка чернеет*). Также используют специальные среды, содержащие индикаторы (например, среда Клиглера), либо их вносят непосредственно в среду после регистрации видимого роста бактерий.

Описание проведения испытаний, клиническая часть

Данные изделия предназначены для проведения микробиологических лабораторных исследований в клинической и санитарной бактериологии. Изделия представляют собой сухие питательные среды в виде гомогенного, легкосыпучего порошка в полипропиленовых, непрозрачных банках, герметично закрывающиеся с помощью специальной конусной прокладки. Специальные добавки (селективные, питательные и дифференцирующие) представляют собой флаконы из непрозрачного стекла, герметично закрытые, которые содержат стерильные, лиофилизированные вещества или смеси различных веществ. Количество стерильной добавки рассчитано на добавление к 0,5 л или 1,0 л готовой среды.

Готовые к применению среды представляют собой стеклянные флаконы, содержащие стерильные питательные среды (плотные, жидкие или одновременно и те и другие). Флаконы герметично закрыты крышками, позволяющими вносить материал для исследования.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Прочтите надписи на этикетке перед тем, как вскрыть контейнер.

Убедитесь в том, что перед Вами тот продукт, который Вам нужен.

Помните о возможной опасности при обращении с биологическим материалом и используйте соответствующую защитную одежду и приспособления.

Открывать контейнер следует осторожно, в хорошо проветриваемом помещении.

Соблюдайте осторожность при извлечении и применении опасных реактивов, используйте методы, уменьшающие риск отравления при вдыхании, попадании вещества внутрь, на кожу, в глаза или на одежду.

Избегайте использования загрязненных инструментов и аппаратуры.

После использования тщательно закупоривайте контейнеры.

При культуральных работах не допускается прием пищи, питье или курение.

Тщательно промывайте загрязненные руки и одежду.

В случае проливания или просыпания поступайте в соответствии с указаниями по мерам безопасности.

При воздействии реактива на организм немедленно обратитесь за медицинской помощью, оказав пострадавшему первую помощь, и наблюдайте за ним до прихода врача.

УПАКОВКА

Среды и компоненты для культивирования клеток поставляются в непрозрачных водоотталкивающих пластиковых или стеклянных флаконах различных форм и объемов с навинчивающимися колпачками или укупоренных резиновыми пробками, обжатыми колпачками алюминиевыми.

ХРАНЕНИЕ

Хранить в соответствии с условиями хранения, указанными на упаковке.

Прошито и
пронумеровано 14 листов

