***<u>Тема</u>**: Метод Дригальского: этапы выделения чистой культуры и ее идентификации*

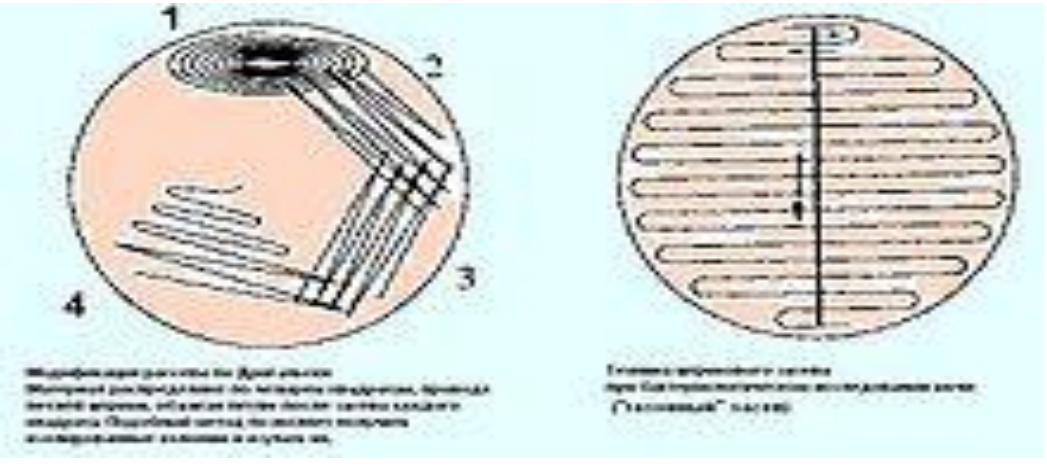
- Выделение чистой культуры бактерий – обязательный этап бактериологичекого исследования в лабораторной диагностике.
- Метод Дригальского основан на механическом разобщении клеток.

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

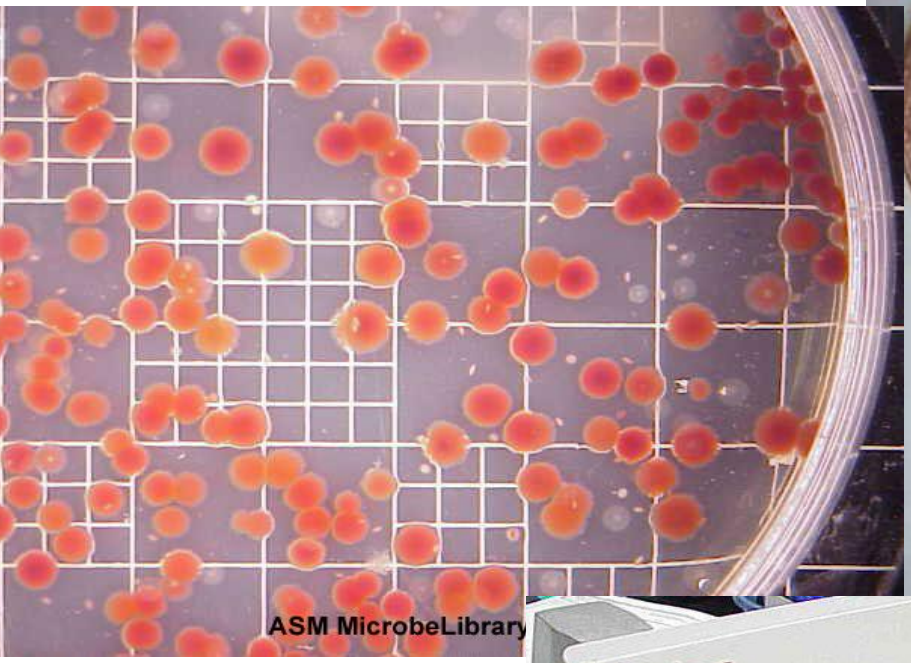


Посевы «газоном» производят на плотную питательную среду в чашке Петри. Для этого, приоткрыв левой рукой крышку, петлёй или пипеткой наносят посевной материал на поверхность питательного агара по методу Дригальского.

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.

