



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12N 1/20 (2019.08); C12Q 1/04 (2019.08)

(21)(22) Заявка: 2019126972, 26.08.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
26.08.2019

Дата регистрации:
26.02.2020

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 26.08.2019

(45) Опубликовано: 26.02.2020 Бюл. № 6

Адрес для переписки:
344000, г. Ростов-на-Дону, пер. Газетный, 119/
262/157, ФБУН РостовНИИ микробиологии и
паразитологии

(72) Автор(ы):
Голошва Елена Владимировна (RU),
Алешукина Анна Валентиновна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное бюджетное учреждение науки
"Ростовский научно-исследовательский
институт микробиологии и паразитологии"
(RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: SU 1351975 A1, 15.11.1987. ВУ 11975,
19.11.2007. ЮНУСОВА Р.Ю., Разработка
хромогенных питательных сред для
выделения и ускоренной идентификации
условно патогенных энтеробактерий, Автореф.
дисс. на соискание уч. степ. кандидата
биологических наук, Махачкала, 2011, с. 8-22.
RU 2534342 C2, 27.11.2014.

(54) Питательная среда для выделения и идентификации неферментирующих бактерий

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицинской микробиологии. Питательная среда для выделения и идентификации неферментирующих бактерий содержит питательный бульон сухой, экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред, Д-глюкозу, Д-галактозу, натрия хлорид, натрий серноватистоокислый, железо (III) лимоннокислое водное, натрий углекислый, натрий сернистоокислый, феноловый красный,

бромтимоловый синий, кальций углекислый, агар микробиологический и дистиллированную воду при заданных количествах компонентов. Изобретение позволяет дифференцировать неферментирующие бактерии от ферментирующих с одновременной первичной дифференциацией различных представителей бактерий по изменению цвета среды и/или цвета колоний. 3 табл., 3 пр.

RU 2 715 329 C1

RU 2 715 329 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
C12N 1/20 (2019.08); *C12Q 1/04* (2019.08)

(21)(22) Application: **2019126972, 26.08.2019**

(24) Effective date for property rights:
26.08.2019

Registration date:
26.02.2020

Priority:

(22) Date of filing: **26.08.2019**

(45) Date of publication: **26.02.2020** Bull. № 6

Mail address:

**344000, g. Rostov-na-Donu, per. Gazetnyj, 119/262/
157, FBUN RostovNII mikrobiologii i parazitologii**

(72) Inventor(s):

**Goloshva Elena Vladimirovna (RU),
Aleshukina Anna Valentinovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki
"Rostovskij nauchno-issledovatel'skij institut
mikrobiologii i parazitologii" (RU)**

(54) **NUTRIENT MEDIUM FOR SEPARATION AND IDENTIFICATION OF NON-FERMENTING BACTERIA**

(57) Abstract:

FIELD: microbiology.

SUBSTANCE: invention relates to medical microbiology. Nutrient medium for separation and identification of non-fermenting bacteria contains nutrient broth dry, extract of fodder yeast for microbiological nutrient media, D-glucose, D-galactose, sodium chloride, sodium thiosulphate, iron (III) citric acid hydrate, sodium carbonate, sodium sulphate, phenol

red, bromothymol blue, calcium carbonate, microbiological agar and distilled water at preset amounts of components.

EFFECT: invention allows to differentiate non-fermenting bacteria from fermenting with simultaneous primary differentiation of different bacteria according to color change of medium and / or colony color.

1 cl, 3 tbl, 3 ex

Изобретение относится к области медицинской микробиологии и может быть использовано для выделения и идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФБ) из клинического материала: отделяемого ран, мокроты, мочи, кала, с подозрением на загрязнение нормальной микрофлорой.

5 Неферментирующие грамотрицательные бактерии являются одними из основных возбудителей внутрибольничных инфекций (ВБИ). Частота возникновения обусловленных НФБ внутрибольничных инфекций достигает 15% от всех ВБИ, связанных с аэробными и факультативно-аэробными грамотрицательными бактериями. При этом их видовой состав в последние годы существенно расширился.

