

Федеральное бюджетное учреждение науки
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»

Отдел новых технологий

СИВОЛОДСКИЙ Е. П.

**СИСТЕМАТИКА
И ИДЕНТИФИКАЦИЯ
ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ**

Издание третье, переработанное и дополненное



Санкт-Петербург
2011

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера является крупнейшим научным учреждением эпидемиологического профиля в Северо-Западном регионе России. С первых лет своего существования и по настоящее время институт осуществляет работы по диагностике инфекционных заболеваний, разработке и производству многих видов лечебных и профилактических препаратов, обеспечению научной обоснованности противоэпидемических мероприятий в борьбе с инфекционными заболеваниями.

Отдел новых технологий

Отдел новых технологий Санкт-Петербургского НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера разрабатывает и осуществляет промышленный выпуск иммуноферментных и эритроцитарных тест-систем для диагностики различных инфекций, селективных сред, препаратов для микробиологических и иммунохимических исследований, диагностических сывороток, флуоресцирующих иммуноглобулинов и др.

Существенным преимуществом выпускаемых наборов и тест-систем является их высокая чувствительность, специфичность и экспрессность.

Наш адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера,
Отдел новых технологий,
Телефаксы: (812) 233-17-03, (812) 325-27-10, 313-69-88
e-mail: pasteurdnt@yandex.ru
[Http://www.dntpasteur.ru](http://www.dntpasteur.ru)

1. Введение

Энтеробактерии вызывают широко распространенные заболевания людей, животных и растений. В медицинском аспекте они имеют наибольшую значимость как ведущие возбудители острых кишечных инфекций (дизентерии, сальмонеллёза, брюшного тифа и паратифов, эшерихиозов, псевдотуберкулеза, кишечного иерсиниоза), чумы, оппортунистических и госпитальных инфекций. При госпитальных инфекциях в США условнопатогенные энтеробактерии составляли 54% возбудителей инфекций мочевыводящих путей, 32% хирургических ран, 38% респираторных заболеваний, 29% бактериемий (Balows A.I., 1991г). При этом 80% всех госпитальных изолятов энтеробактерий составляли 3 "проблемных" вида: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*. Около 99% клинических изолятов энтеробактерий представляли 23 вида. На долю прочих видов энтеробактерий приходилось только 1% изолятов. Установлено отсутствие медицинской значимости бактерий родов *Arsenophonus*, *Xenorhabdus*. Требуется уточнения клиническая значимость бактерий родов *Pragia*, *Rahnella*, *Tatumella*, *Yokenella*, *Budvicia*, *Buttiauxella*, *Leminorella* и других.

2. Систематика энтеробактерий

За период, прошедший после выхода в 2008 году второго издания данного пособия, состав семейства *Enterobacteriaceae* существенно расширился. В дополнение к известным 44 родам включены еще 5 родов и удалены 2 рода бактерий. Переклассифицированы, в основном, с позиций геносистематики многие виды известных родов. Были открыты более 20 новых видов энтеробактерий.

Таксономическое определение семейства *Enterobacteriaceae*, представленное в руководстве "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology" (1984), также сохраняет значение. "Семейство *Enterobacteriaceae* - это грамотрицательные тонкие палочки 0,3-1,0 x 0,6-1,0 мкм, подвижные перитрихи (кроме *Tatumella*) или неподвижные. Они не образуют эндоспores или микроцисты, не кислотоустойчивы. Растут в присутствии кислорода или без него. Хорошо развиваются в пептонных и мясных средах, обычно на среде Мак Конки. Некоторые используют D-глюкозу как единственный источник углерода, другие требуют в качестве добавок витамины и (или) аминокислоты. Питание осуществляют за счет органических соединений; механизм метаболизма дыхательный и ферментативный. Не галлофилы. При ферментации D-глюкозы, других углеводов и многоатомных спиртов продуцируют кислоты и видимые объемы газа. Каталазоположительны, за исключением *Shigella dysenteriae* серовара 1 и *Xenorhabdus nematophilus*, оксидазонегативны. Нитраты редуцируют в нитриты, за исключением некоторых штаммов *Erwinia* и *Yersinia*. Содержание Г+Ц в ДНК 38-60 моль %. ДНК видов, принадлежащих к большинству родов, родственны между собой не более чем на 20%. Такая же степень родства и к *Escherichia coli* - типовому виду всего семейства.

Исключение составляют некоторые виды *Yersinia*, *Proteus*, *Providencia*, *Hafnia*, *Edwardsiella*, ДНК которых имеют 10-20% родства с ДНК видов, принадлежащих к другим родам. Все изученные виды содержат энтеробактериальный общий антиген (СА), кроме *Erwinia chrysanthemi*. Типовой род - *Escherichia* Castellani и Chalmere 1919 -определен Юридической комиссией Международного комитета систематической бактериологии в 1958 году". Следует отметить, что бактерии *Plesiomonas shigelloides*, включенные в семейство энтеробактерий, имеют оксидазу; бактерии *Serratia marcescens subsp. sakuensis* имеют эндоспоры.

Согласно второму изданию руководства "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005) бактерии семейства *Enterobacteriaceae* входят в домен *Bacteria*, тип *Proteobacteria*, класс *Gamma*proteobacteria, порядок *Enterobacteriales*. По состоянию на 01.06.2011 семейство *Enterobacteriaceae* включает 47 родов (табл.1). Представители видов и родов, имеющие медицинскую значимость, представлены в табл.2.