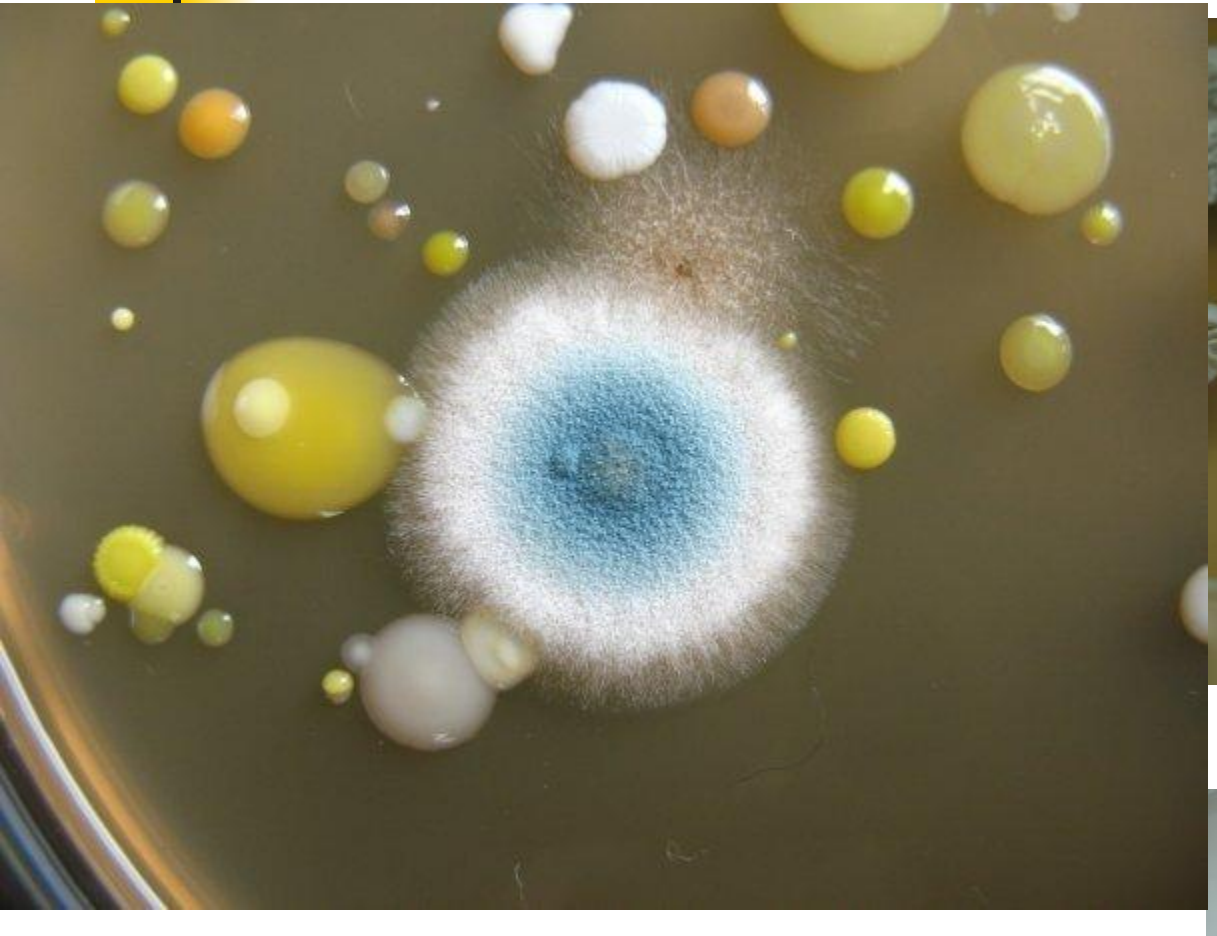


Подсчет колоний

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

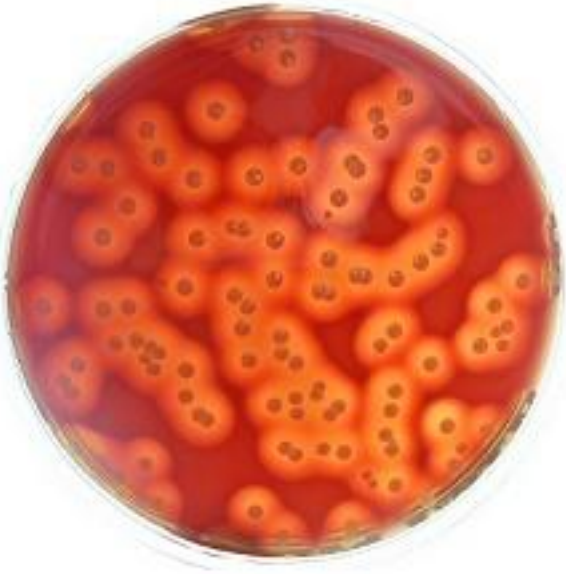
Культуральные свойства бактерий (продолжение)



Streptomyces

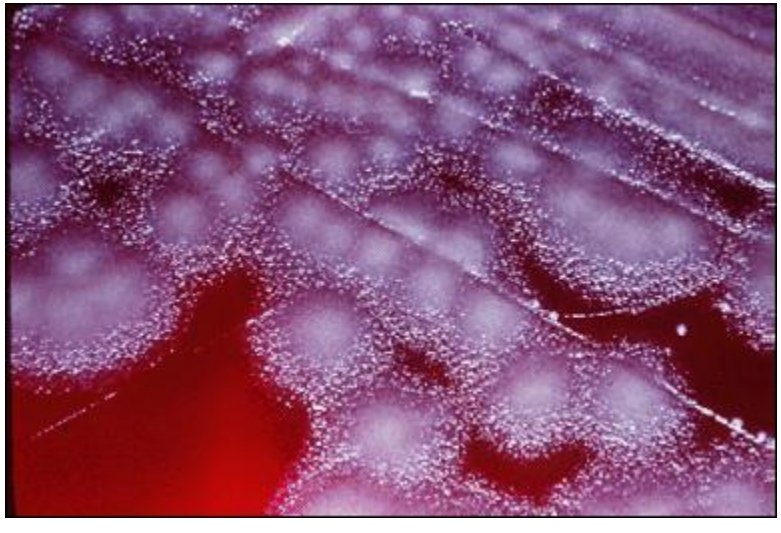
Рост изолированных колоний

Klebsiella pneumoniae



S.aureus на кровяном агаре

Культуральные свойства бактерий (продолжение)

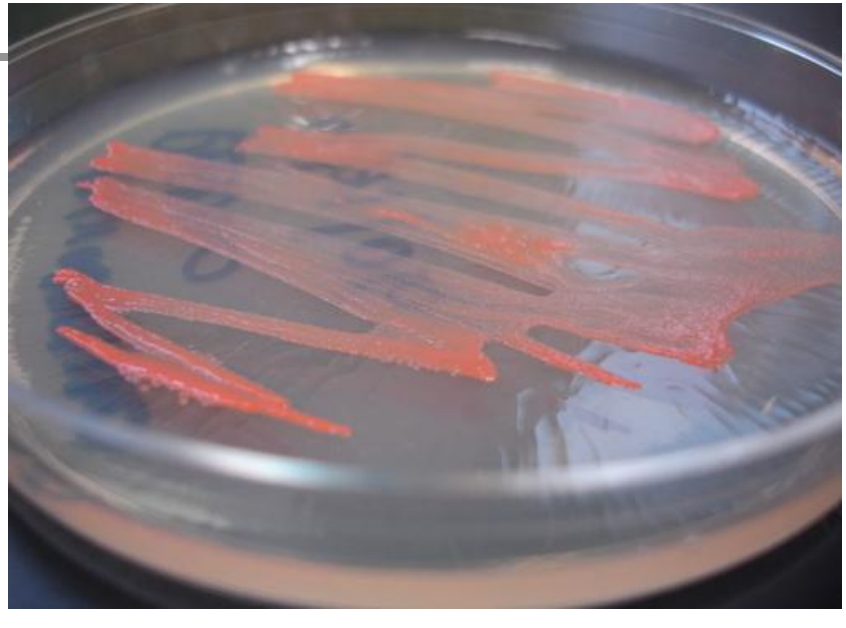


Колонии *Bacillus anthracis* *«голова медузы»*

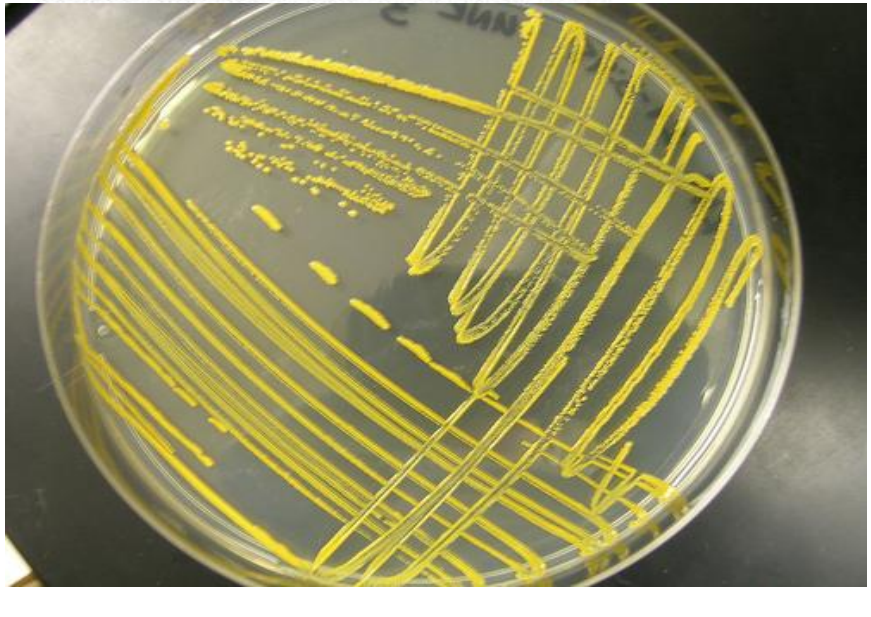
Колонии *возбудителя чумы Y.pestis* *«кружевной платочек»*

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	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+