МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

ВНУТРИВИДОВОЕ ТИПИРОВАНИЕ ДИЗЕНТЕРИЙНЫХ БАКТЕРИЙ ЗОННЕ ПО КОЛИЦИНОГЕННОСТИ И КОЛИЦИНОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Для республиканских, областных и городских бактериологических лабораторий

Москва — 1971 г.

gost.e-ecolog.ru

Одобрено комиссией по лабораторному делу при ГСЭУ МЗ СССР

Составители:

Кандидат мед. наук	Ю. П. Солодовников
	М. В. Турчинская
	Ю. В. Толмачева
Кандидат мед. наук	П. И. Емельянов
Кандидат мед. наук	М. А. Смирнова-Мутушева
Кандидат мед. наук	Б. А. Годованный
Кандидат мед. наук	С. Д. Татаринова

«УТВЕРЖДАЮ»
Заместитель начальника Главного
санитарно-эпидемиологического
Управления МЗ СССР
В. ПОПОВ
10 марта 1971 г.

МЕТОДИЧЕСКИЕ МАТЕРИАЛЫ

Внутривидовое типирование дизентерийных бактерий Зонне по колициногенности и колициночувствительности

ВВЕДЕНИЕ

В этиологической структуре бактериальной дизентерии на большей части территории Советского Союза преобладают в настоящее время заболевания, вызываемые шигеллами Зонне. В связи с отсутствием методов серологического типирования данных возбудителей весьма актуальным является внедрение других методов внутривидового подразделения дизентерийных бактерий Зонне.

Возможность дифференциации возбудителя на достаточное число четко характеризующихся стабильных типов, установление типового состава шигелл Зонне в масштабах страны или на отдельных территориях могут способствовать изучению закономерностей эпидемического процесса дизентерии, углубленному проведению эпидемиологического анализа заболеваемости, уточнению данных эпидемиологического обследования очагов инфекции с целью разработки эффективных противоэпидемических мероприятий.

Согласно литературным данным (Фредерик, 1953, 1960; Аббот и Шеннон, 1958; Папависсилиу с соавт., 1964; Д. Г. Кудлай с соавт., 1964; Д. Г. Кудлай и В. Г. Лиходед, 1966 и др.), а также результатам собственных исследований составителей настоящих методических материалов, для типирования патогенных энтеробактерий, в том числе шигелл Зонне, могут быть использованы методы, основанные на феномене колициногении.

Явление колициногении было впервые обнаружено Грациа в 1925 г. Колицины — это вещества белковой природы, про-

[1] Разработаны Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии Министерства здравоохранения СССР.

дуцируемые некоторыми видами бактерий семейства кишечных и тормозящие рост чувствительных к ним культур того же или филогенетически родственного вида бактерий. Колицины различаются между собой как по спектру действия на чувствительные бактерии, так и по ряду физико-химических свойств. В настоящее время известно 24 типа колицинов, обозначаемых буквами латинского алфавита А; В1; В2; С; Д; Е1; Е2; Е3; Е4; G; H; I; K; L; M; N; O; P; X; V1; V2; V3; V4; V5.

Способность продуцировать колицины («колициногенность») и тип продуцируемого колицина являются стойкими наследственными признаками, которые определяются присутствием в бактериальных клетках особых генетических элементов, т. н. колициногенных факторов.

Чувствительность к колицинам («колициночувствительность») связана с наличием на поверхности бактерий рецепторов, на которых происходит адсорбция колицинов. Это свойство высоко специфично, поскольку различные колицины или группы колицинов фиксируются на строго определенных рецепторах.

Бактериальная клетка, как правило, бывает резистентна (иммунна) к действию колицина того типа, который она сама вырабатывает.

Способностью к колицинопродукции обладают не все бактерии семейства кишечных; не все культуры являются также колициночувствительными. В связи с этим внутривидовое типирование бактерий на основе феномена колициногении целесообразно только для тех видов, у которых эти свойства выражены в достаточной степени. К таким видам относятся кишечные палочки, шигеллы Зонне, Флекснера, Ньюкасл, Бойда и др.

Колициногенность отмечается у 60—95% выделяемых штаммов шигелл Зонне; чувствительны к колицинам — 90—95% этих бактерий.

Подразделение бактерий на основе их колициногенных свойств обозначается как «колициногенотипирование», дифференциация бактерий по чувствительности к определенным колицинам носит название «колицинотипирования».

В процессе роста колициногенного штамма колицин диффундирует в окружающую питательную среду. Присутствие колицина в среде может быть выявлено с помощью так называемых универсальных индикаторных штаммов, чувствительных ко всем или подавляющему большинству известных колицинов. Наиболее часто с этой целью употребляют индикаторные штаммы E. coli φ, B или K-12.

Типирование бактерий по колицинопродукции производят с помощью специально подобранных индикаторных культур,

заведомо устойчивых или чувствительных к определенным колицинам.

Колициночувствительность определяют по отношению исследуемых культур к действию колициногенных штаммов, продуцирующих колицины известных типов. Чаще всего при этом употребляют эталонные колициногенные культуры из коллекции проф. Фредерика.

В настоящих материалах приведены два метода типирования шигелл Зонне на основе феномена колициногении:

1) модифицированный метод Абботта и Шеннона;

2) типирование по чувствительности к колицинам (по методу проф. Фредерика).

ТИПИРОВАНИЕ ШИГЕЛЛ ЗОННЕ ПО АББОТТУ и ШЕННОНУ

1. Набор индикаторных и типовых штаммов и схема типирования

Метод основан на определении характера действия колицинов, продуцируемых исследуемыми штаммами бактерий Зонне, на 15 индикаторных культур, из которых 13 — шигеллы Зонне, I — Sh. dysenteriae 2 (Штуцер-Шмитца) и I — вариант E. coli K-12 Row.

С помощью этих индикаторных культур в настоящее время удалось установить 17 колициногенотипов бактерий Зонне. Типы являются стабильными и редко меняются при хранении культур в лабораторных условиях. Штаммы, выделенные в эпидемических очагах дизентерии и происходящие от одного и того же источника инфекции, относятся, как правило, к одному колициногенотипу. При выделении в одном очаге культур разных колициногенотипов можно предполагать наличие нескольких источников инфекции.

Помимо индикаторных культур, в набор входят 15 типовых колициногенных штаммов шигелл Зонне, каждый из которых принадлежит к определенному колициногенотипу. Эти штаммы используются для контроля стабильности свойств индикаторных культур.

Перечень индикаторных и типовых штаммов, а также схема типирования шигелл Зонне по методу Абботта и Шеннона представлены, соответственно, в таблицах, 1, 2 и 3.

Таблица 1

ИНДИКАТОРНЫЕ ШТАММЫ

Наименование оригинального штамма		Регистрационный номер	Наименование оригинального штамма		Регистрационный номер
Sh. sonnei	2	100031	Sh. sonnei	R6	100039
Sh. sonnei	56	100032	Sh. dysenteriae 2	M19	NCTC. 8218
Sh. sonnei	17	100033	Sh. sonnei	2/7	100040
Sh. sonnei	2M	100034	Sh. sonnei	2/64	100041
Sh. sonnei	38	100035	Sh. sonnei	2/15	100042
Sh. sonnei	56/56	100036	Sh. sonnei	5	100043
Sh. sonnei	56/98	100037	E. coli	K-12 Row	100044
Sh. sonnei	R1	100038			

Таблица 2

ТИПОВЫЕ КОЛИЦИНОГЕННЫЕ ШТАММЫ ДЛЯ ПЕРИОДИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ РАБОТЫ ИНДИКАТОРНЫХ КУЛЬТУР

Наименование штаммов	Регистрационный номер	Колицииногенотип	Наименование штаммов	Регистрационный номер	Колицииногенотип
Sh. sonnei	100045	1а	Sh. sonnei	100052	7
Sh. sonnei	100046	1в	Sh. sonnei	100053	8
Sh. sonnei	100047	2	Sh. sonnei	100054	9
Sh. sonnei	100034	3	Sh. sonnei	100055	10
Sh. sonnei	100048	3а	Sh. sonnei	100056	11
Sh. sonnei	100049	4	Sh. sonnei	100057	12
Sh. sonnei	100050	5	Sh. sonnei	100058	13
Sh. sonnei	100051	6			

Регистрационные номера индикаторных штаммов указаны в соответствии с перечнем международного справочного центра по шигеллам в Лондоне, откуда получен данный набор. В повседневной работе удобно обозначать индикаторные штаммы последними цифрами соответствующих регистрационных номеров (31, 32, 33 и т. д.). Типовые колициногенные штаммы обозначают номерами соответствующих типов.

Таблица 3

Схема колициногенотипирования шигелл Зонне по методу Абботта и Шеннона

Типы	Индикаторные культуры														
	31	32	3	34	35	36	37	38	39	8218	40	41	42	43	44
1A	+	+	+	—	—	+	+	—	—	+	—	—	—	—	+
1B	+	+	+	—	—	+	+	—	+	+	—	—	—	—	+
2	—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+
3	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3A	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
4	+	+	+	V	+	—	—	+	+	—	+	+	+	—	+
5	+	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
6	—	+	—	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	+
7	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8	+	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	—	+	—	+
9	+	+	+	—	V	+	+	+	+	—	—	—	+	—	+
10	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
12	+	+	—	—	+	+	+	+	+	—	—	—	+	—	+
13	—	+	+	—	—	+	+	—	+	—	—	—	—	—	+
14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	—	+
15	+	—	+	+	+	—	—	+	—	—	+	+	+	+	+

Обозначения:

\+ наличие зоны торможения роста индикаторных штаммов;
— отсутствие зоны торможения;
V вариабельные результаты.

Как видно из приведенной схемы, некоторые индикаторные штаммы обладают идентичной чувствительностью к колицинам эталонных культур (№№ 36 и 37; 35, 38 и 42; 40 и 41).

В связи с этим в практических условиях можно ограничиться использованием 10 индикаторных культур (№№ 31, 32, 33, 37, 39, 8218, 41, 42, 43, 44). Сокращенная схема колициногенотипирования шигелл Зонне представлена в таблице 4.

Таблица 4

Сокращенная схема колициногенотипирования шигелл Зонне

Колициногенотипы	31	32	33	37	39	8218	41	42	43	44
1А	+	+	+	+	—	+	—	—	—	+
1В	+	+	+	+	+	+	—	—	—	+
2	—	+	+	—	+	—	—	—	—	+
3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3А	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+
4	+	+	+	—	+	—	+	+	—	+
5	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+
6	—	+	—	+	+	—	—	—	—	+
7	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
8	+	—	+	—	—	—	—	+	—	+
9	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+
10	+	+	+	+	+	+	—	+	—	+
11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
12	+	+	—	+	+	—	—	+	—	+
13	—	+	+	+	+	—	—	—	—	+
14	+	+	+	+	+	—	+	+	—	+
15	+	—	+	—	—	—	+	+	+	+

2. Среды, применяемые при типировании

Состав и плотность питательных сред оказывают существенное влияние на продукцию колицинов бактериями, а также на скорость и степень диффузии колицинов в агаре.

Наилучшие результаты типирования получаются при применении сухого питательного агара «Д» производства Дагестанского института питательных сред. Можно использовать также 1,5% питательный агар на гидролизате Хоттингера с конечным содержанием аминного азота в среде 130—150 мг% и pH = 7,4.

Для усиления колицинопродукции исследуемых культур и подавления роста воздушной флоры к питательному агару добавляют раствор генцианвиолета (2—4 капли 0,1% водного раствора на 100 мл среды).

Среды заготавливают во флаконах небольшими партиями из расчета использования их максимум в течение 2-х недель. Флаконы должны быть плотно закупорены для предохранения агара от высыхания и, следовательно, изменения его плотности.

Накануне постановки опыта среду во флаконе растапливают на водяной бане и разливают в чашки Петри по 20 мл. В день опыта чашки помещают в термостат и оставляют их там слегка приоткрытыми на 30 минут для испарения конденсационной жидкости.

3. Техника и ход исследования

Исследование производят методом перекрестных посевов. Изучаемые культуры, предварительно выращенные в течение суток в пробирках с бульоном, сеют с помощью бактериологической петли двумя линейными штрихами параллельно диаметру чашки по обе стороны от него. Расстояние между штрихами — 3—4 см (рис. 1)

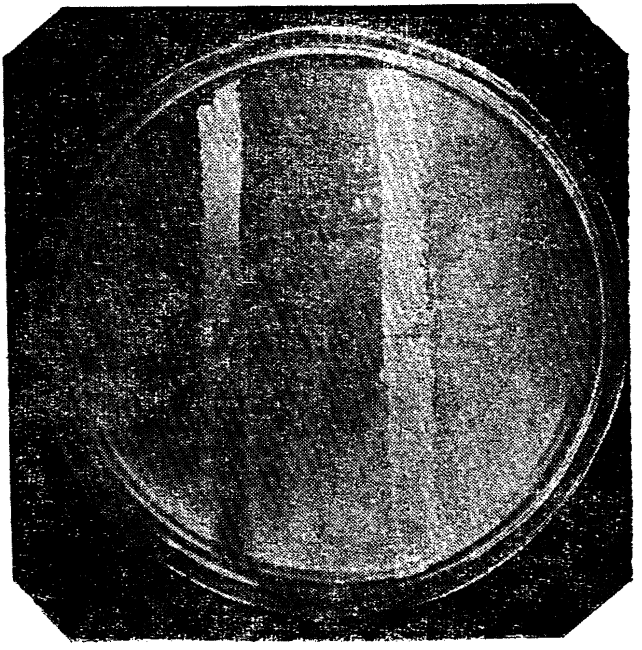


Рис. 1. Посев исследуемой культуры.

Посевы инкубируют в термостате при 36—37° в течение 48-ми часов. За этот срок в питательной среде накапливаются колицины в концентрации, достаточной для выявления их действия на индикаторные штаммы. По окончании инкубации выросшие культуры убивают парами хлороформа, для чего в крышку опрокинутой дном вверх чашки Петри с выросшей исследуемой культурой наливают около 0,5 мл хлороформа и, закрыв чашку, оставляют ее на столе на 40—60 минут.

Убитую культуру удаляют (соскребают) узким краем чистого шлифованного предметного стекла, стараясь при этом не повредить поверхности агара.

Затем на агар наносят 4-х часовые бульонные культуры индикаторных штаммов в виде линейных штрихов, пересекающих линии посева исследуемых культур в перпендикулярном к ним направлении (рис. 2).

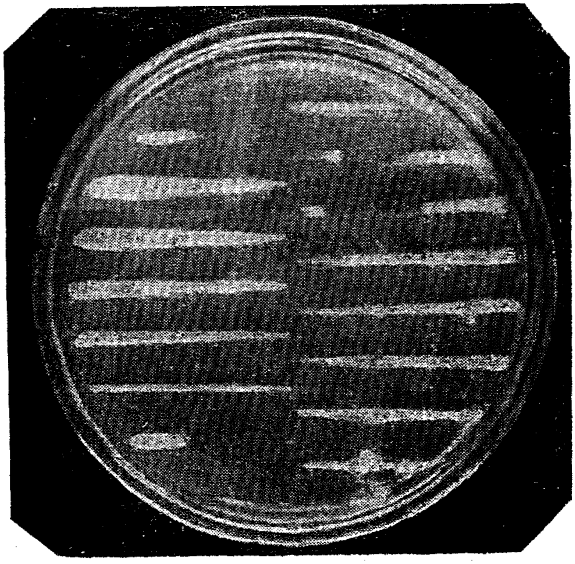


Рис. 2. Посевы индикаторных штаммов. Видны зоны торможения роста некоторых культур.

Посевы индикаторных штаммов располагают на равном расстоянии друг от друга таким образом, чтобы линии, находящиеся на одной половине чашки, приходились против промежутков между линиями на другой половине чашки и не сливались. При посеве индикаторных культур постоянно со-

блюдают один и тот же порядок их размещения, что позволяет, при достаточном навыке, не производить нумерацию штаммов на чашке. При использовании всех 15 индикаторных культур, как показано на рисунке 2, на одной половине чашки сеют 8 штаммов (с 31 по 38), а на другой — остальные 7 штаммов (с 39 по 44). При применении 10 индикаторных штаммов сеют, соответственно, 6 и 4 культуры. Такое распределение также позволяет не нумеровать нанесенные штаммы.

После посева индикаторных штаммов чашки помещают в термостат еще на 18—20 часов при 37° С.

4. Учет результатов.

Если исследуемая культура является колициногенной, наблюдается торможение роста индикаторных штаммов, чувствительных к продуцируемым колицинам. При этом линия роста чувствительного штамма прерывается в том месте, где она пересекает зону диффузии колицина в питательную среду. Штаммы, устойчивые к определенному колицину, растут в виде сплошных непрерывных штрихов. Такими же штрихами растут все 15 индикаторных штаммов в том случае, когда исследуемая культура не продуцирует колицинов.

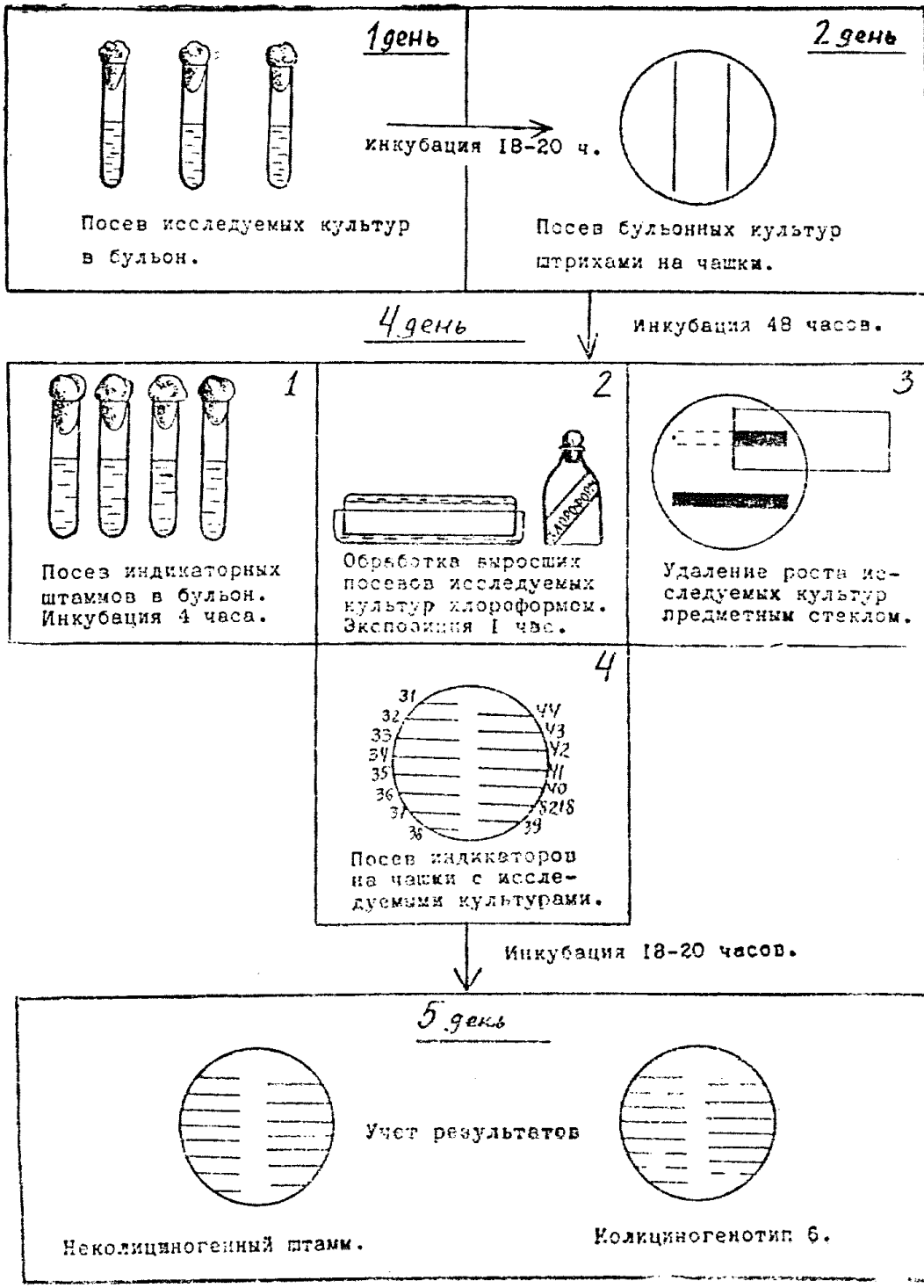
Штамм E. coli Row (№ 44) чувствителен к колицинам всех известных в настоящее время колициногенотипов шигелл Зонне, за исключением типа 7.

Величина зоны торможения роста зависит от концентрации и степени диффузии колицина в агар и выраженности чувствительности индикаторных штаммов.

Учет результатов производят по наличию или отсутствию зон торможения роста индикаторных культур. Культура считается чувствительной, если зона торможения составляет более 4 мм. В некоторых случаях в зоне торможения роста чувствительного штамма наблюдается рост отдельных резистентных колоний или островков индикаторной культуры. При определении размеров зоны торможения эти колонии и островки не принимают во внимание, учитывают всю ширину зоны от одного ее края до другого.

Установленный спектр действия колицинов исследуемой культуры на индикаторные штаммы сопоставляют со схемой типирования (табл. 3 или 4) и определяют колициногенотип изученного штамма шигелл Зонне.

Схема хода исследования по методу Абботта и Шеннона.



В некоторых случаях установленный тип может не совпадать ни с одним из известных типов. Такие культуры обозначают как нетипируемые. Следует учитывать также возможность обнаружения новых колициногенотипов.

Регистрацию результатов типирования наиболее удобно производить по приведенной ниже форме (табл. 5).

Знаком «+» обозначают ниличие зоны торможения, знаком «—» обозначают отсутствие зоны торможения (сплошной рост индикаторного штамма).

Таблица 5

Форма рабочего журнала для регистрации результатов типирования шигелл Зонне по Абботту и Шеннону (пример регистрации)

№№ исследуемых культур	31	32	33	34	35	3	37	38	39	8218	40	41	42	43	44	Тип
1545	—	+	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—	+	2

КОЛИЦИНОТИПИРОВАНИЕ ПО ФРЕДЕРИКУ

Определение спектра чувствительности культур Зонне к колицинам целесообразно проводить при помощи следующих 11 эталонных (колициногенных) штаммов Фредерика[1]:

E. coli CA — 18 продуцирует колицин B;
E. coli CA — 23 продуцирует колицин Д
E. coli CA — 38 продуцирует колицин E + 1
E. coli CA — 42 продуцирует колицин F
E. coli CA — 53 продуцирует колицин I
E. coli K — 235 продуцирует колицин K
E. coli CA — 62 продуцирует колицин J + I
E. coli CA — 7 продуцирует колицин V
Sh. boydii P — 1 продуцирует колицин S_1

[1] При получении коллекции колициногенных эталонных культур их отвивают в столбики 1,5% мясо-пептонного агара и хранят под вазелиновым маслом в рефрижераторе. Одновременно субкультуры испытывают на способность к продукции колицинов по их действию на универсальные индикаторные штаммы E. coli φ, K-12 и B и определяют их культуральные и биохимические свойства с тем, чтобы при случайном загрязнении можно было установить истинную принадлежность штаммов. Один раз в квартал желательно проверять рабочие эталонные штаммы и убеждаться в том, что они по своим свойствам соответствуют исходным культурам.

Sh. sonnei P — 9 продуцирует колицин $S_3 + I$
B. dispar P — 14 продуцирует колицин S_5

Перечисленные колицины дают четкие зоны угнетения роста бактерий Зонне и позволяют подразделять их на определенные колицинотипы.

Накануне опыта в чашки Петри разливают по 20—25 мл 1,5% мясопептонного агара, подкрашенного генцианвиолетом до слегка синего цвета (2—4 капли 0,1% водного раствора на 100 мл среды). Слабые растворы генцианвиолета угнетают рост воздушной микрофлоры и способствуют повышению колицинопродукции эталонных штаммов.

Чашки со средой подсушивают в термостате. Затем дно чашек делят восковым карандашом (чернилами) на 11 квадратов (по числу эталонных культур). Квадраты обозначают номерами: 1, 2, 3, 4 и т. д. При известном навыке, если колициногенные штаммы постоянно употреблять в одном и том же порядке, можно вообще ограничиться обозначением только начала посева культур. Описанным способом для каждого штамма шигелл, который подлежит испытанию на чувствительность к колицинам, готовят две чашки со средой, т. е. число чашек со средой должно быть в два раза больше, чем число штаммов исследуемых шигелл Зонне.

Эталонные колициногенные штаммы суточной давности, выросшие на среде Ресселя, наносят уколом петли в соответствующий квадрат чашки. После посева каждой эталонной культуры петлю прожигают на пламени горелки.

В целях экономии времени целесообразно, без ущерба для результатов опыта, производить последовательный посев соответствующего эталонного штамма одновременно на 5—7 чашек, размещенных в ряд, при однократном заборе материала со среды Ресселя.

Чашки, засеянные колициногенными культурами, помещают в термостат на 22—24 часа при 37° С, после чего выросшие колонии бактерий стерилизуют парами хлороформа. С этой целью чашки помещают на столе вверх дном и на внутреннюю поверхность крышки наносят 8—12 капель хлороформа. Через 40—50 минут бактерии погибают, а хлороформ улетучивается из чашек.

Затем в пробирку с 2,5 мл расплавленного полужидкого 0,7% агара, охлажденного до 46—48° (пробирка не должна обжигать тыльную сторону кисти руки), вносят 2 капли 6-ти часовой бульонной культуры исследуемого штамма и после встряхивания смесь наслаивают равномерным слоем в чашку поверх агара с колониями нанесенных ранее колициногенных культур. Каждый штамм испытывают на двух чашках.

На крышке записывают номер исследуемого штамма. После 16—20 часового роста при 37° вокруг колоний, к колицинам которых исследуемый штамм бактерий Зонне чувствителен, образуются зоны задержки роста,— подобно зонам задержки роста вокруг диска с антибиотиками. Культура считается чувствительной к колицину, если ширина зоны задержки роста бактерий составляет более 2 мм. Величину зоны подавления роста измеряют от края макроколонии эталонного колициногенного штамма до наружного края зоны и оценивают в плюсах: ширина зоны до 2 мм +, 2—5 мм ++, 5—10 мм +++ и более 10 мм ++++. Такое обозначение позволяет сравнивать степень чувствительности культур к колицинам. Однако необходимо иметь в виду, что ширина зоны угнетения роста бактерий зависит также от характера питательной среды, концентрации агара: чем плотнее среда, тем медленнее идет процесс диффузии колицина в агар вокруг колоний и тем уже зона торможения роста бактерий чувствительного штамма.

Необходимо подчеркнуть, что наслоение чрезмерно густой взвеси бактерий может исказить результаты исследования. В чашке должен быть равномерный, но не чрезмерно густой рост испытуемого штамма.

Результаты типирования культур записывают в виде характеристики спектра их чувствительности к соответствующим колицинам. Например, штамм Sh. sonnei № 1210 колицинотип: B, Д, F, K, V, S_3 + 1; если на обеих чашках спектр чувствительности штамма однотипен, опыт можно считать законченным. При расхождении результатов чувствительности в чашках при изучении одного и того же штамма, исследование повторяют.

Необходимо также учитывать, что наиболее четкие и достоверные результаты колицинотипирования получаются при исследовании свежевыделенных культур и особенно при одновременном испытании культур, полученных из одного очага, т. к. при этом соблюдаются равные условия для всех испытываемых штаммов.

ОРГАНИЗАЦИЯ И МАТЕРИАЛЬНОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ РАБОТЫ

Целесообразно, чтобы постоянное выполнение работы было поручено определенным лицам (врачу и лаборанту), поскольку такая организация исследований способствует повышению их качества и обеспечивает определенную стандартизацию учета результатов исследования, снижая вероятность технических ошибок.

При проведении колициногенотипирования и колицинотипирования не требуется специального сложного оборудования.

Помимо термостата, который является обязательным для любых бактериологических исследований, лаборатория, в которой производится колициногенотипирование, должна иметь холодильник с обычным режимом работы и свертыватель для приготовления среды Дорсэ (см. ниже).

В зависимости от расписания работы лаборатории (пяти- или шестидневная рабочая неделя) постановку опытов можно производить один или два раза в неделю в соответствии со схемой типирования, приведенной выше.

Сокращение срока исследования может быть произведено за счет уменьшения времени инкубации бульонных культур исследуемых штаммов с 18—20 до 4—5 часов (посев утром в начале рабочего дня в бульон с последующим штриховым посевом культур на чашки к концу дня). Могут быть использованы также бульонные культуры, входящие в состав «пестрого» ряда при идентификации выделенных штаммов.

Ниже приведен примерный расчет материалов, необходимых для типирования шигелл Зонне (100 штаммов):

Количество материалов, необходимое для колициногенотипирования 100 штаммов шигелл Зонне

Наименование	Количество
1. Сухой питательный агар Д	100 г
2. Сухой питательный агар	120 г
3. Гидролизат Хоттингера для приготовления питательного бульона	100 г
4. Хлороформ	100 мл

Условия хранения индикаторного набора Абботта и Шеннона

Индикаторные культуры следует хранить на плотной яичной среде Дорсэ или на столбиках 0,5% питательного агара на гидролизате Хоттингера с содержанием аминного азота 130—150 мг% под слоем стерильного вазелинового масла.

Среду Дорсэ готовят по следующей прописи:

3 части — цельные куриные яйца и 1 часть физиологического раствора поваренной соли смешивают до гомогенного состояния в стерильной посуде с бусами, разливают по 3—4 мл в стерильные пробирки с ватными пробками и стерилизуют в свертывателе в скошенном положении при 85° два дня

подряд (2 часа в первый день и 1 час — во второй). По окончании свертывания ватные пробки заменяют резиновыми, стерилизованными в автоклаве.

Пересевы культур на свежую среду производят через 25—30 дней.

Необходимо иметь по 2 пробирки каждого штамма (одна — для текущей работы, другая — для очередного пересева на свежую среду).

После года употребления культур, поддерживавшихся на искусственных питательных средах, рекомендуется обновить набор, используя лиофилизированные штаммы.

Культуры, входящие в набор Абботта и Шеннона, а также набор эталонных колициногенных и универсальных индикаторных штаммов Фредерика можно получить в Государственном контрольном институте медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича (Москва, Сивцев Вражек, 41).

Ориентировочные затраты времени на отдельные виды исследований при колицинотипировании

Наименование исследований	Лаб. един. на 1 анализ	В том числе:	
		лаборанта	врача
Колицинотипирование по Фредерику			
а) первичное исследование	1,5	1,0	0,5
б) каждый последующий анализ	0,3	0,2	0,1
Типирование по Абботту и Шеннону			
а) первичное исследование	2,0	1,5	0,5
б) каждый последующий анализ	0,7	0,5	0,2

Л 85844 от 28/1-70 г. Зак. 246 Объем 1 п. л. Тир. 4500
gost.e-ecolog.ru
Типография Министерства здравоохранения СССР