

Лабораторная работа - 3

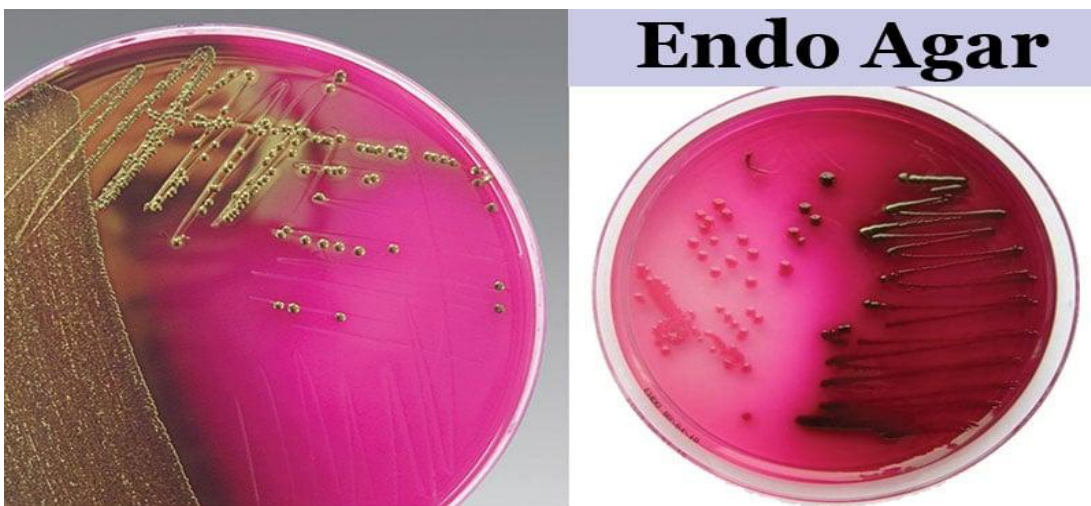
1. Окрашивание *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *H. influenzae*.

2. Ферментация лактозы на среде Эндо. Среда Эндо — это дифференциально-диагностическая среда, которая используется для дифференциации энтеробактерий по их способности ферментировать лактозу.

Процедура: Микробная культура высевается на среду Эндо (в чашку Петри) и инкубируется в термостате при температуре 37°C в течение 18-24 часов.

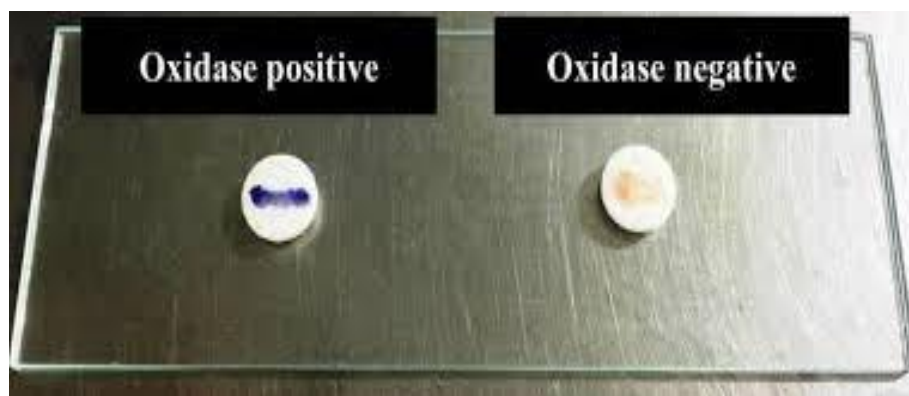
Интерпретация: Идентификация бактерий проводится по цвету колоний.

Результат	Визуальная картина	Интерпретация	Пример
Лактозоположительные (+)	Темно-красные колонии с металлическим (золотистым/зеленоватым) блеском.	Бактерия ферментирует лактозу	<i>Escherichia coli</i>
Лактозоотрицательные (-)	Бесцветные, прозрачные или бледно-розовые колонии.	Бактерия не ферментирует лактозу	<i>Salmonella / Shigella</i>



3. Оксидазный тест - С помощью этого теста идентификация бактерий возможна по наличию или отсутствию **цитохрома С**. Отсутствие цитохрома С позволяет отличить семейство *Enterobacteriaceae* от других грамотрицательных бактерий. Также тест используется для дифференциации *Pseudomonas aeruginosa* от других неферментирующих бактерий.

Процедура: Возьмем колонию с чашки Петри и перенесем её на фильтровальную бумагу, на которую предварительно нанесен оксидазный реагент. Посинение бумаги через 10 секунд указывает на положительный результат. **Для сравнения используем:** *Pseudomonas aeruginosa* (ox+) и *Escherichia coli* (ox-).



4. Тест на индол.

Индольный тест в бактериологии широко используется для определения способности бактерий расщеплять аминокислоту триптофан с помощью фермента **триптофаназы**. Этот тест имеет решающее значение для идентификации представителей семейства Enterobacteriaceae (например, *E. coli*). Бактерии, продуцирующие фермент триптофаназу, гидролизуют триптофан, в результате чего образуется индол.

Процедура: обнаружение индола проводится с помощью реактива Ковача (Kovacs) или реактива Эрлиха (Ehrlich), которые при взаимодействии с индолом образуют красное/вишнёво-красное кольцо.