10 Выделение штаммов НФБ на простых питательных средах типа мясо-пептонного агара или кровяного осложнено, поскольку в этих средах сильнее разрастаются культуры *Staphylococcus* и других сопутствующих бактерий, маскирующих присутствие НФБ, при этом идентификация НФБ на указанных средах также затруднена в связи с малой ферментативной активностью данных штаммов и относительной близостью их

15 морфологических и культуральных признаков.

Для выделения штаммов НФБ, таких, как *Pseudomonas aeruginosa*, из клинических образцов и для дифференцирования их от других псевдомонад на основании формирования пигмента пиоцианина используют BD *Pseudomonas Isolation Agar* (агар для выделения псевдомонад. Агар содержит пептон *Vacto* (источник углерода и азота),

20 противомикробный агент иргазан (*Irgasan*), избирательно ингибирующий сопутствующие грамположительные и грамотрицательные бактерии, в качестве источника энергии глицерин, способствующий выработке пигмента пиоцианина, а также хлорид магния и сульфат калия, способствующие формированию синего или сине-зеленого пигмента пиоцианина от *P. aeruginosa*. Данный пигмент диффундирует в среду, окружающую зону

25 роста (Инструкции по применению - готовая к использованию среда в чашках РА-257002.04 Ред.: April 2013 <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=25359>)

Для выделения и идентификации НФБ используют также дифференциально-диагностические среды нового поколения - флюорогенные и хромогенные, позволяющие

30 идентифицировать различные микроорганизмы непосредственно в процессе культивирования на питательных средах на этапе первичного посева. Принцип действия указанных сред основан на выявлении высокоспецифичных ферментов у искомым микроорганизмов. В состав этих сред входит хромогенный субстрат - вещество, при расщеплении которого ферментами, специфичными для определенного вида микроорганизмов, образуются окрашенные и/или флюоресцирующие продукты. В

35 результате колонии искомым микроорганизмов и/или среда окрашиваются в определенный цвет, или приобретают способность к флюоресценции при ультрафиолетовом облучении.

Известна основа ХайФлюоро агара для *Pseudomonas aeruginosa* - HiFluoro *Pseudomonas Agar Base* (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия), предназначенная для селективного

40 выделения и идентификации бактерий *P. aeruginosa* из клинического материала флюоресцентным методом, в состав которой входит цетримид для подавления роста сопутствующих микроорганизмов и флюорогенная смесь. *P. aeruginosa* при росте на среде разрушает флюорогенный субстрат, освобождая флюороген, который дает видимую флюоресценцию при ультрафиолетовом облучении (Инструкция по

45 применению: <http://art-medika.com/catalog/mikrobiologia/chromo/product-487.html> (<http://www.himedialabs.ru/m1469>).

Известны хромогенные питательные среды, предназначенные для выделения неферментирующих бактерий *Burkholderia ceracia* из клинических образцов:

- BD Serasia Medium (Becton Dickinson GmbH Heidelberg/Germany), содержащая источники азота (пептоны, сульфат аммония), фосфаты для поддержания стабильного рН, источник углерода (пируват натрия), факторы роста НФБ (магний, железо), а также ингибиторы для подавления сопутствующей микрофлоры (соли желчных кислот, кристаллический фиолетовый, тикарциллин и полимиксин В), и, в качестве индикатора рН - феноловый красный. В процессе метаболизма пирувата натрия происходит накопление ионов натрия, вызывающих повышение рН, что приводит к изменению цвета среды с желто-оранжевого на розовый или красный вокруг колоний *V. serasia* и интенсивно-розовый в областях плотного роста (BD Serasia Medium BD OFPBL Agar Инструкции по применению - готовая к использованию среда в чашках РА-254481.04 Ред.: Oct 2014: <http://www.bd.com/resource.aspx?IDX=25339>):

