**Занятие 5**

Физиология микроорганизмов. Метаболизм и питание микробов. Питательные среды. Влияние физических и химических факторов на микроорганизмы. Стерилизация и дезинфекция. Дыхание и размножение микроорганизмов. Культивация аэробных и анаэробных бактерий. Бактериологический метод. Выделение чистых культур аэробных и анаэробных бактерий (I день II день, III день) их идентификация на основе культуральных свойств и ферментативной активности. Современные методы идентификации микроорганизмов.

**Физиология микроорганизмов**

**Физиология** изучает все процессы жизнедеятельности микроорганизмов - их метаболизм, питание, дыхание, рост и размножение.

**Метаболизм** представляет собой совокупность противоположных процессов – катаболизма и анаболизма.

* ***Катаболизм (энергетический метаболизм*)** процесс расщепления крупных молекул на более мелкие при котором происходит высвобождение энергии. Высвобождаемая при этом энергия накапливается в виде макроэргических соединений молекулы АТФ и используется в процессе жизнедеятельности клетки.
* При ***анаболизме*** осуществляется синтез высокомолекулярных соединений, используемых для образования клеточных структур. Поэтому анаболизм нередко называют ***конструктивным метаболизмом.*** Процесс протекает с использованием энергии, высвободившейся в результате энергетического метаболизма.

**Энергетический метаболизм (биологическое окисление).** В зависимости от использования кислорода существует два типа биологического окисления:

* **Бродильный метаболизм (брожение)**
* **Окислительный метаболизм (дыхание)**

**Типы питания микроорганизмов.** Микроорганизмы различаются ***по типам питания*** в зависимости от усвояемых источников **углерода и азота.**

* В зависимости от источника углерода бактерии подразделяют на ***аутотрофы*** и ***гетеротрофы***.

**Аутотрофы.**

* ***Аутотрофы*** (от греч. *autos*- сам, *trophe* – питание) способны синтезировать все необходимые соединения из простых веществ. Используют в качестве источника углерода углекислый газ и или другие карбонаты.

К ним относятся большинство бактерий, обитающих в почве (нитрифицирующие, серобактерии и пр. Организмы, для которых источником энергии является свет называются ***фотоаутотрофами. Хемоаутотрофы*** в качестве источника энергии используют органические соединения.

**Гетеротрофы**

* ***Гетеротрофы*** (от греч. *hеtеros* - другой, *trophе* - питание) используют в качестве источника углерода органические соединения.

Источником углерода для них являются гексозы, многоатомные спирты и аминокислоты. Организмы, для которых источником энергии является свет называются ***фотогетеротрофами. Хемогетеротрофы*** в качестве источника энергии используют органические соединения

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **категория** | **источник энергии** | **источник**  **углерода** | **представитель** |
| **фотоаутотрофы** | Свет | CO2 | Цианобактерии, лишайники |
| **фотогетеротрофы** | Свет | Органические вещества | Фотосинтезирующие бактерии |
| **хемоаутотрофы** | Органические вещества | CO2 | Серобактерии, железобактерии |
| **хемогетеротрофы** | Органические вещества | Органические вещества | Простейшие, грибы,  большинство бактерий |

**Механизмы питания микроорганизмов.** Поступление питательных веществ внутрь микробной клетки осуществляется:

* **Пассивным переносом:**

- **простая диффузия (перенос веществ из области высокой концентрации в область низкой )**

**- облегченная диффузия (с помощью белков переносчиков – *пермеаз и транслокация)***

* **Активным переносом:**

***-* Ионный транспорт** (**унипорт,** **симпорт,** **антипорт)**

**- ATФ-зависимый перенос**

* **Транслокация радикалов (фосфотрансферный путь)**

**Питательные среды.** Культивирование микроорганизмов в условиях *in vitro* осуществляется на **питательных средах.** Для того чтобы микроорганизмы росли и развивались, питательные среды должны отвечать следующим требованиям:

* Оптимальный состав. В их состав должны входить все необходимые компоненты, которые нужны для развития микробов
* Изотоничность
* Оптимальный рН среды
* Стерильность (необходима для того, чтобы избегать конкурентной борьбы между микробами)
* Определенный окислительно-восстановительный потенциал
* Стандартизированный состав
* Соответствующая вязкость и прозрачность (для лучшего изучения характера микробных колоний)
* Проста в приготовлении и экономически выгодна

**Классификация питательных сред.** В современной классификации учитываются ***физико-химические свойства, состав и назначение*** питательных сред. По составу компонентов различают ***естественные (натуральные) и синтетические*** питательные среды.

В зависимости от консистенции питательные среды могут быть ***жидкими, полужидкими и плотными.***

* К жидким питательным средам относятся мясо-пептонный бульон (МПБ), пептонная вода и др.
* Для создания полужидких и плотных питательных сред к ним добавляют агар или желатин.

По составу различают простые и сложные питательные среды

* ***К простым средам относятся –*** мясо-пептонный бульон (МПБ), мясо-пептонный агар, пептонная вода и пр.
* При добавлении к простым средам крови, сыворотки, углеводов получают  ***сложные питательные среды,*** например: кровяной агар, сахарный и сывороточный бульоны.

В зависимости от цели применения различают:

* ***Основные (универсальные) питательные среды*** применяют для культивирования большинства неприхотливых микроорганизмов. К этим средам можно отнести МПА, МПБ, пептонную воду.
* ***Специальные питательные среды*** позволяют культивировать микроорганизмы, не размножающиеся на обычных питательных средах. Н-р, для культивирования менингококков и пневмококков не растущих на обычных средах, применяют кровяные и сывороточные среды. К специальным средам относятся ***среды обогащения.*** Эти среды содержат компоненты (факторы роста), стимулирующие рост соответствующих микроорганизмов, н-р,среда содержащая селенит натрия стимулирует рост сальмонелл
* ***Элективные питательные среды*** используют для культивирования определенного вида микроорганизмов. Н-р, щелочной агар служит для выделения холерного вибриона, в таких условиях ингибируется рост других бактерий; среда с высоким содержанием соли (ЖСА) стимулирует рост стафилококков. Жидкие элективные среды также можно использовать в качестве сред *обогащения* и *накопления*. При применении таких сред облегчается процесс получения культуры надлежащих микробов из патологического материала. Н-р, для выделения шигелл из испражнений больного дизентерией целесообразно в начале провести инокуляцию материала на селенитовый бульон.
* ***Дифференциально-диагностические среды*** позволяют дифференцировать различные микроорганизмы, н-р, на основании их ферментативной активности, и облегчают их идентификацию. К таким средам относятся среда Эндо, Гисса, Клиглера и др.
* ***Комбинированные питательные среды*** сочетают в себе элективную среду, и дифференциальную среду. Примером таких сред является среда Плоскирева и висмут-сульфитный агар, используемые для выделения патогенных кишечных бактерий. Обе среды ингибируют рост кишечной палочки
* ***Консервирующие транспортные среды*** (глицериновая смесь, фосфатный буфер, тиогликолевая среда для анаэробов и др.) применяются для первичной инокуляции и транспортировки патологического материала. Эти среды предупреждают отмирание патогенных микробов и подавляют рост сапрофитов.