Для проведения теста необходимо:

Питательная среда: бульон, богатый триптофаном (например, Peptone Water или Tryptone Broth).

Реактив: реактив Ковача (Kovacs' reagent).

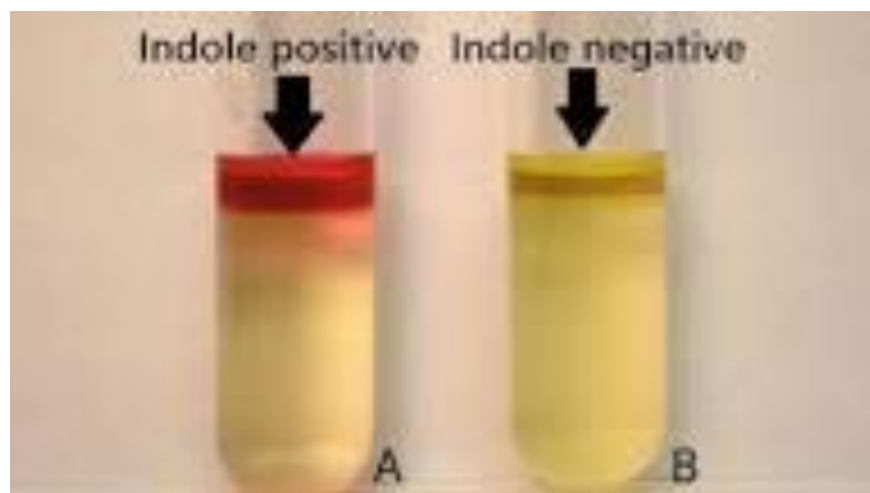
- Берём чистую культуру исследуемой бактерии (18–24-часовой рост).
- Проводим инокуляцию бактерии в триптофановый бульон с использованием стерильной петли.
- Пробирку закрываем крышкой (не герметично).
- Помещаем пробирку в термостат при температуре 35–37°C на 24–48 часов.

Проведение теста (добавление реактива):

- После инкубации добавляем в пробирку 0,5 мл (примерно 5 капель) реактива Ковача.
- Осторожно встряхиваем пробирку.
- Через 2–5 минут наблюдаем изменение цвета на поверхности жидкости.

Интерпретация:

Результат	Визуальная картина	Интерпретация	Пример
Положительный (+)	На поверхности образуется красное/вишнёво-красное кольцо.	Бактерия продуцирует триптофаназу.	<i>Escherichia coli</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
Отрицательный (–)	На поверхности сохраняется цвет реактива (жёлтый/оранжевый).	Индол не образуется.	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Salmonella</i> spp.



Контроль качества

Для проверки точности теста используются контрольные штаммы:

- Положительный контроль: *Escherichia coli* ATCC 25922.
- Отрицательный контроль: *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883.

5. API 20E — это система идентификации бактерий кишечной группы и других грамотрицательных палочек. API 20E (Analytical Profile Index) представляет собой стандартизированную систему.

Принцип

Стрип состоит из 20 микропробирок, содержащих дегидратированные субстраты. В лунки вносится бактериальная суспензия, которая вступает в реакцию с соответствующими субстратами. Во время инкубации происходит изменение цвета, которое определяется либо непосредственно, либо после добавления реагентов. На основании числовых кластеров, полученных из этих тестов, проводится идентификация различных штаммов.

Интерпретация

Считывание реакций производится с использованием соответствующей интерпретационной таблицы. Путём суммирования положительных результатов получают цифровой профиль, по которому в электронной версии определяется род и вид возбудителя.



6. Тест с КОН

В дерматологии КОН-тест — это быстрый и простой диагностический метод, применяемый для выявления грибковых инфекций кожи, ногтей и волос. В бактериологии КОН-тест (также известный как 3% тест с гидроксидом калия) используется с совершенно иной целью, чем в дерматологии. Он представляет собой быструю альтернативу или вспомогательный метод по сравнению с окраской по Gram stain.

Его основная цель — разделение бактерий на две группы: грамположительные и грамотрицательные.

Преимущества КОН-теста по сравнению с окраской по Граму:

- **Быстрота** — не требует фиксации, окрашивания и длительного промывания (как при окраске по Граму).
- **Точность при старых культурах** — иногда старые грамположительные бактерии при окраске могут выглядеть как грамотрицательные (ложный результат). В таких случаях КОН-тест более надёжен, так как он непосредственно реагирует на толщину клеточной стенки.

Процедура: тест очень простой и занимает всего 60 секунд:

- На предметное стекло наносят 1 каплю 3%-ного раствора КОН.
- Бактериологической петлёй вносят в раствор чистую культуру бактерий.
- Интенсивно перемешивают в течение 30–60 секунд.
- Медленно поднимают петлю вверх.

Интерпретация:

- **Положительная реакция (грамотрицательные бактерии):** раствор становится вязким, и при поднятии петли образуется липкая «нить». Это означает, что клетки лизировались и высвободилась ДНК.
- **Отрицательная реакция (грамположительные бактерии):** консистенция раствора не изменяется, он остаётся жидким, «нить» не образуется.