Таблица 1. Список родов семейства *Enterobacteriaceae*

<i>Arsenophonus</i>	<i>Pantoea</i>
<i>Biostraticola</i>	<i>Pectobacterium</i>
<i>Brenneria</i>	<i>Photorhabdus</i>
<i>Buchnera</i>	<i>Plesiomonas</i>
<i>Budvicia</i>	<i>Pragia</i>
<i>Buttiauxella</i>	<i>Proteus</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Providencia</i>
<i>Cedecea</i>	<i>Rahnella</i>
<i>Cronobacter</i>	<i>Raoultella</i>
<i>Dickeya</i>	<i>Saccharobacter</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>Salm onella</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Samsonia</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Serratia</i>
<i>Escherichia</i>	<i>Shigella</i>
<i>Ewingella</i>	<i>Shimwellia</i>
<i>Gibbsiella</i>	<i>Sodalis</i>
<i>Hafnia</i>	<i>Tatumella</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Thorsellia</i>
<i>Kluyvera</i>	<i>Trabulsiella</i>
<i>Leclercia</i>	<i>Wigglesworthia</i>
<i>Leminorella</i>	<i>Xenorhabdus</i>
<i>Mangrovibacter</i>	<i>Yersinia</i>
<i>Moellerella</i>	<i>Yokenella</i>
<i>Morganella</i>	

Таблица 2. Виды бактерий семейства *Enterobacteriaceae*,
имеющие медицинское значение *

Роды	Виды бактерий
<i>Budvicia</i>	<i>B. aquatica</i>
<i>Buttiauxella</i>	<i>B. agrestis</i> , <i>B. brennerae</i> , <i>B. ferragutiae</i> , <i>B. gaviniae</i> , <i>B. izardii</i> , <i>B. noackiae</i> , <i>B. warmboldiae</i>
<i>Cedecea</i>	<i>C. davisae</i> , <i>C. lapagei</i> , <i>C. neteri</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>C. amalonaticus</i> , <i>C. freundii</i> , <i>C. kozeri (diversus)</i> , <i>C. farmeri</i> , <i>C. sedlakii</i> , <i>C. rodentium</i> , <i>C. youngae</i> , <i>C. braakii</i> , <i>C. werkmanii</i> , <i>C. gillenii</i> , <i>C. murliniae</i>
<i>Cronobacter</i>	<i>C. sakazakii</i> subsp. <i>sakazakii</i> , <i>C. sakazakii</i> subsp. <i>malonaticus</i> , <i>C. dublinensis</i> subsp. <i>dublinensis</i> , <i>C. dublinensis</i> subsp. <i>lactaridi</i> , <i>C. dublinensis</i> subsp. <i>lausannensis</i> , <i>C. turicensis</i> , <i>C. muytjensis</i>
<i>Edwardsiella</i>	<i>E. tarda</i> , <i>E. hoshinae</i> , <i>E. ictaluri</i> , <i>E. tarda</i> <i>бюозпynна 1</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i> subsp. <i>cloacae</i> , <i>E. cloacae</i> subsp. <i>dissolvens</i> , <i>E. amnigenus</i> <i>бюозпynна 1</i> , <i>E. amnigenus</i> <i>бюозпynна 2</i> , <i>E. asburiae</i> , <i>E. gergoviae</i> , <i>E. hormaechei</i> , <i>E. nimipressuralis</i> , <i>E. cancerogenus</i> , <i>E. pyrinus</i> , <i>E. kobei</i> , <i>E. helveticus</i> , <i>E. pulveris</i> , <i>E. turicensis</i> .
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. alberti</i> , <i>E. fergusonii</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>E. vulneris</i>
<i>Ewingella</i>	<i>E. americana</i>
<i>Hafnia</i>	<i>H. alvei</i> , <i>H. alvei</i> <i>бюоваp 1</i> , <i>H. paralvei</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>K. oxytoca</i> , <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i> , <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i> , <i>K. pneumoniae</i> subsp. <i>rhinoscleromatis</i> , <i>K. mobilis</i> , <i>K. granulomatis</i> , <i>K. singaporensis</i> , <i>K. variicola</i>
<i>Kluyvera</i>	<i>K. ascorbata</i> , <i>K. cryocrescens</i> , <i>K. intermedia</i> , <i>K. georgiana</i>
<i>Leclercia</i>	<i>L. adecarboxylata</i>
<i>Leminorella</i>	<i>L. grimontii</i> , <i>L. richardii</i>
<i>Moellerella</i>	<i>M. wisconsensis</i>
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i> subsp. <i>morganii</i> , <i>M. morganii</i> subsp. <i>sibonii</i> , <i>M. morganii</i> <i>бюоваp 1</i> , <i>M. psychrotolerans</i>
<i>Pantoea</i>	<i>P. agglomerans</i> , <i>P. dispersa</i> .
<i>Plesiomonas</i>	<i>P. shigelloides</i> .
<i>Pragia</i>	<i>P. fontium</i>
<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> , <i>P. myxofaciens</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> .

<i>Providencia</i>	<i>P. alcalifaciens, P. heimbachae, P. rettgeri, P. rustigianii, P. stuartii.</i>
<i>Rahnella</i>	<i>R. aquatilis</i>
<i>Raoultella</i>	<i>R. planticola, R. terrigena, R. ornithinolytica</i>
<i>Salmonella</i>	<i>S. bongori, S. enterica subsp. enterica, S. enterica subsp. arizonae, S. enterica subsp. diarizonae, S. enterica subsp. houtenae, S. enterica subsp. indica, S. enterica subsp. salamae, S. subterranea</i>
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens subsp. marcescens, S. marcescens subsp. sakuensis, S. liquefaciens, S. proteamaculans, S. ficaria, S. fonticola, S. grimesii, S. plymuthica, S. rubidaea, S. odorifera biovar 1, S. odorifera biovar 2, S. urealytica, S. quinivorans</i>
<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae, S. flexneri, S. boydii, S. sonnei</i>
<i>Shimwellia</i>	<i>S. blattae, S. pseudoproteus</i>
<i>Yersinia</i>	<i>Y. enterocolitica subsp. enterocolitica, Y. enterocolitica subsp. palearctica, Y. pseudotuberculosis, Y. pestis, Y. frederiksenii, Y. kristensenii, Y. intermedia, Y. mollaretii, Y. rohdei, Y. ruckeri, Y. aldovae, Y. bercovieri, Y. aleksiciae, Y. massiliensis, Y. similis.</i>
<i>Yokenella</i>	<i>Y. regensburgi</i>

Обозначения:

* По « Manual of clinical microbiology » Ed.P.R.Murray, E.I.Barron, M.A.Pfaller, et al.-1999-ASM Press. Washington.D.C. 7th ed. с дополнениями.

3. Идентификация энтеробактерий

3.1 Селективно-дифференциальные питательные среды для одноэтапного выделения и прямой идентификации "проблемных" энтеробактерий

С 1905 года в лабораторной практике широко применяют универсальные питательные среды для выделения энтеробактерий: Мак-Конки агар, эозин-метиленовый синий агар (Левина). Они обеспечивают также рост многих видов грамотрицательных бактерий других семейств и некоторых грамположительных бактерий (энтерококков).

Для выделения патогенных энтеробактерий (сальмонелл, шигелл, иерсиний, энтеропатогенных эшерихий) используется большой арсенал селективно-дифференциальных сред: сальмонелла - шигелла агар, гектоен-энтерик агар, дезоксихолат-цитратный агар, дезоксихолат-цитрат-лактоза-сульфит агар, ксилоза-лизин-дезоксихолат агар, бактоагар Плоскирева, висмут-сульфит агар, ЦИН - агар и др. Указанные среды не обеспечивают прямой идентификации бактерий, в связи с чем необходимо выделение их в чистой культуре и последующая идентификация широким набором тестов, что длительно и трудоемко.

В целях ускорения исследования, значительного сокращения объема работы и материальных средств в последние годы разработана группа хромогенных питательных сред для одноэтапного выделения и прямой идентификации наиболее частых и значимых в медицине («проблемных») энтеробактерий. К проблемным энтеробактериям относятся сальмонеллы и другие возбудители острых диарейных инфекций, возбудители раневых и госпитальных инфекций (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, *Proteus mirabilis*). Эти же энтеробактерии наиболее важны для санитарной микробиологии.

Хромогенные питательные среды основаны на выявлении специфических или уникальных ферментов микроорганизмов. Для обнаружения специфического фермента в состав среды включают хромогенные субстраты-вещества, при расщеплении которых образуются окрашенные или флюоресцирующие продукты (светятся в УФ свете). В результате хромогенная среда контрастно изменяет свой цвет или флюоресцирует при обнаружении искомого микроорганизма. Большинство хромогенных сред содержат также селективные добавки, подавляющие рост нежелательных бактерий. Использование хромогенных сред позволяет ускоренно (в течение суток), одноэтапно выделить и одновременно идентифицировать искомые бактерии без проведения дальнейших, дополнительных тестов (или используя 1-2 теста, выполняемых в течение нескольких часов в пределах первых суток).

По таксономическому уровню различают хромогенные питательные среды групповой, родовой, видовой и внутривидовой идентификации. По завершенности исследования среды одноэтапной прямой идентификации подразделяют на среды первичной и окончательной идентификации.

Для прямой групповой идентификации колиформных бактерий и видовой идентификации *E. coli* в клиническом материале, воде, пищевых продуктах производятся среды Chromacult Coliform Agar (фирмы Мерск KGaA, Германия). Комбинация двух хромогенных субстратов позволяет одновременно определить колиформные бактерии и *E. coli*. Фермент β-галактозидаза, характерный для колиформных бактерий, расщепляет хромогенный субстрат SalmonGal, что приводит к окрашиванию колоний колиформных бактерий в розовый (красный) цвет. Фермент β-глюкуронидаза, характерный для *E. coli*, расщепляет хромогенный субстрат X-глюкуронид. *E. coli* имеет оба фермента, поэтому их колонии окрашиваются в темно-синий (фиолетовый) цвет и четко отличаются от колоний колиформных бактерий. Рост грамположительных бактерий подавляется тергитолом-7. Для подтверждения *E. coli* необходима постановка теста на индол на чашке или микрообъемным методом. Однако среда не обладает полной специфичностью (около 5% *E. coli*, в том числе *E. coli* O157:H7, не обладают β-галактозидазой, а некоторые штаммы шигелл, сальмонелл, иерсиний ее имеют).

Для прямой идентификации колиформных бактерий и *E. coli* в жидкой среде

предназначена среда Fluorocult LMX (фирмы Merck KGaA, Германия). Колиформные бактерии выявляются по расщеплению хромогенного субстрата X-Gal специфическим ферментом β-галактозидазой, в результате чего исходный цвет среды в пробирке меняется от светло-желтого до сине-зеленого. *E.coli* выявляются по расщеплению флюорогенного субстрата MUG ферментом β-глюкуронидазой, в результате чего образуется флюоресцирующий в УФ-свете (366 нм) продукт реакции. Постановка теста на индол реактивом Ковача, в той же пробирке, позволяет надежно выявить *E.coli*. Все исследование завершается в течение (18-20)ч после посева материала.

К хромогенным средам внутривидовой идентификации относятся питательные среды для выделения и идентификации энтерогеморрагической *E.coli* 0157:H7 Fluorocult HC Agar acc. to SZABO и CT-Sorbitol MacConkey Agar (CT-SМАК Agar), производимые фирмой Merck (Германия). Среда предназначена для выделения этих бактерий из пищевых продуктов и клинического материала. В состав среды Fluorocult HC Agar acc. to SZABO входит сорбит с индикатором бромкрезоловый пурпурный и хромогенный субстрат 4-метилумбеллиферил-β-глюкуронид, который расщепляется β-глюкуронидазой с образованием флюоресцирующего 4-метилумбеллиферона. Грамположительная микрофлора подавляется солями желчных кислот. В отличие от остальных кишечных палочек *E.coli* 0157:H7 не ферментирует сорбит и не имеет β-глюкуронидазы. После инкубации посевов в течение (16-24)ч при температуре 41°C учет проводят двухэтапно: вначале отмечают сорбит-отрицательные колонии (неокрашенные), затем облучают колонии ультрафиолетовым светом и отмечают нефлюоресцирующие колонии. Отобранные колонии (неокрашенные, нефлюоресцирующие) дополнительно тестируют агглютинирующими сыворотками к *E.coli* 0157:H7 или экспрессным иммунохроматографическим тестом Singlepath *E.coli* 0157 (Merck, Германия) в течение 20 минут. Питательная среда CT-SМАС Agar состоит из среды Мак-Конки, в которую добавляют сорбит и суплемент СТ (цефиксим и теллурид калия). После инкубации посевов в течение (16-24)ч при температуре (35-37)°C отмечают неокрашенные (сорбит-негативные) колонии и дополнительно тестируют их сыворотками к *E.coli* 0157:H7 или используют экспрессный иммунохроматографический тест Singlepath *E.coli* 0157 (Merck, Германия).

Для выделения и прямой родовой идентификации сальмонелл производится хромогенная среда Rambach Agar (Merck KGaA, Германия). В состав среды входит специфический для сальмонелл субстрат пропиленгликоль. Он ферментируется сальмонеллами до кислоты, действие которой на смесь рН-индикаторов окрашивает колонии сальмонелл в красный цвет. Колиформные бактерии образуют сине-зеленые колонии, шигеллы и протеи бесцветные, слегка желтоватые колонии. Дезоксихолат натрия ингибирует «роение» протея и грамположительную микрофлору. Исследуемый материал предварительно проходит этап подращивания на селективной среде обогащения для сальмонелл, затем высевается на ¼ чашки с Rambach-агаром. Учет

результатов проводят через 24 ч инкубации при температуре 37°C. Среда позволяет окончательно идентифицировать сальмонеллы с 99% специфичности и (97-99)% чувствительности. Для ускоренного селективного выделения и обогащения сальмонелл из пищевых продуктов и объектов окружающей среды фирма Merck производит среды: DIASALM agar *Salmonella*, MSRV Agar *Salmonella*, Salmosyst *Salmonella*. После подрачивания на этих средах идентификация сальмонелл проводится на среде Rambach Agar.

Для выделения и прямой идентификации бактерий рода *Salmonella* в клиническом материале и пищевых продуктах фирма BioMerieux (Франция) производит хромогенную среду «SM-ID». Среда основана на комбинированном действии двух хромогенных субстратов (на β-глюкуронидазу и β-галактозидазу) в сочетании индикатором нейтральным красным. Селективные факторы соли желчных кислот и бриллиантовый зеленый. Через (16-24) ч инкубации посевов колонии сальмонелл идентифицируются по розовой окраске (колонии прочих бактерий бесцветные, голубые или пурпурные). Идентификация недостаточно специфична: не определяются сальмонеллы подвида *arizonae*, сероваров *gallinarum* и *pullorum*; ложноположительными могут быть колонии некоторых штаммов эшерихий, шигелл, морганелл, иерсиний.

Для выделения и прямой идентификации сальмонелл в клиническом материале и пищевых продуктах фирма Merck (Германия) производит среду XLT4 Agar (ксилоза-лизин-тергитол-4 агар). Среда разработана Miller R.G., Tate C.R. в 1990г. Селективным фактором среды является тергитол-4 (тетрадецилсульфат натрия), который добавляется на 1 л среды в количестве 4,6 мл (26-28)% раствора. В состав среды входят лизин, ксилоза, лактоза, сахароза, феноловый красный и другие компоненты. Индикация сальмонелл проводится по черной окраске колоний, обусловленной продукцией сероводорода, который образуется только в благоприятных щелочных условиях при ферментации лизина и отсутствии, или малой интенсивности, ферментации ксилозы, лактозы, сахарозы. Через (24-48)ч инкубации посевов при температуре (35-37) °C колонии микроорганизмов имеют следующий вид: сальмонелл - черные или красно-фиолетовые с черным центром; *Citrobacter freundii* - желтые; протея - желтые, рост его угнетен; кишечной палочки - желтые; шигелл - бесцветные на красном фоне среды. Следует отметить, что черную окраску колоний могут иметь бактерии *Edwardsiella tarda*, но они встречаются редко и легко отличимы дополнительным микрообъемным тестом на продукцию индола (3 ч).

К средам групповой идентификации относится питательная среда для выделения бактерий родов протеус, провиденция, морганелла. которая производится НПО «Питательные среды» (г.Махачкала). Среда разработана А.Ф.Мороз, Л.Д.Газимуратовой, Г.Е.Афиногеновым в 1978 г. Принцип ее действия состоит в использовании узкоселективного действия поверхностноактивного вещества

амфотерного класса «амфолана» (хлоргидрат алкилэтилглицина) в концентрации 0.125%, допускающего рост только бактерий групп: протеус, провиденция, морганелла. Среда позволяет выделять указанные бактерии одноэтапно через 24 ч. По нашим данным среда обладает неполной специфичностью (допускается рост отдельных штаммов клебсиелл и серраций) и угнетает рост 10-15% штаммов *Proteus mirabilis* и *Providencia*. Поэтому необходимо дополнительное изучение колоний микрообъемным тестом на триптофандезаминазу в течение 3 ч.

Нами разработана хромогенная питательная среда «Протеус ППМ» для одноэтапного выделения и прямой идентификации группы бактерий родов *Proteus*, *Providencia*, *Morganella* (Сиволодский Е.П., 1986, 1992). Она основана на выявлении специфического для указанных бактерий фермента триптофандезаминазы, под действием которого колонии бактерий и окружающие их зоны питательной среды окрашиваются продуктами расщепления L-триптофана в темно-коричневый цвет. «Роение» протея, а также рост грамположительной микрофлоры и некоторых видов грамположительных бактерий подавляется сульфанолам, входящим в состав среды. Среда обладает высокой аналитической чувствительностью для протеев, провиденций, морганелл (2-6 КОЕ), имеет 100% специфичность для клинических штаммов и высокую диагностическую чувствительность (95%). Среда пригодна для клинической и санитарной микробиологии. Производится отделом новых технологий НИИЭМ им. Пастера (г. Санкт-Петербург).

К питательным средам родовой идентификации относится разработанная нами первая отечественная хромогенная питательная среда «*Klebsiella* 5-АСК» для одноэтапного выделения и окончательной идентификации бактерий рода *Klebsiella* (Сиволодский.Е.П., 1985, 1988) Состав питательной среды (г/л): сухой питательный агар из рыбного гидролизата 32-35; L-арабиноза 8-12; 5-аминосалициловая кислота (5-АСК) 4,5-5,5; бромтимоловый синий 0,06-0,08; дистиллированная вода 1 литр; 1 N раствор NaOH до установления pH 6,8-7,2. Приготовление среды: в стерильную колбу, содержащую 200 мл расплавленного стерильного питательного агара вносят 1г 5-АСК, 2г L-арабинозы; 0,8мл 1,6% спиртового раствора бромтимолового синего, перемешивают, добавляют 1N раствор NaOH (около 6мл) до появления зеленой окраски среды (pH 6,8-7,2); разливают среду в стерильные чашки Петри. Среда прозрачная, зеленого цвета, пригодна к использованию в течение 5 суток хранения при 4°C. Порядок использования среды: исследуемый материал (отделяемое ран, моча и др.) засевают петлей на поверхность среды (можно на ¼ часть чашки), инкубируют посевы при (35-37)°C в течение (20-24) ч, после чего окончательно идентифицируют бактерии рода *Klebsiella* по наличию зон черно-коричневой окраски среды вокруг выросших колоний или газона бактерий.

Среда создана на основе обнаруженной нами уникальной хромогенной реакции клебсиелл с 5-аминосалициловой кислотой (5-АСК). Установленный нами

биохимический механизм хромогенной реакции (Сиволодский Е.П. и соавторы, 1994) состоит в следующем: на первом этапе реакции в аэробных или анаэробных условиях обнаруженный нами уникальный фермент клебсиелл 5-аминосалицилат-декарбоксилаза отщепляет карбоксильный радикал от 5-АСК, образуя промежуточный бесцветный продукт пара-аминофенол, который на втором этапе реакции, протекающем только в аэробных условиях уже без участия бактерий, окисляется кислородом воздуха и полимеризуется в крупномолекулярный полимер темно-коричневого цвета. Хромогенную реакцию с 5-АСК дают все виды клебсиелл: *K.pneumoniae* (*subsp.pneumoniae*, *subsp. ozaenae*, *subsp. Rhinoscleromatis*), *K.oxytoca*, *K.mobilis* (*Enterobacter aerogenes*). Наличие этой реакции у *K.mobilis* подтверждает ее принадлежность к роду *Klebsiella*. Не дают хромогенной реакции с 5-АСК бактерии нового рода *Raoultella* (*R.planticola*, *R.terrigena*, *R.ornitinoletica*), которые ранее относили к роду *Klebsiella*, что подтверждает уникальную специфичность этой реакции для клебсиелл. Не обладают этим ферментом все изученные нами грам-отрицательные бактерии (более 40 родов). Рост грамположительных бактерий на среде подавляется самой 5-АСК. Аналитическая ростовая чувствительность среды «*Klebsiella* 5-АСК» для видов *K.pneumoniae subsp. pneumoniae*, *K.oxytoca*, *K.mobilis* очень высокая (2-8) КОЕ, что позволяет использовать ее в качестве среды первичного посева для выделения и идентификации указанных клебсиелл. Для подвидов *K.pneumoniae subsp.ozaenae* и *subsp. rhinoscleromatis* ростовая чувствительность низкая 1×10^5 КОЕ. Поэтому для идентификации по хромогенной реакции указанных видов среда может использоваться только при посеве большой массы чистых агаровых культур (посев в виде «бляшки»). Диагностическая чувствительность среды 95%, диагностическая специфичность 100%. Хромогенная среда «*Klebsiella* 5-АСК» производится отделом новых технологий НИИЭМ им. Пастера (г. Санкт-Петербург).

3.2 Микрообъемная биохимическая идентификация энтеробактерий

В лабораторной практике идентификация видов и биоваров энтеробактерий проводится по их фенотипическим признакам. Основным и наиболее сложным разделом идентификации является изучение биохимических свойств бактерий. Повсеместно за рубежом и во многих лабораториях нашей страны биохимическая идентификация бактерий осуществляется микрообъемной технологией. При этом используются специальные микрообъемные тест-системы для автоматических бактериологических анализаторов или различные коммерческие тест-системы биохимической идентификации бактерий для визуального учета. Микрообъемная технология наиболее экономична, проста, пригодна для автоматизации и стандартизации исследований.

Автоматические бактериологические анализаторы для микрообъемной биохимической идентификации бактерий и определения их чувствительности к

антибиотикам производится фирмой "Bio Merieux" (Франция): "Vitek-2" - полностью автоматизированная система для идентификации 99 видов энтеробактерий и неферментирующих бактерий; полуавтоматические системы "АТВ Expression" и "Mini API" на основе тест-системы "ID 32E" для идентификации за 24 ч 99 видов энтеробактерий и тест-системы "Rapid ID 32E" для идентификации за 4 ч 73 видов энтеробактерий. Компания "Dade AG" (США) выпускает автоматические бактериологические анализаторы "Walk-Away-40", "Walk-Away-96" и полуавтоматический бактериологический анализатор "Auto SCAN-4". Применяются автоматические анализаторы других фирм: Quantum II, Cobas Micro. Указанные приборы имеют высокую стоимость, что ограничивает их применение.

Коммерческие микрообъемные тест-системы по устройству представлены двумя группами: содержащими субстрат реакции в питательной среде или в шаблоне-носителе. Результаты биохимических тестов учитываются визуально, вид микроорганизма устанавливается с помощью таблицы идентификации, кодов (профилей) или компьютерных программ.

Среди тест-систем, основанных на принципе "субстрат в питательной среде" широко используются: API 20E "Bio Merieux" (Франция); Enterotest I и Enterotest 2, Enterotest 16, Entero-Screen (АО "Lachema", Чехия), мультимикротесты ММТЕ I и ММТЕ 2 (НПО "Аллерген" г. Ставрополь); ПБДЭ (НПО "Диагностические системы" г. Нижний Новгород); "РАПИД-ЭНТЕРО - 200" и "РАПИД-ЭНТЕРО - 50" (НИИЭМ имени Пастера, отдел новых технологий, г. Санкт-Петербург).

К системам типа "субстрат в шаблоне носителя" относятся коммерческие тест-системы Micro - ID, Minitek, в которых субстрат и индикатор находятся на бумажных дисках, которые вносят в лунки планшетов с суспензией бактерий.

Тест-система API 20E "Bio Merieux" (Франция) предназначена для биохимической идентификации энтеробактерий и других грамотрицательных палочек в течение (18-24) ч. Состоит из прозрачной полимерной пластинки с 20 микропробирками объемом 0,25 мл, содержащими дегидратированные субстраты для определения 20 тестов: β -галактозидазы, аргининдигидролазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, уреазы, триптофандезаминазы, желатиназы; образования индола, сероводорода, ацетоина; ферментации цитрата, глюкозы, маннитола, инозитола, сорбитола, амигдалина, рамнозы, сахарозы, меллицитозы, арабинозы. Дополнительно вне панели определяют цитохромоксидазу, окисление и ферментацию глюкозы, подвижность. В состав комплекта входят также реактивы для определения индола, триптофандезаминазы, ацетоина, нитритов, оксидазы. Для исследования берут изолированную колонию со среды первичного посева, ставят пробу на оксидазу, готовят из колонии суспензию бактерий определенной мутности по шкале Мак-Фарланда. Вносят во все микропробирки по 100 мкл суспензии бактерий, затем добавляют по 50 мкл вазелинового масла в микропробирки с тестами на уреазу,

лизиндекарбоксилазу, орнитиндекарбоксилазу, аргининдигидролазу, сероводорода. Посевы инкубируют при 36 °С в течение (18-24) ч, после чего добавляют реактивы на ацетоин, индол, триптофандеаминазу, нитриты. Результаты учитывают визуально, заполняют бланки с кодами цифрового профиля. Идентификацию проводят по кодам или идентификационной таблице. Если на панели нет ферментации глюкозы и менее двух положительных прочих тестов, ставят ОФ тест, определяют подвижность и продлевают наблюдение еще 24 ч для выявления неферментирующих бактерий.

Тест-система Rapid 20E (Bio Merieux) предназначена для биохимической идентификации энтеробактерий и других грамотрицательных палочек в течение 4 ч. Состоит из прозрачной полимерной пластинки с 20 микропробирками, содержащими дегидратированные субстраты для определения 20 тестов: β-D-галактозидазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, уреазы; образования индола, ацетоина; ферментации цитрата, эскулина, маннитола, арабинозы, ксилозы, адонитола, рамнозы, целлобиозы, мелецитозы, сахарозы, трегалозы, рафинозы, глюкозы. Исследования проводят так же, как тест-системой API 20E. Результаты учитывают через 4 ч инкубации при 36° С. Вид бактерий идентифицируют по кодам.

Тест-система Enterotest 1 и 2 (АО "Lachema") предназначена для определения биохимической активности и идентификации наиболее важных энтеробактерий в течение (18-24) ч. Состоит из двух полимерных планшетов 8,5 x 12,5 см содержащих по 96 ячеек с высушенными питательными средами с субстратами для определения 23 биохимических тестов. Enterotest 1 для родовой идентификации позволяет определять 12 тестов: уреазу, β-D-галактозидазу, липазу, фенилаланиндеаминазу, орнитиндекарбоксилазу, лизиндекарбоксилазу; образование индола, сероводорода, ацетоина; ферментацию маннитола, цитрата, инозитола. Enterotest 2 для видовой идентификации определяет 11 тестов: ферментацию адонитола, эскулина, малоната натрия, рамнозы, целлобиозы, сахарозы, сорбитола, глюкозы, дульцитола, трегалозы и аргининдигидролазу. Имеются также среда и реактивы для определения вне планшетов оксидазы и О/Ф теста с глюкозой, а также набор реактивов для тестов в планшетах. Исследуемую чистую культуру-колонию со среды первичного посева (Мак-Конки агара, Эндо или других) изучают на оксидазу с помощью полосок окси-тест и ставят О/Ф тест на ферментацию глюкозы (в пробирках). Из изолированной колонии готовят суспензию в физиологическом растворе, равную степени №1 по шкале мутности Мак-Фарланда. Делают высев суспензии для проверки чистоты культуры на кровяной агар. По 100 мкл суспензии бактерий вносят во все 23 лунки двух планшетов, заливают вазелиновым маслом лунки тестов на лизин, индол, сероводород, орнитин, уреазу, аргинин. Инкубируют планшеты в пакете из полиэтилена при (35-37) °С в течение (18-24) ч. Затем вносят в лунки реактивы на индол, ацетоин, фенилаланин. Учитывают визуально все результаты тестов, в том числе О/Ф теста. Идентификацию проводят с помощью идентификационных таблиц.

Система Enterotest 16 (АО "Lachema") предназначена для идентификации наиболее значимых в медицине энтеробактерий в течение 18-24 ч. Состоит из двух рядов (по 8 лунок) стрипированного 96-луночного планшета. В лунках содержатся вышеуказанные среды для определения 16 тестов: уреазы, фенилаланиндезаминазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы; образования индола, сероводорода; ферментации цитрата, эскулина, малоната, инозитола, адонитола, целлобиозы, сахарозы, сорбитола, маннитола, трегалозы. Имеются дополнительно идентификационные полоски Микро-Ла-Тест: ОКСИ тест - для выявления цитохром-оксидазы, ОНП тест - на бета-галактозидазу, КОЛИ тест - на β -D-глюкуронидазу, ВП тест - на ацетоин; набор реактивов. Исследуют изолированные колонии со сред первичного посева (Эндо, Мак-Конки). Предварительно ставят тест на цитохромоксидазу с полоской ОКСИ тест и О/Ф-тест с глюкозой. Из изолированной колонии со среды Эндо или Мак-Конки готовят суспензию на физиологическом растворе степени №1 по шкале Мак-Фарланда. Проводят контрольный высеv суспензии на чистоту на кровяной агар. Вносят по 100 мкл суспензии бактерий в лунки двух рядов стрипов (16 лунок), добавляют вазелиновое масло в необходимые лунки, вносят полоски ОНП тест, КОЛИ тест, ВП тест в пробирки с суспензией бактерий, инкубируют при (35-37) °С в течение (18-24) ч. Учитывают все тесты и заносят в бланки. Идентификацию проводят с помощью идентификационных таблиц или книг кодов.

Система мультимикротестов Entero-Screen (АО "Lachema") предназначена для ускоренной идентификации сальмонелл в пищевой промышленности и санитарно-эпидемиологической службе, для идентификации наиболее часто встречающихся энтеробактерий в моче или другом клиническом материале в течение 4 ч. Система представляет собой стрипированный полимерный планшет из 96 лунок, содержащий в каждом из 12 стрипов (по 8 лунок) вышеуказанные среды для 8 ключевых тестов: уреазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, фенилаланиндезаминазы; образование индола, ацетоина; ферментации глюкозы, сахарозы. Дополнительно имеются бумажные полоски: OX1 test - на цитохромоксидазу, SALM test - на обнаружение сальмонелл, COLI test - на обнаружение *E. coli*, PYR test - на выявление пирролдониламидазы.

Для обнаружения присутствия сальмонелл методом скрининга рекомендуется предварительно провести SALM test. Этот тест основан на выявлении С8-эстеразы по гидролизу 4-метилумбеллиферилкаприлата с образованием 4-метилумбеллиферрона, который выявляется при УФ облучении по синей флюоресценции. Исследуют колонию бактерий со среды первичного посева (Эндо, Мак-Конки, но не висмут-сульфит агар) Добавляют в зону индикации полоски 10 мкл реактива SALM test, втирают петлей культуру в зону с реактивом, инкубируют в течение 10-15 мин при комнатной температуре, учитывают результат в темной комнате под УФ лампой с длиной волны 360 нм - положительная реакция проявляется появлением синей флюоресценции в зоне

полоски. В контроле (без посева культуры) флюоресценция отсутствует. Штаммы с положительной реакцией подтверждают дальнейшим исследованием набором Enteroscreen. Следует отметить, что SALM test недостаточно специфичен: кроме сальмонелл положительный результат дают все штаммы *Serratia marcescens*, *Stenotrophomonas maltophilia*, многие штаммы *Acinetobacter* sp., *Pseudomonas aeruginosa*.

Для исследования системой Enteroscreen используют чистую культуру, выросшую на среде Эндо, Мак-Конки агаре или агаре с кровью барана. Проводят микроскопию с окраской по Граму и тест на оксидазу (OXI test). Готовят суспензию 3-й степени мутности по Мак-Фарланду. Высевают часть суспензии для проверки чистоты культуры на неселективную среду (24 ч, 37 °С). Вносят по 100 мкл суспензии бактерий во все лунки стрипа, добавляют парафиновое масло в лунки с лизином, орнитиним, мочевиной, глюкозой, средой на индол. Инкубируют в течение 4 ч при температуре (35-37)°С. Добавляют реактивы на индол, ацетоин, фенилаланиндезаминазу. Учитывают результаты и идентифицируют культуры по таблице идентификации. Идентификацию бактерий из мочи дополняют использованием COLI test. COLI test основан на выявлении β-D-глюкуронидазы по расщеплению 4-метилумбеллиферрил-D-глюкуронида с высвобождением 4-метилумбеллиферрона, который дает голубую флюоресценцию в УФ лучах. Из исследуемых бактерий готовят суспензию на физиологическом растворе в объеме 1 мл мутностью №3 по Мак-Фарланду; помещают полоску COLI test в пробирку с суспензией, инкубируют 4 ч при 37°С, учитывают результат в темной комнате при УФ облучении по появлению голубой флюоресценции суспензии (положительный результат). Затем в пробирку с суспензией добавляют 4 капли реактива на индол (при положительной реакции появится красное кольцо). Положительный тест COLI test имеют около 95% штаммов *E. coli*, положительный тест на индол повышает возможность идентификации *E. coli*.

Системы мультимикротестов ММТЕ 1 и ММТЕ 2 (НПО "Аллерген" г. Ставрополь) предназначены для идентификации наиболее распространенных энтеробактерий в течение (18-24) ч. Они представляют собой прозрачные полистироловые 96-луночные планшеты, в лунки которых помещены субстратно-индикаторные среды, стабилизированные поливиниловым спиртом и стерилизованные ультрафиолетовым облучением. Система ММТЕ 1 для родовой идентификации позволяет определять 12 тестов: образование индола, сероводорода; наличие лизиндекарбоксилазы, орнитин-декарбоксилазы, уреазы, фенилаланиндезаминазы; ферментацию маннитола, цитрата, малоната, сахарозы, лактозы, сорбитола. ММТЕ 2 дополняет ММТЕ 1 и служит для видовой идентификации по дополнительным 12 тестам: наличие аргининдигидролазы, β-D-галактозидазы, нитратредуктазы; ферментации инозитола, дульцитола, арабинозы, рамнозы, мальтозы, адонита, раффинозы, глюкозы, салицина. В состав набора входят также реактивы для соответствующих тестов. Выделяют чистую культуру на среде Эндо или кровяном

агаре. Ставят тест на ферментацию глюкозы (О/Ф тест) на среде Хью-Лейфсона. Из чистой 24 ч культуры грамотрицательных бактерий готовят суспензию мутности №2 по шкале Мак-Фарланда. Делают контрольный высеv суспензии на кровяной агар для проверки чистоты культуры и дополнительных тестов. Вносят по 150 мкл суспензии в каждую лунку систем, добавляют вазелиновое масло в лунки на индол, сероводород, уреазу, лизин, орнитин, аргинин. Инкубируют посевы при (35-37) °С в течение (18-24) ч. Затем вносят в соответствующие лунки реактивы на индол, фенилаланиндезаминазу, нитриты. Учитывают все тесты, включая О/Ф тест. Идентификацию проводят по таблице идентификации. Разработана компьютерная программа идентификации.

Общим, недостатком всех рассмотренных тест-систем (API 20E, Rapid 20E, Enterotest I и Enterotest 2, Enterotest 16, Entero-Screen, ММТЕ 1 и ММТЕ 2), является необоснованный перерасход тест-систем, ввиду отсутствия предварительного отбора культур по тесту ферментации глюкозы или позднего учета О/Ф теста с глюкозой (уже после использования тест-систем).

Система ПБДЭ - пластина биохимическая, дифференцирующая энтеробактерии (НПО "Диагностические системы", г. Нижний Новгород) предназначена для биохимической идентификации энтеробактерий в течение (18-24) ч, представляет собой полимерную пластину с 20 лунками, содержащими высушенные среды с субстратами для 20 тестов: выявление уреазы, β-D-галактозидазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, аргининдигидролазы; образования сероводорода, индола, ацетоина; ферментацию глюкозы, сахарозы, маннита, малоната, цитрата, цитрата натрия с глюкозой, инозитола, сорбитола, арабинозы, мальтозы. