

Среда для селективного выделения и предварительной идентификации
кишечных энтерококков методом мембранной фильтрации

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Триптон	17,0	Бычья желчь	10,0
Дрожжевой экстракт	5,0	Хлорид натрия	5,0
Пептон	3,0	Эскулин	1,0
Цитрат аммонийного железа	0,5	Азид натрия	0,15
Бактериологический агар	15,0		

Конечная величина pH 7,1 ± 0,1 при 25°C

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Развести 56,6 г среды в 1 литре дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Разлить в емкости и стерилизовать 15 минут при 121°C. Перегрев может вызвать потемнение среды. При использовании пробирок дать среде затвердеть в наклонном положении. Готовая среда имеет оливково-зеленый цвет с синим оттенком, слегка опалесцирует и должна храниться при 8–15°C.

Осторожно! Среда токсична при проглатывании, вдыхании и попадании на кожу. Надевать защитные перчатки, очки/маску.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Агар с желчью, эскулином и азидом – модификация агара с желчью и эскулином с добавлением азид натрия в качестве ингибитора при уменьшенной концентрации желчи. Получившаяся среда более селективна, но, тем не менее, обеспечивает быстрый рост и эффективное выделение *энтерококков*. Характерной особенностью энтерококков является способность гидролизовать эскулин в присутствии желчи. Организмы, положительные по гидролизу эскулина, расщепляют этот гликозид до эскулетина и декстрозы. Эскулетин взаимодействует с цитратом железа, что приводит к образованию темно-коричневых или черных колоний. Бычья желчь не ингибирует *энтерококки*, тогда как другие грамположительные бактерии ингибируются. Азид натрия является ингибитором грамотрицательных бактерий. Триптон, пептон и дрожжевой экстракт являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: азота, витаминов, минеральных солей и аминокислот. Хлорид натрия поддерживает осмотический баланс.

Присутствие кишечных *энтерококков* (фекальных *стрептококков*) – индикатор кишечной инфекции, особенно в случае, если заражение произошло достаточно давно, и менее устойчивые колиформные бактерии, включая *Escherichia coli*, могли погибнуть к моменту проведения анализа.

Устойчивость к желчи и способность к гидролизу эскулина представляют собой надежный предварительный тест для идентификации *энтерококков*. Коричневый цвет (положительная реакция) вокруг колоний появляется через 18–24 часа инкубации при температуре 35±2°C.

Для подтверждения присутствия *энтерококков*, согласно ISO 7899-2, нужно, не переворачивая, перенести мембранный фильтр на чашку с Агаром с желчью, эскулином и азидом, предварительно нагретым до 44°C, и инкубировать 2 часа при 44±0,5°C, после чего сразу произвести учет результатов.

Реакция теста считается положительной в случае образования коричнево-черного пространства среды вокруг колоний. Такие колонии следует принимать за кишечные *энтерококки*.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды на тестовых культурах после инкубации при температуре $35\pm 2^\circ\text{C}$ и наблюдались через 18–24 часа.

Микроорганизмы	Рост	Эскулин
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 11700*	Хороший	+
<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 8043*	Хороший	+
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 12344	Ингибируется	–
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Ингибируется	–
*Инкубировать 2 часа при $44\pm 0,5^\circ\text{C}$ (ISO 7899-2).		