- BD OFPBL Agar (Becton Dickinson GmbH Heidelberg/Germany), содержит ингибиторы сопутствующих бактерий (бацитрацин - ингибитор грамположительных микроорганизмов и *Neisseria*, полимиксин В - грамотрицательной микрофлоры), калия гидрофосфат для поддержания стабильного рН, и бромтимоловый синий в качестве индикатора рН. При ферментации лактозы в кислотные продукты, и, соответственно, понижении рН среды индикатор рН бромтимоловый синий изменяет цвет среды с синего на желтый, колонии *V. serasia* также будут иметь желтый цвет. При этом в Инструкции по применению среды приведены ограничения применения среды, заключающиеся в том, что на агаре OFPBL возможен рост других микроорганизмов, например *V. gladioli*, которые внешне похожи на *V. serasia* (желтые колонии), и подчеркнута, что данная среда не должна использоваться в качестве единственной среды для идентификации *V. serasia*. (BD Serasia Medium BD OFPBL Agar Инструкции по применению - готовая к использованию среда в чашках РА-254481.04 Ред.: Oct 2014: www.bd.com/resource.aspx?IDX=25919).

Таким образом, известные питательные среды зарубежного производства, предназначенные для выделения отдельных видов НФБ, не обеспечивают возможности одновременного выделения и идентификации нескольких видов НФБ, особенно при проведении широкомасштабного эпидемиологического мониторинга за ассоциациями штаммов НФБ, циркулирующими внутри стационаров, к тому же являются дорогостоящими.

Известна также отечественная дифференциально-диагностическая среда для выделения неферментирующих грамотрицательных бактерий (SU 1351975), которая содержит селективный агент - 2,3,5-трифенил-тетразолий хлористый и, в качестве индикатора - бромтимоловый синий, и позволяет выделить НФБ из клинического материала и дифференцировать их от ферментирующих сахара энтеробактерий и протеев.

Указанная среда имеет следующий состав:

40

45

Ингредиенты	Концентрация
сухой питательный агар КД	25,0-35,0 г
экстракт кормовых дрожжей агаризованный	1,5-2,5 г
лактоза	4,0-6,0 г
мальтоза	4,0-6,0 г
2,3,5-трифенил-тетразолий хлористый	0,01-0,03 г
бромтимоловый синий водорастворимый	0,05-0,07 г
железо(III) лимонно-амиачное зеленое	1,0-2,0 г
натрий тиосульфат	4,0-6,0 г
алкилбензолсульфонат натрия	0,8-0,9 г
натрий углекислый	0,5-0,65 г
Вода дистиллированная	до 1 л

рН 7,4±0,1

Данная среда, являясь хромогенной, обеспечивает окраску группы неферментирующих бактерий в бордовый цвет, ферментирующих - в желтый цвет, *Proteus mirabilis* формирует колонии черного цвета. Но указанная среда не обеспечивает дифференциацию между отдельными представителями неферментирующих бактерий.

Целью предлагаемого изобретения является дифференциально-диагностическая среда, позволяющая проводить дифференциацию неферментирующих бактерий от ферментирующих и, одновременно, первичную дифференциацию разных представителей неферментирующих бактерий по изменению цвета среды и/или колоний бактерий, и содержащая отечественные ингредиенты.

Поставленная задача достигается введением в состав питательной среды двухкомпонентной индикаторной системы (феноловый красный + бромтимоловый синий), обеспечивающей дифференциацию неферментирующих бактерий от ферментирующих и, одновременно, первичную дифференциацию разных представителей НФБ по изменению цвета колоний и характеру роста. Добавление карбоната кальция предотвращает чрезмерное закисление среды продуктами жизнедеятельности бактерий. Среда содержит отечественные ингредиенты.

Предлагаемая питательная среда (МодСИ - Модифицированная Среда с Индикатором) имеет следующий состав:

Ингредиенты	Концентрация
питательный бульон сухой	20,0 г
5 экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред	1,0 г
Д-глюкоза	1,0 г
10 Д-галактоза	20,0 г
натрия хлорид	5,0 г
натрий серноватистоокислый	0,3 г
15 железо (III) лимоннокислое водное	0,6 г
натрий углекислый	0,5 г
натрий сернистоокислый	0,5 г
20 феноловый красный	0,05 г
бромтимоловый синий	0,05 г
кальций углекислый	5,0 г
25 агар микробиологический	11,0± 2,0 г
дистиллированная вода	до 1 л
рН 7,5±0,1	

30 Способ приготовления питательной среды МодСИ. Для приготовления 1 литра среды навески ингредиентов (питательный бульон сухой, экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред, Д-глюкоза, Д-галактоза, натрия хлорид, натрий серноватистоокислый, железо (III) лимоннокислое водное, натрий углекислый, натрий сернистоокислый, феноловый красный, бромтимоловый синий, кальций углекислый, агар микробиологический) растворяют в небольшом количестве

35 дистиллированной воды, доводят объем до 1 литра, нагревают до кипения до полного растворения ингредиентов; рН среды доводят до 7,5±0,1. Среду МодСИ разливают по флаконам и стерилизуют при 0,5 атм. в течение 30 минут. Готовая среда сиренево-розового цвета, непрозрачная. Перед употреблением флакон со средой расплавляют

40 на кипящей водяной бане и разливают в стерильные чашки Петри по 15-20 мл. Готовые чашки со средой МодСИ хранят при температуре +6 С° в течение недели.

Пример 1. Подбор концентраций индикаторов в составе среды МодСИ Предлагаемая питательная среда МодСИ приготовлена по вышеуказанному способу в 2-х вариантах, отличающихся концентрацией индикаторов: феноловый красный и бромтимоловый синий при добавлении в среду МодСИ использованы в двух концентрациях: по 0,025 г

45 и по 0,05 г.

Вариант 1

	Ингредиенты	Концентрация
	питательный бульон сухой	20,0 г
5	экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред	1,0 г
	Д-глюкоза	1,0 г
10	Д-галактоза	20,0 г
	натрия хлорид	5,0 г
	натрий серноватистоокислый	0,3 г
15	железо (III) лимоннокислое водное	0,6 г
	натрий углекислый	0,5 г
	натрий сернистоокислый	0,5 г
20	феноловый красный	0,025 г
	бромтимоловый синий	0,025 г
	кальций углекислый	5,0 г
25	агар микробиологический	11,0± 2,0 г
	дистиллированная вода	до 1 л

Вариант 2

	Ингредиенты	Концентрация
30	питательный бульон сухой	20,0 г
	экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред	1,0 г
35	Д-глюкоза	1,0 г
	Д-галактоза	20,0 г
	натрия хлорид	5,0 г
40	натрий серноватистоокислый	0,3 г
	железо (III) лимоннокислое водное	0,6 г
45	натрий углекислый	0,5 г

	натрий сернистоокислый	0,5 г
	феноловый красный	0,05 г
5	бромтимоловый синий	0,05 г
	кальций углекислый	5,0 г
	агар микробиологический	11,0± 2,0 г
10	дистиллированная вода	до 1 л

Для определения оптимальных концентраций индикаторов в составе среды использовали следующие тест-штаммы: НФБ - *Pseudomonas aeruginosa* №453, *Burkholderia ceracia* № В-7518, *Stenotrophomonas maltophilia* № В-7520. Указанные тест-штаммы выращивают на скошенном мясо-пептонном агаре (МПА) 24 часа при +37°C, выросшие культуры смывают стерильным изотоническим раствором хлорида натрия (0,85%), готовят взвесь бактерий по оптическому стандарту мутности 10 МЕ и титруют до содержания 1000 мт/мл. 0,1 мл полученной взвеси культур высевают сплошным газоном шпателем Дригальского на 2 варианта предлагаемой среды МодСИ. Посевы инкубируют при +37°C в течение 24 час. Эффективность роста бактерий и дифференцирующие свойства 2 вариантов МодСИ определяют по количеству колониеобразующих клеток (КОЕ) и по изменению цвета колоний и характеру роста.

Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 Подбор концентрации индикаторов в составе среды МодСИ

Тест-штаммы НФБ	Среда МодСИ			
	вариант 1 (концентрация индикаторов 0,025 мл/л)		вариант 2 (концентрация индикаторов 0,05 мл/л)	
	характер роста	КОЕ	характер роста	КОЕ
<i>P.aeruginosa</i>	Серые, 1,5-2,0 мм	90	Черно-фиолетовые с металлическим блеском, 1,5-2,0 мм	91
<i>B.ceracia</i>	Серые, 1,5-2,0 мм	95	Нежные, белые, флюоресцирующие, 1,0-1,5 мм	97
<i>S.maltophilia</i>	Серые, 1,5-2,0 мм	91	Серые, 1,5-2,0 мм	91

Как видно из таблицы 1, установлены оптимальные концентрации в составе предлагаемой питательной среды МодСИ индикаторов феноловый красный - 0,05 г и бромтимоловый синий - 0,05 г (вариант 2), при которых эффективность роста неферментирующих бактерий составляет 91-97 КОЕ, а дифференцирующие свойства среды обеспечивают различие разных представителей неферментирующих бактерий между собой, в отличие от среды по варианту 1 с концентрацией индикаторов - 0,025 г.

Пример 2. Эффективность роста бактерий (НФБ, грамотрицательных энтеробактерий, стафилококков) на предлагаемой среде МодСИ (в сравнении с дифференциально-диагностической средой по SU 1351975, питательной средой Эндо и желточно-солевым агаром).

При изучении эффективности роста бактерий использовали следующие тест-штаммы:

НФБ - *Pseudomonas aeruginosa* №453, *Burkholderia cepacia* №B-7518, *Stenotrophomonas maltophilia* № B-7520; грамотрицательные энтеробактерий - *Escherichia coli* M-17, *Proteus vulgaris* №869, *Proteus mirabilis* №878, *Klebsiella pneumoniae* №63, *Salmonella typhimurium* №67, *Salmonella enteritidis* №2269, *Salmonella dublin* №1976; грамположительные кокки - *Staphylococcus aureus* №209-р, *Staphylococcus epidermidis* №136.

Указанные тест-штаммы выращивают на скошенном мясо-пептонном агаре (МПА) 24 часа при +37°C, выросшие культуры смывают стерильным изотоническим раствором хлорида натрия (0,85%), готовят взвесь бактерий по оптическому стандарту мутности 10 МЕ, и титруют до содержания 1000 мт/мл. 0,1 мл полученной взвеси культур высевают сплошным газом шпателем Дригальского: на предлагаемую среду МодСИ - все тест-штаммы (НФБ, грамотрицательных энтеробактерий, стафилококков); на дифференциально-диагностическую среду по SU 1351975 - тест-штаммы НФБ, грамотрицательных энтеробактерий; на питательную среду Эндо - тест-штаммы грамотрицательных энтеробактерий; на желточно-солевой агар - тест-штаммы стафилококков. Посевы инкубируют при +37°C в течение 24 час. Учитывают количество колониеобразующих клеток (КОЕ), и процент высеваемости на чашках со средой, исходя из количества микробных тел в 1 мл микробной взвеси.

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 Эффективность роста тест-штаммов бактерий на предлагаемой среде МодСИ (в сравнении с дифференциально-диагностической средой по SU 1351975, питательной средой Эндо и желточно-солевым агаром).

Тест-штаммы		Рост микроорганизмов на питательных средах (КОЕ)				Эффективность роста на среде МодСИ %
		Среда МодСИ	Среда SU 1351975	Эндо	ЖСА	
НФБ	<i>P.aeruginosa</i>	91	90			91
	<i>B.cepacia</i>	97	100			97
	<i>S.maltophilia</i>	91	91			91
Грамотрицательные энтеробактерии	<i>E.coli</i>	98	98	98		98
	<i>P.vulgaris</i>	92		92		92
	<i>P.mirabilis</i>	97	96	99		97
	<i>K.pneumoniae</i>	94		96		94
	<i>S.typhimurium</i>	98		98		98
	<i>S.enteritidis</i>	96		90		96
	<i>S.dublin</i>	91		89		91
Стафилококки	<i>S.aureus</i>	92			92	92
	<i>S.epidermidis</i>	90			90	90

Как видно из таблицы 2, на предлагаемой питательной среде МодСИ эффективность роста неферментирующих бактерий составила 91-97 КОЕ (91-97%), что сопоставимо с результатами роста НФБ на дифференциально-диагностической среде по SU 1351975 (91-100 КОЕ).

При этом установлена также достаточно высокая эффективность роста на предлагаемой среде грамотрицательных энтеробактерий (КОЕ 91-98) и стафилококков (КОЕ 90-92), соответствующая показателям роста указанных бактерий на селективных,

питательных средах (среда Эндо для грамотрицательных энтеробактерий, ЖСА - стафилококков), что позволит использовать МодСИ для выращивания широкого спектра микроорганизмов.

Пример 3 Изучение дифференцирующих свойств предлагаемой питательной среды МодСИ и контрольных сред для неферментирующих бактерий, грамотрицательных энтеробактерий, стафилококков

При изучении дифференцирующих свойств МодСИ использовали следующие тест-штаммы: НФБ - *Pseudomonas aeruginosa* №453, *Burkholderia cepacia* № В-7518, *Stenotrophomonas maltophilia* № В-7520; грамотрицательные энтеробактерий - *Escherichia coli* М-17, *Proteus vulgaris* №869, *Proteus mirabilis* №878, *Klebsiella pneumoniae* №63, *Salmonella typhimurium* №67, *Salmonella enteritidis* №2269, *Salmonella dublin* №1976; грамположительные кокки - *Staphylococcus aureus* №209-р, *Staphylococcus epidermidis* №136. Указанные тест-штаммы выращивают, готовят взвесь, и высевают на чашки с испытываемыми средами, как указано в примере 2.

Данные по изучению дифференцирующих свойств представлены в таблице 3.

Таблица 3 Изучение дифференцирующих свойств модифицированной среды с индикатором (МодСИ)

Тест-штаммы		Сопоставляемые питательные среды			
		МодСИ	Питательная среда SU 1351975	Среда Эндо	ЖСА
НФБ	<i>P.aeruginosa</i>	Черно-фиолетовые с металлически м блеском, 1,5-2,0 мм	Зеленые колонии с бордовым центром, 1,5-2,0 мм	Розовые колонии с ажурным краем, до 4,0 мм	-
	<i>B.cepacia</i>	Нежные, белые, флюоресцирующие, 1,0-1,5 мм	Зеленые колонии с бордовым центром, 1,5-2,0 мм	Бледно-розовые, 1,5-2,0 мм	-
	<i>S.maltophilia</i>	Серые, 1,5-2,0 мм	Зеленые колонии с бордовым центром, 1,5-2,0 мм	Бледно-розовые, 1,5-2,0 мм	-
Грамотрицательные	<i>E.coli</i>	Ярко-желтые, 1,5-2,0 мм	Плоские желтые колонии, 3,0	Малиновые колонии с металлически	

	энтеробактерии		мм с желтым ореолом вокруг колонии	м блеском, 4,0 мм	
5		<i>P.vulgaris</i>	Розово-фиолетовые, до черного, с «роением» 2,0-5,0 мм	Бледно-розовые, полупрозрачные, с «роением», 4,0 и более мм	
10		<i>P.mirabilis</i>	Сиреневые с «роением» 1,5-4,0 мм	Бледно-розовые, полупрозрачные, с «роением», 4,0 и более мм	
15		<i>K.pneumoniae</i>	Розово-желтые, слизистые 2,0-3,0 мм	Розовые, слизистые 2,0-4,0 мм	
20		<i>S.typhimurium</i>	Розовые с металлическим блеском, 1,5-2,0 мм	Бледно-розовые, прозрачные, 1,5-2,0 мм	
25		<i>S.enteritidis</i>	Желтые, 1,5-2,0 мм	Бледно-розовые, прозрачные, 1,5-2,0 мм	
30		<i>S.dublin</i>	Желто-розовые, 1,5-2,0 мм	Бледно-розовые, прозрачные, 1,5-2,0 мм	
35	Стафилококки	<i>S.aureus</i>	Желтые 0,5-1,0 мм		Желтые, с опалесцирующим ореолом, 0,5-2,5 мм
40		<i>S.epidermidis</i>	Белые 0,5-1,0 мм		Белые, 1,0-2,0 мм

Как видно из таблицы 2, на предлагаемой питательной среде МодСИ тест-штаммы НФБ (*P.aeruginosa*, *B.ceracia*, *S.maltophilia*) отличались по цвету колоний и характеру роста как от тест-штаммов других бактерий (грамотрицательных энтеробактерий, стафилококков), так и между собой.

Таким образом, из вышеприведенных таблиц следует, что на предлагаемой среде МодСИ эффективность роста всех микроорганизмов, взятых в качестве тест-штаммов, достаточно высока и сопоставима со средами, предназначенными для выделения и дифференциации соответствующих микроорганизмов (среда Эндо для

грамотрицательных энтеробактерий, ЖСА - для стафилококков, дифференциально-диагностическая среда для выделения неферментирующих грамотрицательных бактерий по SU 1351975), что свидетельствует о возможности использования МодСИ для выращивания широкого спектра микроорганизмов.

5 При оценке дифференцирующих свойств среды МодСИ установлено, что предлагаемая среда позволяет по цвету колоний и характеру роста отличить тест-штаммы НФБ (*Paeruginosa*, *B.ceracia*, *S.maltophilia*) как от тест-штаммов других бактерий (грамотрицательных энтеробактерий, стафилококков), так и между собой.

10 Таким образом, предлагаемая питательная среда МодСИ может быть использована для дифференциации неферментирующих бактерий от ферментирующих и, одновременно, первичной дифференциации разных представителей неферментирующих бактерий, по изменению цвета среды и различному цвету колоний, при первичном посеве образцов клинического материала, и, что особенно важно, при эпидемиологическом мониторинге за штаммами НФБ, циркулирующими в стационаре.

15

(57) Формула изобретения

Питательная среда для выделения и идентификации неферментирующих бактерий, содержащая питательный бульон сухой, экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред, Д-глюкозу; Д-галактозу, натрия хлорид, натрий серноватистокислый, железо (III) лимоннокислое водное, натрий углекислый, натрий сернистокислый, кальций углекислый, агар микробиологический, дистиллированную воду, в которую дополнительно введены индикаторы феноловый красный и бромтимоловый синий при следующих количествах компонентов:

25	питательный бульон сухой	20,0 г
	экстракт кормовых дрожжей для микробиологических питательных сред	1,0 г
	Д-глюкоза	1,0 г
	Д-галактоза	20,0 г
	натрия хлорид	5,0 г
30	натрий серноватистокислый	0,3 г
	железо (III) лимоннокислое водное	0,6 г
	натрий углекислый	0,5 г
	натрий сернистокислый	0,5 г
	феноловый красный	0,05 г
	бромтимоловый синий	0,05 г
35	кальций углекислый	5,0 г
	агар микробиологический	11,0±2,0 г
	дистиллированная вода	до 1 л
	pH	7,5±0,1

40

45