**Влияние факторов окружающей среды на микроорганизмы**

Факторы окружающей среды оказывают влияние на жизнедеятельность, рост, размножение и гибель микроорганизмов. Факторы, влияющие на микроорганизмы, подразделяются на ***физические, химические и биологические*.** Действие этих факторов может быть различным в зависимости от их природы и особенностей микроорганизмов. Н-р, влияние может быть губительным или благоприятным для роста микробов.

**Влияние физических факторов на микроорганизмы**

**Температура**. По отношению к температуре все микроорганизмы делятся на три группы:

* ***Психрофильные*** (от греч. *psychros*- холод, *philеo*- люблю) ***микроорганизмы***-минимальная t– 00C, оптимальная– 6-200C, максимальная– 300C
* ***Мезофильные*** (от греч. *mеsos*- средний) ***микроорганизмы***- минимальная t– 100C, оптимальная– 34-370C, максимальная– 450C
* ***Термофильные*** (от греч. *termos* - тепло, жар) или теплолюбивые микроорганизмы развиваются при температуре выше 55° С - минимальная t – 300C, оптимальная– 50-600C, максимальная– 70-750C

**Высушивание** приводит к обезвоживанию цитоплазмы, нарушению целостности цитоплазматической мембраны, вследствие чего нарушается питание микробных клеток и наступает их гибель. К примеру, патогенные нейссерии (менингококки, гонококки), лептоспиры, бледная трепонема и др. погибают при высушивании через несколько минут. Холерный вибрион выдерживает высушивание 2 сут, сальмонеллы тифа - 2 мес, а микобактерии туберкулеза – до 3 мес. Для хранения культур микроорганизмов, вакцин и других биологических препаратов широко применяют метод **лиофильной сушки.** Сущность метода состоит в том, что предварительно микроорганизмы или препараты подвергают замораживанию, а затем их высушивают в условиях вакуума. При этом микробные клетки переходят в состояние анабиоза и сохраняют свои биологические свойства в течение нескольких месяцев или лет.

**Лучевая энергия**. В природе микроорганизмы постоянно подвергаются воздействию ***солнечной радиации.*** Прямые солнечные лучи вызывают гибель многих микроорганизмов в течение нескольких часов. Губительное действие солнечного света обусловлено активностью ***ультрафиолетовых лучей (УФ-лучи)*** с длиной волны 254-300 нм. Они инактивируют ферменты клетки и повреждают ДНК. Патогенные бактерии более чувствительны к действию УФ-лучей, чем сапрофиты.

Другие виды лучистой энергии **- *рентгеновские лучи, α-, β-, γ-лучи*** оказывают губительное действие на микроорганизмы только в больших дозах, порядка 440-280 Дж/кг. Гибель микробов обусловлена разрушением ядерных структур и клеточной ДНК. Малые дозы излучений стимулируют рост микробных клеток.

Бактерицидное действие ***ионизирующего излучения*** используется для консервирования некоторых пищевых продуктов, ***стерилизации*** биологических препаратов (сывороток, вакцин и др.)

**Ультразвук** этозвуковые волны частотой выше 20 000 Герц. Одним из основных эффектов влияния ультразвука на микроорганизмы является ***эффект кавитации*** (от лат. *cavitum* - полость). **Ультразвук** вызывает значительное поражение микробной клетки. Под действием ультразвука газы, находящиеся в жидкой среде цитоплазмы, активируются, внутри клетки возникает высокое давление (до 10000 атм.) и образуются кавитационные полости. Это приводит к разрыву клеточной оболочки и гибели клетки.

Ультразвук используют для стерилизации пищевых продуктов (молока, фруктовых соков), питьевой воды.

**Высокое давление**. Высокое атмосферное давление не губительно для большинства микроорганизмов. В природе встречаются даже бактерии, живущие в морях и океанах на глубине 1000-10000 м под давлением от 100 до 900 атм. Некоторые виды бактерий выдерживают давление до 3000-5000 атм, а бактериальные споры - даже 20000 атм. Примечательно, что воздействие ***насыщенного водяного пара при давлении выше атмосферного*** приводит к гибели как вегетативных, так и споровых форм микроорганизмов. Этот способ **стерилизации** **паром под давлением** производят в автоклаве

**Дезинфектанты и антисептики**

* ***Поверхностно-активные вещества*** -жирные кислоты, мыла и прочие детергенты ( декамин, хлоргексидин и пр.)
* ***Фенол, крезол и их производные*** (трикрезол, фенол-резорцин, фенилсалицилат)
* ***Окислители*** (перекись водорода, перманганат калия, и др)
* ***Галогены –*** препараты йода (спиртовый раствор йода, раствор Люголя, йодоформ, йодинол), препараты хлора (хлорная известь, хлорамин, пантоцид)
* ***Спирты*** (этиловый и пр.)
* ***Кислоты, и их соли*** (борная, салициловая, бензойная, уксусная кислоты) и ***щелочи*** (соли аммония, квасцы);
* ***Альдегиды*** (формальдегид - применяют в виде 40% раствора (формалин), гексаметилентетрамин– уротропин, глутаральдегид и пр.)
* ***Соли тяжелых металлов*** (ртуть, свинец, цинк, золото и др.)
* ***Красители*** (бриллиантовый зеленый, риванол, этакридина лактат , метиленовый синий и др.)

**Дезинфекция** (обеззараживание) — это уничтожение патогенных микроорганизмов в различных объектах окружающей среды. Химические вещества, используемые для уничтожения микроорганизмов, называются ***дезинфицирующими.***

* Вещества, характеризующиеся выраженным антимикробным эффектом, но не обладающие токсичностью для макроорганизма, называются ***антисептическими средствами*** и применяются для гибели или подавления роста микробов, контактирующих с поверхностью кожи, слизистых оболочек и ран.

**Антисептика** - комплекс мер, направленных на уничтожение микроорганизмов в ране, целом организме или на объектах внешней среды, с применением различных обеззараживающих химических веществ.Антисептика включает комплекс мероприятий, направленных на уничтожение микробов в патологическом очаге, ране или другом объекте.

**Асептика** –комплекс профилактических мероприятий, препятствующих микробному загрязнению различных объектов (раны, операционного поля, кожи и слизистых и т. д.).

Стерилизацию белья и перевязочных материалов проводят в автоклавах, для контроля стерилизации в пробирку набирают бензоловую кислоту и пирамидон или резорцин, и если в конце стерилизации эти вещества расплавляются и превращаются в массу, это означает что стерилизация проведена должным образом.

Стерилизацию хирургических инструментов проводят в специальных стерилизаторах, но прежде их промывают механическим способом, затем помещают в емкость с кипящей водой, добавляют 1-2% раствор соды, кипятят 20-30 мин. С целью профилактики воздушно-капельных инфекций, лица входящие в операционную должны надевать маски и бахиллы. Разговоры строго запрещены. Целесообразно применение бактерицидных ламп

**Антисептика. *Антисептика*** – это система мер, способствующая уменьшению и уничтожению микробов в ране. Различают механическую, физическую, химическую, биологическую антисептику.

* ***Механическая антисептика*** — первичная хирургическая обработка инфицированной раны, т. е. удаление омертвевших и нежизнеспособных тканей с краев и со дна раны.
* ***Физическая антисептика*** – проводится с помощью гигроскопичных ватных тампонов, высушивающих тампонов, присыпок, дренажа и пр. с целью предотвращения размножения микробов и накопления токсических веществ в ране
* ***Химическая антисептика*** – использование химических веществ, создающих неблагоприятные условия для микробов, останавливающие рост, развитие или вызывающие их гибель. Наиболее часто используемые:
* Нитрат серебра 1:500-1:3000 для промывания, 1% раствор бриллиантового зеленого - для обработки ран, 1% йод, йодинол - для промывания ран, операционного поля, для мытья рук, 2-5% раствор карболовой кислоты - для мытья перчаток и инструментов, формалин (40 %), фурациллин (1:5000), хлорамин (0,5-2%) и др.
* ***Биологическая антисептика*** – использование инъекций (в/в, в/м, в различные полости), ингаляций, а также путем введения антибиотиков на поверхность или внутрь раны

**Стерилизация**

* **Стерилизация** – это полное освобождение объектов окружающей среды от микроорганизмов и их спор
* Стерилизацию производят различными способами:
* ***физическими*** (воздействие высокой температуры, УФ-лучей);
* ***химическими*** (использование различных дезинфектантов, антисептиков и антибиотиков);
* ***механическими*** (использование бактериальных фильтров)

**Стерилизация физическими методами (тепловая стерилизация )**

* ***Стерилизация кипячением и прокаливание*** можно считать самыми простыми и доступными методами тепловой стерилизации. Для тепловой стерилизации применяют в основном ***сухой жар и пар под давлением.*** ***Стерилизацию сухим жаром*** или горячим воздухом осуществляют в печах Пастера (сушильных сухожаровых шкафах) при 165-1700C в течение 1 часа. Метод позволяет уничтожать не только вегетативные клетки, но и споры микроорганизмов. **Стерилизацию паром под давлением** производят в ***паровых стерилизаторах*** (автоклавах), способ основан на воздействии на стерилизуемые материалы насыщенного водяного пара при давлении выше атмосферного. При рабочем режиме в 2 атм. при 1210C в течение 30 мин. погибают как вегетативные, так и споровые формы микроорганизмов. ***Пастеризацию*** условно можно считать стерилизацией. В результате часовой экспозиции при 650-700C уничтожаются вегетативные формы микроорганизмов в пищевых продуктах (молоко, соки, вино, пиво и др.)

**Физическая стерилизация (лучевая стерилизация).** Используется для стерилизации термолабильных материалов.

* Применение *УФ-излучения* длястерилизации ограничено его низкой проницаемостью и высокой поглотительной активностью воды и стекла
* *Рентгеновское и гамма излучение.* Работа с ними требует строго соблюдения правил безопасности. Применяют для стерилизации бактериологических препаратов (сывороток, вакцин и пр.) одноразовых шприцев, чашек Петри, шовных материалов и пр.
* *Микроволновое излучение.* Основано на эффекте быстрого повышения температуры, применяют для повторной стерилизации длительно хранящихся сред.

**Механическая стерилизация.** *Стерилизацию через бактериальные фильтры* применяют в тех случаях, когда стерилизуемые предметы изменяются при нагревании. В микробиологической *практике используют асбестовые фильтры Зейтца, мембранные фильтры* из нитроцеллюлозы,изготовленные из каолина с примесью песка и кварца *фильтры (свечи) Шамберлана и фильтры* из инфузорной земли *Беркефельда*.Методом фильтрования стерилизуют питательные среды, содержащие белок, сыворотки, некоторые антибиотики, а также отделяют бактерии от вирусов, фагов и экзотоксинов

**Химическая стерилизация.** *Химическая стерилизация* проводится с применением губительных для микроорганизмов антимикробных препаратов- дезинфектантов и антисептиков, а также антибиотиков с избирательным действием и синтетических противомикробных препаратов**.** С этой целью также используют токсичные газы, н-р, оксид этилена.

**Контроль за качеством стерилизации.** Химический контроль – используются вещества с известной температурой плавления (сера - 1190 C, бензойная кислота – 120-1220 C, бензонафтол - 1100 C, манноза и карбамид- 132-1330 C) и индикаторные бумажки температурного режима. Оценка контроля осуществляется на основании изменений происходящих с указанными веществами, которые помещают в автоклав вместе со стерилизуемым материалом.

Биологический контроль – проводится с применением биотестов (бумажные полоски с нанесенными на поверхность споровыми бактериями устойчивыми к температуре). Оценка контроля осуществляется на основании гибели споровых бактерий на поверхности бумажек, которые помещают в автоклав вместе со стерилизуемым материалом.

**Дыхание и размножение микроорганизмов. Культивирование аэробных и анаэробных бактерий. Бактериологический метод. Выделение чистых культур аэробных и анаэробных бактерий (I день)**

**Энергетический метаболизм (биологическое окисление).** В зависимости от использования кислорода существует два типа биологического окисления:

* **Бродильный метаболизм (брожение)**
* **Окислительный метаболизм (дыхание)**

**Дыхание микроорганизмов.** Дыхание, или биологическое окисление это процесс получения энергии в сложных биохимических реакциях. Полученная энергия необходима микробной клетке для ее жизнедеятельности**.** При дыхании происходят процессы окисления и восстановления: окисление - отдача донорами (молекулами или атомами) водорода или электронов; восстановление - присоединение водорода или электронов к акцептору. В зависимости от того, что является конечным акцептором электронов, различают аэробное и анаэробное дыхание

**Типы дыхания микроорганизмов.** По отношению к кислороду, и использованию его в процессах получения энергии микроорганизмы делятся на:

* **Облигатные аэробы**

*- микроаэрофилы- требуют для роста низкие концентрации кислорода (5-10%)*

*- капнофилы- требуют для своей жизнедеятельности высокие концентрации углекислого газа*

* **Облигатные анаэробы**

***-*** *строгие анаэробы- молекулярный кислород для них токсичен*

*- аэротолерантные анаэробы- могут существовать в атмосфере*

*кислорода*

* **Факультативные анаэробы** –способны расти и размножаться как при наличии, так и при отсутствии кислорода

**Рост и размножение микроорганизмов. Рост** – это согласованное увеличение всех компонентов клетки. Размножение большинства бактерий происходит путем простого – бинарного деления. Впячивание мезосом приводит к образованию поперечных перегородок. Палочковидные бактерии размножаются поперечным путем, кокки - делением в разных плоскостях. Дочерние клетки одинакового размера называются изоморфными, клетки разного размера – гетероморфными.

**Время генерации.** Размножение большинства бактерий с происходит высокой скоростью. Для оценки скорости размножения бактерий используется понятие ***время генерации,*** отображающее время, необходимое для удвоения бактериальной клетки, которое варьирует от вида бактерий. Высокую скорость размножения бактерий и других микроорганизмов обеспечивают ***оптимальные условия культивирования.*** Время генерации большинства бактерий составляет 15-30 минут, а у микобактерий туберкулеза оно равняется 20-24 часам.

**Размножение бактерий.** Поскольку деление бактериальной клетки приводит к образованию двух особей, их число растет в геометрической прогрессии: 20 – 21 – 22 - 23 …. 2n, таким образом после деления клетки n-ое количество раз, количество вновь образовавшихся клеток будет составлять 2n**.** Размножение бактерий   происходит до тех пор, пока содержание какого-нибудь из необходимых им компонентов питательной среды не достигнет минимума, после чего рост прекращается и если на протяжении всего времени в среду культивирования не добавлять питательные вещества и не удалять из нее продукты обмена, то можно получить ***статическую (периодическую культуру).***

**Фазы размножения бактерий в периодической культуре.** Периодическая культура ведет себя многоклеточный организм**.** Размножение бактерий в периодической культуре подчиняется определенной закономерности и состоит из нескольких фаз: начальная (lag) фаза, экспоненциальная (логарифмическая) фаза, стационарная и фаза отмирания.

**Фазы размножения**

* **Начальная фаза** – охватывает промежуток времени между посевом бактерий и началом размножения. В этой фазе усиливаются процессы обмена, увеличиваются размеры клеток, и они начинаются делиться.
* **Экспоненциальная или логарифмическая фаза** характеризуется максимальной скоростью деления. В этой фазе бактериальные клетки проявляют наибольшую биохимическую и биологическую активность.
* **Стационарная фаза** характеризуется уменьшением концентрации питательных веществ, накоплением токсических продуктов обмена, снижением скорости роста.
* **Фаза отмирания** (спада, лизиса) наступает вследствие накопления токсических продуктов обмена и включает прогрессирующее уменьшение количества жизнеспособных клеток и их гибель.

**Принципы культивации микроорганизмов.** Все микроорганизмы за исключением облигатных паразитов (риккетсии, хламидии и вирусы) возможно ***культивировать на искусственных питательных средах с целью получения чистой культуры в лабораторных условиях*.** Получение чистой культуры микроорганизмов в результате их культивирования позволяет изучить их химический состав, морфологические и биологические свойства, а также получить из них биопрепараты и вакцины

**Культивация микроорганизмов.** Для получения культуры возбудителей и изучения их особенностей и свойств их необходимо культивировать. С целью культивирования микроорганизмов исследуемый материал инокулируют (засевают) на соответствующие питательные среды. Инокуляцию проводят, строго соблюдая правила асептики. В некоторых случая используют ламинарные боксы.

***Ламинарный бокс*** представляет собой шкаф для работы с биологическими объектами в стерильных условиях. Оборудован осветителями, ультрафиолетовыми лампами и системой подачи стерильного воздуха

**Культуральный метод, сущность и значение.** Культуральный (бактериологический) метод основывается на выделении чистых культур возбудителей из исследуемого материала, и их последующей идентификации на основании морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических, токсигенных и антигенных свойств.

**Культура и чистая культура.** Популяция микроорганизмов, культивируемых на питательных средах, называется ***культурой.*** Для изучения особенностей микроорганизмов, определения их систематического положения необходимо выделить отдельные виды микроорганизмов, получить их чистую культуру и идентифицировать ее. Культура, состоящая из одного вида микроорганизмов, называется ***чистая культура.***

**Инокуляция в питательные среды (посев).** Первый этап культивирования бактерий состоит в их инокуляции (посеве) в питательные среды. Посев на бактерий на питательные среды проводят разными путями. ***Инокуляцию*** исследуемого материала в питательную среду проводят при помощи ***бактериологической петли.***

**Инокуляция в питательный бульон.**

* Петлей или пипеткой отбирают материал из пробирки с выросшей культурой и переносят в пробирку со ***стерильным жидким бульоном.*** При этом петлю слегка погружают в пробирку с питательным бульоном и растирают посевной материал по стенке пробирки, после чего его смывают средой.
* Выполненные посевы помещают в термостат в вертикальном положении.

**Посев на поверхность скошенного агара в пробирке.** При пересеве бактерий на стерильный скошенный агар, обе про­бирки берут в левую руку, и держат так, чтобы скошенная часть агара находилась на поверхности и посев осуществлялся под контролем глаза.  Петлю, находящуюся в правой руке, стерилизуют в пламе­ни и дают ей остыть. Пробки из про­бирок вынимают правой рукой V и IV пальцами. Петлю держат, как писчее перо. После вынима­ния пробки пробирки держат в наклон­ном положении. Петлю с находящимся на ней пересеваемым материалом вводят в пробирку со стерильным агаром до дна, опускают на поверхность питательной среды и скользящими движениями наносят штрих снизу вверх, от одной стенки пробирки к другой. Пробирки с посевами культивируют 18-20 при 37°C

**Инокуляция бактериологической иглой.**

* Пробирки со столбиком агара держат вверх дном в левой руке. После снятия пробки горлышко пробирки фламбируют огнем.
* Бактериологическую иглу прожигают в пламе­ни, охлаждают, забирают ею инокулируемый материал и вкалывают с находящимся на ней мате­риалом до дна пробирки. Пробку фламбируют в огне, закрывают пробирку и помещают в термостат.

**Инокуляция петлей на поверхность питательной среды в чашке Петри**

* Крышку чашки Петри перед посевом исследуемого материала или культуры бактерий приоткрывают только после того, как инокулируемые материалы были взяты бактериологической петлей! Чашки с питательной средой должны находиться на рабочем столе крышкой сверху.  Крышку приоткрывают кончиками пальцев левой руки настолько, чтобы в об­разовавшуюся щель свободно проходили петля или шпатель. Небольшое количество исследуемого материала втирают бактериальной петлей в поверхность питательной среды параллельными штрихами.
* В зависимости от цели культивирования возможны различные варианты инокуляции на поверхность плотной питательной среды
* Н-р, для выделения чистой культуры используется метод инокуляции в 4 сектора на чашку Петри
* Для оценки бактериурии (определения количества бактерий) при бактериологическим исследовании мочи используют метод секторных посевов

**Инокуляция шпателем на поверхность питательной среды.** Инокуляцию микроорганизмов в питательную среду в чашки можно производить с использованием стерильного шпателя. Данный метод используют для получения сплошного роста на поверхности среды в чашке. Для этого в чашку вносят каплю инокулируемого материала и стерильным шпателем втирают его в по­верхность питательной среды.

**Инкубация.** После инокуляции образцы с микроорганизмами инкубируют с термостате при определенной температуре (обычно при 37°C) в течение необходимого времени (обычно 1-2 дня).

**Условия культивирования.** Для культивирования микроорганизмов на питательных средах необходимо соблюдение оптимальных условий

* В первую очередь эти условия обеспечиваются оптимальной температурой, временем и атмосферой культивирования.

Температура культивирования. В зависимости от *температуры культивирования* все микроорганизмы делятся на психрофилы, мезофилы и термофилы

* Оптимальная температура культивирования для *психрофильных бактерий* - 6-200C, мезофильных - 34-370C. *Термофильные бактерии* способны размножаться при более высоких температурах, даже при 70-750C .
* Большинство патогенных для человека бактерий являются мезофилами.

**Время культивирования.** *Время культивирования* зависит от вида микроорганизмов. Большинство бактерий культивируют до получения видимого роста. Для культивирования большинства бактерий в оптимальных условиях достаточно 18-24 ч, тогда как для ряда бактерий требуются более длительные сроки культивирования. Н-р, для культивирования возбудителя коклюша требуется от 2 до 5 суток, а для культивирования возбудителя туберкулеза 3-4 недели. В отсутствии оптимальных условий время культивирования может затянуться.

**Атмосфера культивирования.** Известно, что для размножения аэробов требуется кислород. Поэтому аэробы хорошо растут на поверхности плотной питательной среды или в верхнем слое жидкой.

* ***Микроаэрофилы*** культивируют при низкой концентрации кислорода (1-5%). С этой целью используют CO2-инкубаторы или эксикаторы
* ***Факультативные анаэробы*** культивируются как в аэробных так и анаэробных условиях.
* ***Облигатные анаэробы*** культивируются в условиях отсутствия кислорода

**Культивирование анаэробов.** Для культивирования анаэробов используются *специальные питательные среды* с добавлением веществ, редуцирующих содержащийся в среде кислород. Н-р, среда Китта-Тароцци - жидкая питательная среда для культивирования анаэробных микроорганизмов, состоящая из мясопептонного бульона, обогащенного экстрактивными продуктами печени животных и содержащего кусочки вываренной печени в качестве поглотителя свободного кислорода.Для культивирования анаэробных бактерий используют *анаэростаты*

Система *Gaspak* используется для создания анаэробных условий. Содержит пакет с реагентами - поглотителями кислорода (цитратная кислота, карбонат натрия, борогидрат натрия) и герметически закрывающуюся стеклянную камеру. При добавлении воды происходит активация реагентов в газпаках, после чего происходит химическое связывание кислорода. Таким образом в камере создается анаэробная атмосфера. Данный метод часто применим для культивирования аэротолерантных микроорганизмов.

**Методы получения чистой культуры аэробных бактерий.** Для получения чистой культуры бактерий можно использовать различные методы

* Наиболее часто используются методы, основанные на механическом разобщении микроорганизмов на поверхности или внутри питательной среды. Принцип этих методов основан на механическом разделении исследуемого материала в глубине или на поверхности питательной среды, с целью получения роста микроорганизмов в виде изолированных колоний. Считается, что одна колония развивается из одной микробной клетки. И поскольку колония состоит из микроорганизмов одного вида, ее можно рассматривать как чистую культуру.
* Метод разобщения микробных клеток в плотных питательных средах (метод Коха). Данный метод является одним из старых методов, применяемых для получения чистой культуры. Исследуемый материал последовательно разводят в стерильном физиологическом растворе затем по одной капле из каждого разведения вносится в пробирку с расплавленным до 400C агаром и перемешивается. Содержимое каждой пробирки переносится в чашку Петри и инкубируется в термостате. После инкубации рост изолированных колоний обычно наблюдается на чашке Петри, в которую добавляли материал из последнего разведения
* **Метод разобщения микробных клеток на поверхности плотной питательной среды(метод Дригальского).** Суть метода заключается в последовательном распределении исследуемого материала ( инокулят) в несколько чашек Петри с питательной средой при помощи стеклянного шпателя или петли. Посев исследуемого материала осуществляют на три чашки с МПА. Для этого, на середину первой чашки пипеткой или бактериологической петлей вносят исследуемый материал, который затем распределяют стеклянным шпателем. Не стерилизуя, шпатель переносят во вторую, а затем в третью чашку проводя распределение оставшегося на его поверхности материала.После инкубации наблюдается последовательное уменьшение количества микроорганизмов на поверхности питательной среды в чашка
* **Метод инокуляции в секторы.** В настоящее время с целью получения чистой культуры применяется метод посева на 4 сектора. Исследуемый материал вносят петлёй в чашки Петри с питательным агаром и распределяют его штрихами. Дно чашки условно разделяют на 4 сектора. Первоначально материал засевают на первый сектор и проводят параллельные линии по всему сектору. Далее, прожженной петлёй, не изменяя её положения по отношению к агару, производят штриховые посевы из 1-го сектора во 2-ой, таким же образом из 2 сектора в 3-ий и аналогично в 4 сектор. После инкубации наблюдается последовательное уменьшение количества микроорганизмов на питательной среде, и обычно в последнем секторе микроорганизмы растут в виде изолированных колоний. Используя метод инокуляции в 4 сектора на чашке Петри можно также получить предварительную информацию о количестве микроорганизмов в исследуемом материале . Так, рост определённых микроорганизмов только в 1-ом секторе оценивается как (+), в 1-ом и 2-ом как (++), в 1-ом, 2-ом и 3-ем секторах – как (+++), и соответственно как (++++) при росте во всех 4-ех секторах. При учете результатов бактериологического исследования , в материале, количество которого трудно установить (н-р, материал взятый тампоном) количество микроорганизмов указывается в плюсах (+), в материале количество которого можно установить (н-р, моча, мокрота) определяют колониеобразующие единицы в мл (КОЕ/мл ).

**Получение клонов.** Извлечение одной микробной клетки при помощи микроманипуляторной иглы под микроскопом и инокуляция ее на стерильную питательную среду.

* Культура выросшая из одной микробной клетки называется *клон.*
* Этот метод наиболее часто применяется в генетических исследованиях.
* Клон определенного микроорганизма считается его идеальной чистой культурой.

**Методы основанные на принципе использования биологических особенностей микроорганизмов.**

* Получение чистой культуры подвижных бактерий
* Получение чистой культуры спорообразующих бактерий
* Получение чистой культуры на селективных питательных средах
* Получение чистой культуры путем заражения чувствительных лабораторных животных
* Методы, основанные на принципе использования биологических свойств микроорганизмов

**Методы получения чистой культуры анаэробных бактерий**

* *Метод Цейсслера*. Исследуемый материал инокулируют в секторы на поверхности плотной среды. Инкубируют в анаэробных условиях при 37 градусах 24-72ч.Выросшие на поверхности питательной среды колонии пересевают на среду Китта-Тароцци или другие среды для анаэробов для выделения чистой культуры
* *Метод Вейнберга*. Несколько капель исследуемого материала вносят в пробирку с 0,9% изотоническим раствором. Перемешивают и переносят в пробирку с охлажденным до 45-50 градусов сахарным агаром, разлитым в пробирки высоким столбиком. После перемешивания содержимое пробирки засевают еще в две пробирки с сахарным агаром и быстро охлаждают под струей воды. Выросшие в глубине питательной среды через 24-72ч. колонии пересевают на среду Китта-Тароцци или другие среды для анаэробов с целью выделения чистой культуры

**Бактериологический метод. Выделение чистых культур аэробных и анаэробных бактерий (II и III дни). Культуральные свойства бактерий. Идентификация бактерий по ферментативной активности. Современные методы идентификации**

**Получение чистой культуры этап II.**

* II этап получения чистой культуры начинается с изучения культуральных свойств выросших на среде бактерий. На II день чашки Петри достают из термостата и приступают к **изучению культуральных свойств** бактерий.
* Наблюдается последовательное разобщение микроорганизмов на средах в чашках, в которые производили посев по методу Дригальского. Обычно на поверхности среды во второй, или в третьей чашке наблюдается рост микроорганизмов в виде **изолированных колоний**
* При посеве на 4 сектора, после инкубации чашек, наблюдается последовательное уменьшение количества микроорганизмов на питательной среде и обычно в последнем секторе микроорганизмы растут в виде **изолированных колоний.**
* Считается, что начало одной колонии дает одна единственная бактериальная клетка. Поэтому, на практике для получения чистой культуры обеспечивается рост микроорганизмов в виде изолированных колоний на поверхности или в глубине плотной питательной среды. На данном этапе получения чистой культуры производится пересев изолированных колоний на другие питательные среды, и их последующая инкубация в течение 1-2 дней.

**Культуральные свойства микроорганизмов.**

* Культура –это популяция, образуемая бактериями в оптимальных условиях. Колония - популяция (скопление) бактерий на плотной питательной среде
* Чистая культура - совокупность микроорганизмов, принадлежащих к одному виду и образующих популяцию на плотной питательной среде
* Штамм – чистая культура микроорганизмов одного вида, выделенных из разных (или одинаковых) источников в определенное время

**Культуральные свойства лежат в основе идентификации микроорганизмов, так как являются характерным признаком для каждого рода и вида. С этой целью идентификации изучается характер роста бактерий на плотных и жидких питательных средах.**

**Культуральные признаки бактерий на плотных питательных средах.**

* Бактерии образуют *колонии* на плотных питательных средах
* Популяция, образуемая одной бактерией на поверхности или в глубине плотной питательной среды, называется *колонией*

**Морфология колоний:**

**При изучении морфологии колонии учитываются следующие признаки:**

* **Размеры**
* **Форма**
* **Цвет**
* **Структура**
* **Высота**
* **Края**

**Размеры колоний**

* Крупные (˂ 4-5)
* Средние (2-4 мм)
* Мелкие (1-2 мм)
* Точечные (˃1 мм)

**Консистенция колоний**

* Плотные
* Мягкие
* Вязкие
* Слизистые

**Цвет колоний.**

**В процессе роста на питательных средах некоторые бактерии продуцируют пигменты**

**Прозрачность колоний.**

* **По степени прозрачности различают**

**-**прозрачные

-полупрозрачные

-мутные

**Подсчет колоний.**

В случае малого количества колоний их считают на глаз, если же колоний много, то подсчет производят в камере, которая представляет собой разделенную на квадраты пластину на подставке. Чашка Петри помещается под пластину и производят подсчет колоний, попавших в поле 10 крупных квадратов площадью 1sm2 . Общее количество колоний в одном квадрате вычисляют по формуле

X=пr2 x1sm2  п=3,14

r- радиус чашки= 5sm

Если в одном квадрате будет 10, то:

X=3,14x52 x10 = 785

**Определение общего количества клеток в 1 мл жидкости**

**1.Подсчет клеток под микроскопом в «счетной камере» (Горяева, Тома—Цейса, Нейбауэра)**

**2. Счетчики**

**Электронный счетчик Култера**

**Нефелометрия (спектрофотометрия)**

**3.Подсчет клеток на мембранных фильтрах**

**Для определения концентрации микроорганизмов может использован непрямой метод определения, основанный на визуальном сравнении мутности исследуемой взвеси со стандартным образцом мутности.**

**Примером такой стандартизации микробной взвеси является использование стандарта Мак-Фарланда (McF).**

**Он изготовлен из:**

**1 % раствора серной кислоты**

**1 % раствора бария хлорида**

**Получение чистой культуры III этап.**

На третьем этапе выделения чистой культуры проверяют чистоту выделенной культуры. С этой целью, готовят мазок из культуры, выросшей на скошенном агаре, окрашивают по методу Грама и микроскопируют. При наличии в мазке бактерий с одинаковой морфологией подтверждается чистота выделенной культуры. После выделения чистой культуры изучают ее биохимические (ферментативные) свойства. Завершительный этап бактериологического исследования состоит в идентификации выделенной чистой культуры, то есть определении ее таксономического положения. *Идентификация* микроорганизмов проводится по их культуральным, тинкториальным, морфологическим, ферментативным, антигенным и др. свойствам.

**Изучение биохимических (ферментативных) свойств бактерий**

* Изучение биохимических (ферментативных) свойств бактерий основывается на изучении их **ферментов и метаболитов**
* Ферментативные свойства являются основным таксономическим признаком, учитываемым при идентификации микроорганизмов
* Для идентификации бактерий определяют **сахаролитические, протеолитические и другие ферменты**

**Микробные ферменты**

* Синтез ферментов микроорганизмов детерминируется на генном уровне. В основе всех метаболических реакций в бактериальной клетке лежит деятельность ферментов, которые принадлежат к 6 классам:

1. ***оксидоредуктазы*** катализируют реакции окисления-восстановления,
2. ***трансферазы*** - катализируют реакции переноса различных групп от донора к акцептору,
3. ***гидролазы*** катализируют расщепление крупных молекул пептидов, полисахаридов, липидов до мономеров,
4. ***лигазы*** катализируют образование химических связей между молекулами,
5. ***лиазы*** катализируют реакции разрыва связей в субстрате не гидролитическим путем,
6. ***изомеразы*** катализируют перенос групп внутри молекулы с образованием изомерных форм

Ферменты могут локализоваться как внутри клетки– **эндоферменты,** так и выделяться в окружающую среду – **экзоферменты**.

* ***Эндоферменты*** проявляют деятельность в пределах клетки, ***экзоферменты*** секретируются во внешнюю среду и обеспечивают распад и проникновение макромолекул в клетку
* ***Конститутивные и индуцибельные*** ферменты
* ***Ферменты метаболизма*** – оксидоредуктазы, трансферазы, лиазы, лигазы, гидролазы, изомеразы
* ***Ферменты агрессии или патогенности*** – гиалуронидаза, нейраминидаза, лецитиназа и пр.

**Изучение ферментативной активности микробов.** Основной таксономический признак, который учитывают при идентификации микроорганизмов - это спектр их ферментативной активности. С целью идентификации бактерий определяют сахаролитические, протеолитические и др. ферменты

**Изучение способности микроорганизмов ферментировать углеводы (*сахаролитических свойств*).**

* Для этого используют среды Гисса, которые называют «пестрый ряд». Они представлены набором пробирок с питательной средой в жидкой или полужидкой форме, в каждую из которых добавлены определенный углевод (сахар) и индикатор, меняющий окраску в кислой среде.
* При расщеплении какого-то углевода в пробирке наблюдается изменение цвета среды, если же исследуемая культура не расщепляет углевод, то цвет среды в других пробирках останется неизменным. Поэтому набор сред называется «пестрый ряд».

**Среды «цветного» ряда Гисса.**

* Некоторые бактерии расщепляют углеводы **только до кислоты,** некоторые расщепляют **до кислоты и до газа**, что также учитывается при идентификации.
* Для определения газообразования в пробирки с жидкой средой вкладывают стеклянный поплавок, который всплывает в случае образования газа при расщеплении углеводов.
* В полужидких средах Гисса газообразование определяют по образованию пузырьков
* ***Для определения сахаролитической активности*** на третий день бактериологического исследования выделенную чистую культуру вносят петлей в пробирки с «пестрым» рядом и инкубируют при 37°C в течение 18-24ч или дольше.
* Расщепление бактериями углеводов протекает до образования кислых продуктов, при этом происходит изменение цвета среды; при расщеплении углеводов до кислоты и газа, параллельно с изменением цвета среды происходит образование пузырьков газа внутри поплавков. При использовании полужидких сред пузырьки газа образуются дне пробирок. При отсутствии ферментации цвет среды не меняется.
* Поскольку для каждого углевода используется отдельная пробирка, цвет в которых меняется в связи с ферментацией углеводов благодаря индикатору, весь ряд пробирок приобретает «пёстрый» вид .
* **Короткий «пестрый» ряд** представлен жидкими средами, содержащими моно- и дисахариды - глюкозу, лактозу, сахарозу, мальтозу и шестиатомный спирт –маннит.
* **Длинный «пестрый» ряд** помимо вышеуказанных углеводов, содержит различные моносахариды (арабинозу, ксилозу, рамнозу, галактозу и др.), полисахариды (инулин, крахмал, гликоген и др.) и спирты ( глицерин, дульцит, инозит и др.)
* Во все среды в качестве индикатора добавляют реактив Андраде

**Изучение способности микроорганизмов расщеплять белки (*протеолитической активности).***

Изучение протеолитической активности выделенной бактериальной культуры основывается на определении способности разжижения желатина, и образования конечных продуктов расщепления белков - аммиака, индола, сероводорода и др.

**Определение протеолитических ферментов**. Наличие *протеолитических ферментов* определяют при посеве бактериальной культуры уколом в столбик 10-20% желатина. Инокуляты инкубируют при температуре 20-220C в течение нескольких дней. При положительном результате наблюдают разжижение желатина в виде воронки либо в виде перевернутой елочки. В пробирках с пептонной водой можно определить способность к продукции индола, сероводорода и аммиака в течение 2-3дн при 37ºC

**Определение способности продуцировать индол.**

* *Метод Эрлиха:* в пробирке смешивают бактериальную культуру и 2-3 мл эфира, добавляют несколько капель реактива Эрлиха (раствора, приготовленного на основе парадиметиламидобензальдегида, этилового спирта и концентрированной соляной кислоты). В случае индолообразования смесь окрашивается в розовый цвет.
* *Метод Мореля*: индолообразование определяют с помощью индикаторной бумажки, смоченной в щавелевой кислоте и укрепленной пробкой над пробиркой с питательным бульоном. При положительном результате индикаторная бумага краснеет.

**Определение индолообразования реактивом *Ковача.***

Бактериальную культуру инкубируют в среде с триптофаном при 37°C. Под влиянием бактериального фермента триптофаназы, триптофан распадается на индол, аммиак и пировиноградную кислоту. Добавление к среде диметиламинобензальдегида (реактива Ковача) вызывает образование кольца красного цвета

**Определение образования сероводорода.**

* **Полоску индикаторной бумаги, смоченную в ацетате свинца закрепляют в пробирке пробкой.**
* **Почернение нижней части полоски после инкубации пробирки является показателем образования H2S (за счет образования сульфида свинца).**
* **Бактериальную культуру инокулируют иглой в столбик среды, содержащей сульфат железа, тиосульфат натрия и сульфид натрия. При образовании сероводорода столбик агара чернеет**.

**Определение аммиака.**

* Для определения способности к образованию аммиака, проводят посев в МПБ, и между его поверхностью и пробкой закрепляют полоску лакмусовой бумаги.
* При положительном результате бумажка синеет.

**Определение каталазной активности.**

* К капле 1-3% перекиси водорода на предметном стекле добавляют исследуемую культуру. Каталаза расщепляет перекись водорода до воды и кислорода.
* Появление пузырьков газа свидетельствует о наличии каталазы.

**Оксидазный тест.**

**Принцип теста**. Определенные виды бактерий вырабатывают либо цитохромоксидазу, либо индофенолоксидазу (железосодержащий гемопротеин), которые катализируют перенос электронов на кислород. В оксидазном тесте бесцветный краситель *p*-фенилендиамин дигидрохлорид, используемый как искусственный акцептор электронов, при участии оксидазы окисляется и образует окрашенное вещество индофенол синий

**Постановка теста**. Исследуемую культуру помещают на полоску или диск индикаторной бумаги. При положительном результате наблюдается появление синей или лиловой окраски в течение 10-30 сек.

**Применение дифференциально- диагностических сред.**

* Использование дифференциально-диагностических сред позволяет проводить дифференциацию микроорганизмов, а также иногда их идентификацию.
* Дифференциация микроорганизмов на таких средах основывается прежде всего на их ферментативных свойствах.
* В лабораториях помимо среды Гисса, используются среды ***Эндо, Мак Конки, среда с метиленовым синим и эозином (EMB-агар) и пр.***

**Среда Эндо.**

***Состав 1% лактозы и индикатор (****фуксин который обесцвечивается сульфитом натрия)*

Среда имеет розовый цвет. Бактерии, ***сбраживающие лактозу*** в процессе брожения выделяют муравьиную кислоту, которая даёт цветную реакцию с реактивами, в результате чего их колонии окрашиваются в малиново-красный цвет с металлическим блеском. Колонии бактерий, ***не сбраживающих лактозу,*** имеют белый или слабо-розовый цвет (цвет питательной среды).

**Среда Клиглера.**

**Состав:** глюкоза - 0,1%, лактоза -1%, индикатор, сульфат железа, тиосульфат натрия.

**Готовая среда** разлита в пробирках, в виде косого агара розового цвета,

**Инокуляцию** проводят петлей на скошенную часть агара, и иглой в столбик

* При ферментации глюкозы столбик среды окрашивается в желтый цвет, цвет скоса не меняется,
* При ферментации глюкозы и лактозы - пожелтение всей среды (E.coli),
* При образовании H2S наблюдается почернение агара.

**TSİ(triple sugar iron) агар *трехсахарный железосодержащий агар.***

Состав:

* 1% лактоза
* 1% сахароза
* 0,1% глюкоза (при расщеплении которой столбик агара желтеет)
* Сульфат железа (при выделении сероводорода наблюдается образование нерастворимого черного преципитата, связанного с восстановлением тиосульфата в кислой среде в присутствии соли железа.
* Индикатор феноловый красный

**İMVİC тест (включает 4 теста).**

* **Тест на индол**
* **Тест с индикатором метил-рот**
* **Реакция Фогеса-Проскауэра**
* **Цитратный тест**

**Результат IMViC теста у различных бактерий**



**API система*(Application programming interface)***

Перед проведением APİ теста проводят получение чистой культуры и некоторые первичные тесты по идентификации

**Тест 1**: Результат микроскопии мазка, окрашенного по Граму (грам-, грам+, палочковидные, кокковидные и пр.)

**Тест 2**: Тесты на ферменты дыхания🡪 оксидазу, каталазу

**Современные автоматизированные системы идентификации микроорганизмов.**

* **Анализатор Vitek 2 Compact** – полностью автоматическая система, обеспечивающая идентификацию микроорганизмов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам за один день. Идентификация осуществляется путем автоматического определения биохимических свойств микроорганизмов, но если полная идентификация невозможна, то степень достоверности результатов об идентифицируемых микробах возможно указать в процентах, основываясь на данных компьютерной программы.
* Все используемые анализаторные системы требуют получения идеальной чистой культуры идентифицируемых микроорганизмов
* После внесения инокулята (выделенной чистой культуры) в кассету, требуется определенное время для инкубации и уточнения результатов
* В завершении анализа система устанавливает видовую и родовую принадлежность микроорганизмов из инокулята, и определяет их чувствительность или резистентность к антимикробным препаратам
* Анализатор также позволяет установить минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) противомикробного препарата и сделать выводы о механизмах резистентности

**Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация MALDİ-TOF**

Автоматизированная система основанная на масс спектрометрии

**Принцип**

Физическое определение клеточных белков с помощью масс-спектрометрии

**+** сравнение полученного спектрального профиля с базой данных

***Biomerieux VİTEK-2***

Анализатор Vitek-2 Compact представляет собой автоматическую систему.

Идентификация микроорганизмов

Определяется чувствительность к антимикробным препаратам (в течение 1 дня)

Имеет пластиковых карты с 64 углублениями.

Грамотрицательные бактерии

грамположительные бактерии

Дрожжевые грибы

Анаэробные бактерии, нейссерии, гемофильные бактерии

Из высоковирулентных микроорганизмов: Brucella melitensis, Burkholderia pseudomallei, Francisella tularensis, Burkholderia mallei, Escherichia coli O157, Vibrio cholerae, Yersinia pestis.

Время получения результата 6-8 часов.