

Бактериологический метод

Product Categories: [Обзор](#)

Product Page:

<http://ivdvlmedia.ru/shop/mikrobiologicheskaya-diagnostika/bakteriologiya/bakterioskopicheskij-metod/obzor-bakterioskopicheskij-metod/bakteriologicheskij-metod/>

Product Summary

см. ниже описание

Product Description

Бактериологический метод

Бактериологическое исследование основано на культивировании бактерий на питательных средах, выделении чистой культуры возбудителя и ее идентификации.

Чистой культурой называют популяцию микроорганизмов одного вида, как правило выращенную из изолированной колонии на плотной питательной среде. Разрешающая способность метода составляет в среднем 1000 клеток в 1 мл. Известно, что возбудители инфекционных болезней в организме человека, животных и во внешней среде находятся преимущественно в смеси с другими микроорганизмами (в том числе условно-патогенными и сапрофитами). Выделение чистой культуры позволяет выявить ее морфологические, культуральные, биохимические и другие признаки, по совокупности которых определяют видовую принадлежность возбудителя, т. е. осуществляют его идентификацию. Существуют следующие принципы и методы выделения чистых культур бактерий.

На принципе механического разобщения микроорганизмов основаны следующие методы:

- серийных разведений в жидкой питательной среде (метод Пастера);
- пластинчатых разведений (метод Коха);
- посева по поверхности плотной питательной среды (метод Дригальского);
- выделения чистой культуры из одной клетки с помощью микроскопа и микроманипулятора.

На принципе использования биологических особенностей микроорганизмов основаны методы:

- выделения бактерий по их подвижности;
- выделения термоустойчивых бактерий;
- выделения анаэробов;
- выделения кислото- и щелочеустойчивых микроорганизмов;
- выделения микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам, анилиновым красителям и др.;
- выделения бактерий на элективных средах;
- выделения культур путем заражения восприимчивых лабораторных животных и др.

Выбор метода культивирования, состава питательной среды зависит главным образом от типа питания и дыхания (биологического окисления) микроорганизмов. Наиболее распространенный способ посева исследуемого материала с целью выделения чистой культуры: механическое разобщение клеток микроорганизмов по поверхности плотной питательной среды с помощью бактериологической петли.

Питательные среды

Для роста и размножения бактерии нуждаются в питательных веществах: им необходимы источники углерода, азота, витамины, минералы и другие соединения сложного и простого состава. Большинство бактерий, имеющих медицинское значение, являются гетерохемоорганотрофами, которые питаются по законам осмоса. Кроме того, среди бактерий встречаются как легко культивируемые, так и требовательные к питательным веществам микроорганизмы (прихотливые), которым необходимы дополнительные факторы роста.

Питательные среды готовят из продуктов животного или растительного происхождения. Состав сред определяется метаболическими потребностями той или иной группы бактерий.

Все питательные среды должны отвечать следующим требованиям:

- содержать основные питательные вещества в легкоусвояемой форме;
- быть влажными, изотоничными и нетоксичными (для исследуемых микробов);
- иметь определенную вязкость;
- иметь оптимальный показатель рН и окислительно-восстановительный (редокс) -потенциал;
- обладать буферными свойствами; быть стерильными; по возможности быть прозрачными.

Среды различают: по консистенции (жидкие, полужидкие, плотные); по составу (простые и сложные); по целевому назначению (основные, консервирующие, транспортные, накопительные, селективные, дифференциально-диагностические, специальные — обогащенные, среды для хранения). Особой группой являются питательные среды для культивирования анаэробов. Кроме того, для научных исследований, а также промышленного культивирования микроорганизмов часто применяют синтетические среды (среды с точно известным химическим составом).

Основные среды (МПБ, МПА) — простые по составу и применяются для культивирования большинства неприхотливых бактерий. Содержат: мясной экстракт, пептон, хлорид натрия (МПА дополнительно содержит агар-агар).

Обогащенные среды можно приготовить на основе простых, включив в их состав кровь, гемин, сыворотку, асцитическую жидкость и др. Такие среды используют для культивирования бактерий со

Часто используемые питательные среды
Тип среды
Пример среды жидкой плотной
Основная (простая, универсальная) Мясо-пептонный бульон Мясо-пептонный агар
Среда специального назначения (сложная): обогащенная (специальная) Сахарный бульон, сывороточный бульон, асцитический бульон и т.д. Сахарный агар, сывороточный агар, кровяной агар и т.д. селективная Щелочная лептонная вода, желчный бульон, среды с антибиотиками и т.д. Солевой агар, желточно-солевой агар (ЖСА), среды с антибиотиками и т.д. накопительная Селенитовый бульон, полужидкая среда для контроля стерильности (СКС) и др. Нет дифференциально-диагностическая Среды Тисса Агары Эндо, Левина, Олькеницкого, среды Тисса (полужидкие) и др. Транспортная и консервирующая среды Среда Амиеса (полужидкий агар с активированным углем), глюкозо-дрожжевая среда, СКС и др. Среда для хранения культур Глицерин (для хранения при -20 °С) Среда Дорсе и др. сложными питательными потребностями (прихотливых микроорганизмов).

Накопительные среды — это жидкие питательные среды, которые применяют при необходимости накопить в них бактерии определенной группы в результате их преимущественного размножения по сравнению с сопутствующими микробами.

Состав этих сред подбирают таким образом, чтобы рост сопутствующей флоры частично или полностью был задержан.

Селективные (элективные) среды используют для избирательного культивирования микроорганизмов определенных видов при подавлении роста других микроорганизмов. Такой эффект достигается при добавлении различных ингибиторов роста микробов, изменении показателя рН, состава питательных веществ в среде и др.

Дифференциально-диагностические среды позволяют различать бактерии по их росту, биохимической активности и другим признакам. В состав этих сред, кроме питательных веществ, обычно включают субстрат, по отношению к которому дифференцируются бактерии, и индикатор. В результате культивирования микробы, ферментирующие субстрат, способствуют накоплению продуктов расщепления, сдвигу рН, редокс-потенциала среды, что сопровождается окрашиванием среды и собственных колоний в цвет индикатора.

К дифференциально-диагностическим относят также комбинированные полиуглеводные среды (Рассела, Клигера, трехсахарный железосодержащий агар, Олькеницкого и др.). Например, среда Олькеницкого содержит: 100 мл МПА, 1 г лактозы, 1 г сахарозы, 0,1 г глюкозы, 1 г мочевины, 0,02 г соли Мора, 0,003 г тиосульфата натрия, 0,4 мл фенолового красного (0,4%-го раствора); рН 7,2-7,4.

Дифференциально-диагностические среды обычно являются плотными, реже полужидкими; в своем составе они имеют несколько ферментируемых субстратов и индикаторных систем, что позволяет использовать их не только для накопления чистой культуры в процессе ее выделения (см. ниже), но и одновременно проводить первичную идентификацию культуры по ряду фенотипических признаков. Так, на трехсахарном железосодержащем агаре можно определить способность культуры к продукции сероводорода, ферментацию глюкозы (до кислоты или кислоты и газа), лактозы, сахарозы.

Транспортные и консервирующие среды применяют для временного сохранения микроорганизмов после взятия исследуемого материала и при транспортировке его в лабораторию. Обычно эти среды содержат только буферные и солевые растворы (иногда агар-агар, активированный уголь, твин-80 — для придания полужидкой консистенции и нейтрализации токсических воздействий); они не предназначены для культивирования микробов.

Среды для хранения культур предназначены для длительного сохранения чистых культур микроорганизмов в условиях лаборатории. Основным требованием для них является способность длительного поддержания жизнеспособности без изменения основных свойств культур.

Одним из важных моментов в работе по выделению возбудителя из исследуемого объекта является взятие, хранение и транспортировка материала.

При взятии материала для проведения бактериологического исследования следует учитывать следующее:

- а) выбор биологического материала для исследования определяется локализацией предполагаемого возбудителя на данном этапе болезни. В случае отсутствия или неопределенности локальных очагов исследуют кровь. Брать материал следует непосредственно из очага инфекции или исследовать соответствующее отделяемое (гной, мочу, желчь и т.п.);
- б) брать материал рекомендуется до начала антибактериальной терапии или через определенный промежуток времени после введения препарата, необходимого для его выведения из организма (от 8 ч до 3 сут в зависимости от препарата и предполагаемого возбудителя);
- в) брать материал нужно во время наибольшего содержания в нем возбудителей заболевания (например, кровь для выделения гемокультуры при повышении температуры в начале периода озноба и т.д.);
- г) следует соблюдать правила асептики (во избежание контаминации пробы микрофлорой окружающей среды и представителями нормальной микрофлоры тела);
- д) отбор материала для выделения аэробов и факультативных анаэробов производят стерильными ватными тампонами (отделяемое из раны, мази со слизистых оболочек, из глаза, носа, зева, цервикального канала, влагалища, анального отверстия), специальными приспособлениями (петлями, трубками, щетками и др.), шприцем (кровь, гной, экссудаты), непосредственно в стерильную посуду (моча, мокрота, фекалии);
- е) материал для выделения строгих анаэробов получают из патологического очага путем пункции шприцем, из которого предварительно удален воздух, при исследовании кусочков ткани их берут из глубины очага. При необходимости использовать тампоны их нужно сразу же после взятия материала погружать в транспортную среду;
- ж) количество материала должно быть достаточным для исследования и его повторения в случае необходимости; при низкой концентрации возбудителя стараются взять большое количество материала;
- з) транспортировку нативного клинического образца материала в лабораторию следует производить в максимально короткие сроки, так как при длительном его хранении происходит гибель многих видов возбудителей, начинают размножаться менее требовательные и быстро растущие виды, что приводит к нарушению количественного соотношения видов микробов. Если материал нельзя немедленно транспортировать в лабораторию, следует использовать транспортные среды или поместить материал в условия бытового холодильника (приемлемо не для всех возбудителей). Материал для микробиологического исследования транспортируют в специальных биксах, пеналах и т.п.;
- и) клинические образцы для культивирования анаэробов следует транспортировать в лабораторию, максимально защищая их от воздействия кислорода воздуха (используют специальные герметично закрытые флаконы, заполненные бескислородной газовой смесью или специальной транспортной средой, в которую вносят исследуемый материал уколом иглы через резиновую пробку флакона; материал можно транспортировать прямо в шприце, на кончик которого надета стерильная резиновая пробка);
- к) к клиническому образцу, направляемому в лабораторию, прилагают сопроводительный документ, содержащий основные сведения, необходимые для проведения микробиологического исследования (характер материала, Ф.И.О. больного, название учреждения или отделения, номер истории болезни, предполагаемый диагноз заболевания, предшествующая антимикробная терапия, дата и время взятия материала, подпись врача, направляющего материал для исследования).