

Среда для культивирования *анаэробных микроорганизмов*

ФОРМУЛА В ГРАММАХ НА ЛИТР

Триптиказеино-соевый бульон	10,0	Пептоновая смесь	5,0
Декстроза	5,0	Дрожжевой экстракт	5,0
Трис (гидрокси метил аминотетан)	3,0	Гемин	0,01
L-цистин	0,4	Бактериологический агар	13,5

Конечная величина pH $7,6 \pm 0,2$ при 25°C

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Развести 41,9 г среды в 1 литре дистиллированной воды. Тщательно перемешать и нагреть. Часто помешивая, довести до кипения. Кипятить в течение минуты до полного растворения. Стерилизовать 15 минут при 121°C. Охладить до 45–50°C и, при необходимости, добавить 5% стерильной дефибринированной крови, избегая при этом образования пузырей. Осторожно перемешать и разлить в чашки Петри. Готовая среда имеет янтарную окраску, слегка опалесцирует, должна храниться при 8–15°C.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Агар Шадлера стимулирует рост анаэробов, выделенных из желудочно-кишечного тракта и других органов, независимо от сопутствующей аэробной флоры, благодаря его высоким питательным свойствам и низкому окислительно-восстановительному потенциалу. В нормальных условиях размножение анаэробов сокращается из-за быстрого роста *энтерококков*, *E. coli*, *Enterobacter spp.* и других кишечных факультативных бактерий.

Хотя тиогликолят широко используется для снижения окислительно-восстановительного потенциала, что способствует развитию анаэробов, было доказано, что он является ингибитором других организмов. В этом случае среда должна содержать цистин, который вместе с декстрозой действует в качестве восстанавливающего агента. Триптиказеино-соевый бульон, пептон и дрожжевой экстракт являются источниками питательных веществ, необходимых для роста микроорганизмов: витаминов, азота, минеральных солей и аминокислот. Декстроза – ферментируемый углевод, источник углерода и энергии. Трис (гидрокси метиламинометан) используется в качестве буферной системы. Гемин стимулирует рост организмов. L-цистин – восстанавливающий агент. При анализе пищевых продуктов рекомендуется принимать во внимание методы культивирования анаэробных организмов.

Развести определенное количество пробы в известном объеме физиологического раствора. Взять небольшую аликвоту и сделать серийные разведения. С помощью калиброванной петли засеять попарно предварительно подсушенные чашки и инкубировать в течение необходимого времени при соответствующей температуре. Для подсчета выбрать чашки, содержащие от 30 до 100 колоний.

Для подсчета *Enterococcus faecalis* (аэроб и факультативный анаэроб), который является индикатором фекального загрязнения, Агар Шадлера можно использовать следующим образом: инокулировать суспензию пищевого образца (замороженный образец предварительно нагреть) штрихом на поверхность агара. Инкубировать в аэробных условиях при 25°C и 35°C от 24 до 48 часов, подсчитать *E. faecalis* (указывает на фекальное заражение). При тестировании образцов мясных продуктов, прошедших предварительную обработку, также инокулировать основную среду (с добавлением неомидина) для определения присутствия и количества *Clostridium welchii*. Инкубировать в анаэробных условиях. Агар Шадлера при добавлении селективных компонентов может использоваться для выделения и восстановления *Lactobacillus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Clostridium spp.*, *Bacteroides spp.* и *Flavobacterium spp.* из фекалий и содержимого кишечного тракта.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ ТЕСТ

Следующие результаты были получены при использовании среды на тестовых культурах после анаэробной инкубации при температуре $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ и наблюдались через 24–48 часов.

Микроорганизмы	Рост
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Хороший
<i>Clostridium butyrium</i> ATCC 9690	Хороший
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Хороший
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший