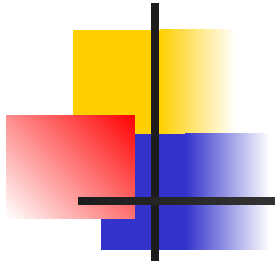
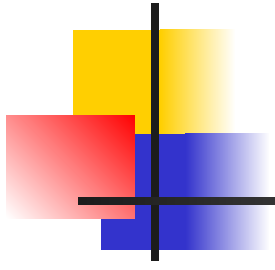


***Тема**: Метод Дригальского: этапы выделения чистой культуры и ее идентификации*



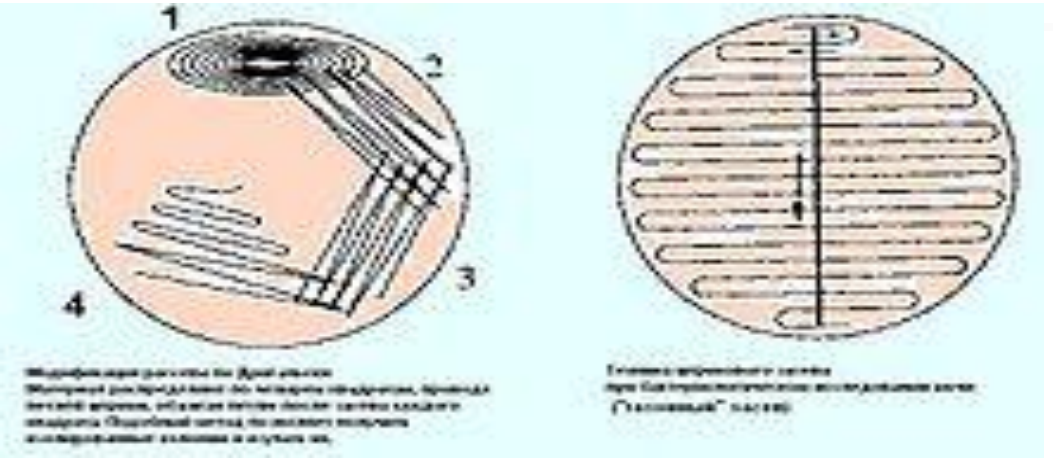
- Выделение чистой культуры бактерий – обязательный этап бактериологичекого исследования в лабораторной диагностике.
- Метод Дригальского основан на механическом разобщении клеток.

# Метод Дригальского

- 1-й этап. Рассев исследуемого материала по поверхности плотной питательной среды с целью получения изолированных колоний. Может включать предварительную микроскопию исследуемого материала

# 1-й этап.

***Техника посева***

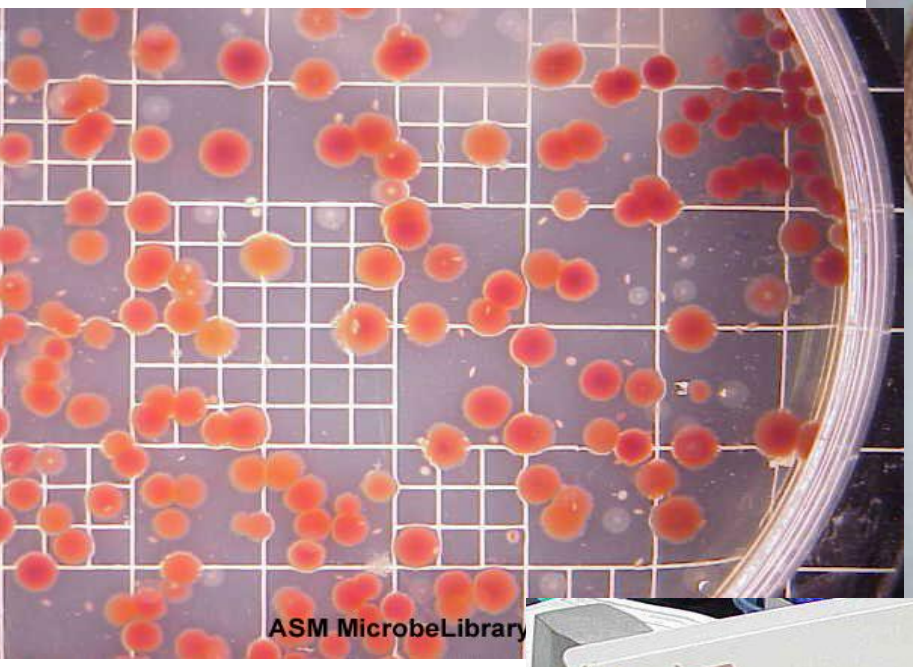



Посевы «газоном» производят на плотную питательную среду в чашке Петри. Для этого, приоткрыв левой рукой крышку, петлёй или пипеткой наносят посевной материал на поверхность питательного агара по методу Дригальского.

# 2-й этап.

- Макро- и микроскопическое изучение выросших колоний и отсев колонии, характерной для определенного вида на скошенный агар или чашку Петри со свежим агаром для получения чистой культуры.

# По результатам посева серийных разведений исследуемого материала выбирают чашку Петри, удобную для подсчета колоний.



Подсчет колоний

# Культуральные свойства бактерий

- Колонии различаются по величине, форме, цвету, консистенции, контуру края, структуре и характеру поверхности:
- по величине — крупные (диаметр более 4—5 мм), средние (2—4 мм) и малые (1—2 мм)
- по форме — круглые, розеткообразные, листовидные и т. д.
- по цвету, зависящему от пигмента — белого, ярко-синего, красного цветов и т. д.
- по консистенции — сухие, влажные, сочные, слизистые
- по поверхности — гладкие, морщинистые, исчерченные, плоские, выпуклые, плосковыпуклые, вдавленные
- по краю — с ровными, волнистыми, бахромчатыми краями
- по структуре — могут иметь аморфную, зернистую, волокнистую внутреннюю структуру
- в чистой культуре, выращенной на скошенном питательном агаре, характер роста может быть сухим, влажным, ползучим, складчатым, пигментированным

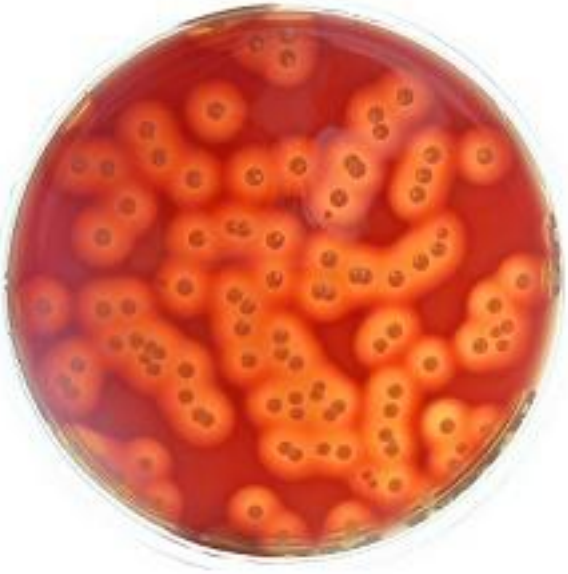
# Культуральные свойства бактерий (продолжение)

Рост изолированных колоний

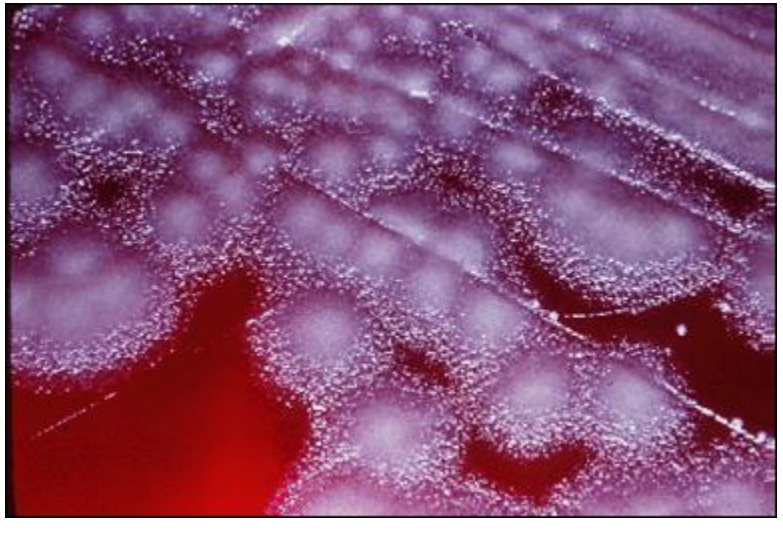
Streptomyces

Klebsiella pneumoniae

# Культуральные свойства бактерий (продолжение)



S.aureus на кровяном агаре

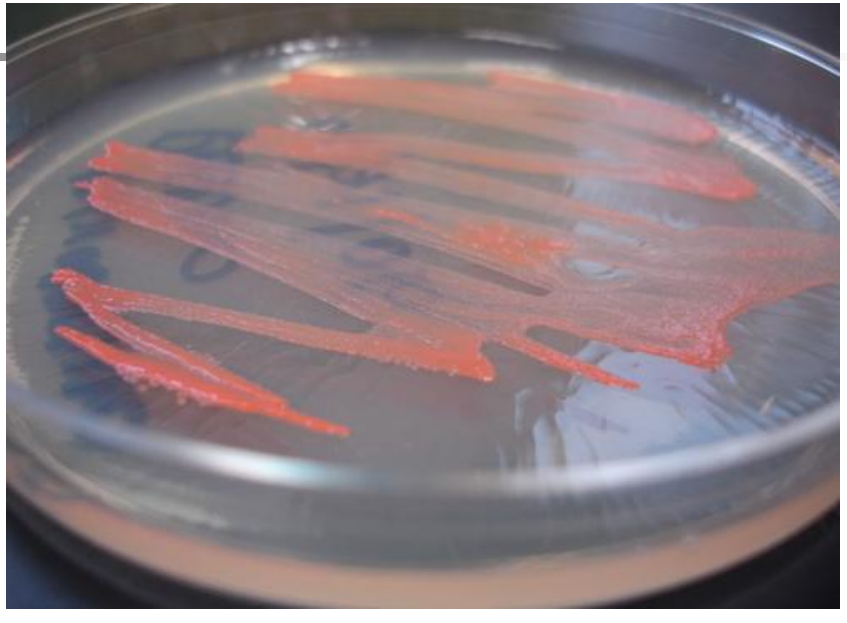


Колонии *Bacillus anthracis* *«голова медузы»*

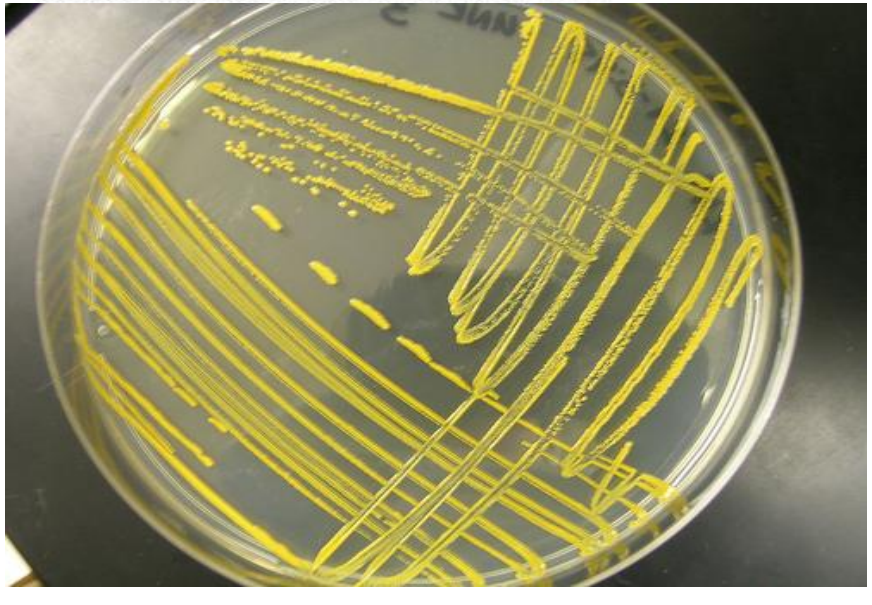
Колонии *возбудителя чумы Y.pestis* *«кружевной платочек»*

# Культуральные свойства бактерий. Пигменты.

Рост колоний синегнойной палочки.



Рост чистой культуры Micrococcus roseus



Рост чистой культуры S. aureus

# Метод Дригальского 3-й этап.

Задача 3 этапа – идентификация- определение вида – выделенной чистой культуры по комплексу биологических свойств:

- Морфологических
- Тинкториальных
- Культуральных
- Биохимических
- Антигенных
- Токсигенных
- Чувствительности к антибиотикам и др. лекарственным препаратам
- Чувствительности к типовым диагностическим фагам

# Метод Дригальского 3-й этап. Изучение ферментативной активности.

- Биохимическая идентификация выделенной чистой культуры заключается в определении спектра ее ферментативной активности

# Пример определения ферментативной активности на тест-системах api

Тест-система с сухими дифференциально-диагностическими средами заполняется суспензией из чистой культуры бактерий и инкубируется в термостате

аншет

Вид системы для энтеробактерий после инкубации. Верхний планшет – все тесты положительны, нижний – все отрицательны.

Вид системы для стафилококков после инкубации. Верхний планшет – все тесты положительны, нижний – все отрицательны.

## *Интерпретационная таблица*

| Тесты | Субстраты | Реакции/ферменты | Результат отрицательный | Результат положительный |
|---|---|---|---|---|
| ONPG | орто-нитрофенил-галактозид | В-галактозидаза | бесцветный | желтый |
| ADN | аргинин | Аргинин-дегидролаза | желтый | красный/оранжевый |
| LDC | лизин | Лизин-декарбоксилаза | желтый | Оранжевый/красный |
| ODC | орнитин | Орнитин-декарбоксилаза | желтый | красный/оранжевый |
| CIT | цитрат Na | Утилизация цитрата | светло-зеленый/желтый | синий |
| $H_2S$ | тиосульфат Na | Образование $H_2S$ | бесцветный | черный осадок |
| URE | мочевина | Уреаза | желтый | красный/оранжевый |
| TDA | триптофан | Триптофан-дезаминаза | желтый | темно-коричневый |
| IND | триптофан | Индолообразование | светло-зеленый/желтый | красный |
| VP | пируват Na | Продукция ацетоина | бесцветный | розовый/красный |
| GEL | желатина | Желатиназа | бесцветный | черный |
| GLU | глюкоза | Ферментация/окисление | синий/сине-зеленый | желтый |
| INO | инозит | - « - « - | - « - | - « - |
| MAN | маннит | - « - « - | - « - | - « - |
| SOR | сорбит | - « - « - | - « - | - « - |
| RHA | рамноза | - « - « - | - « - | - « - |
| SAC | сахароза | - « - « - | - « - | - « - |
| MEL | мелибиоза | - « - « - | - « - | - « - |
| AMY | амигдалин | - « - « - | - « - | - « - |
| ARA | арабиноза | - « - « - | - « - | - « - |

# ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНО-ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ НЕКОТОРЫХ РОДОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ.

| Биохимические тесты | ONPG | ADN | LDC | ODC | CIT | $H_2S$ | URE | TDA | IND |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Escherichia | + | - | ± | ± | - | - | - | - | + |
| Salmonella | - | - | ± | ± | - | ± | - | - | - |
| Shigella | ± | - | - | - | - | - | - | - | ± |
| Proteus | - | - | - | ± | ± | + | + | ± | ± |
| Klebsiella | + | - | + | - | + | - | ± | - | - |

| Биохимические тесты | VP | GEL | GLU | MAN | INO | SOR | RHA | SAC | MEL | AMY | APA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Escherichia | - | - | + | + | - | + | + | ± | + | - | + |
| Salmonella | - | - | + | + | - | ± | ± | - | ± | - | ± |
| Shigella | - | - | + | ± | - | ± | ± | - | - | - | ± |
| Proteus | - | ± | + | - | - | - | - | ± | - | ± | - |
| Klebsiella | + | - | + | + | + | + | + | + | + | + | + |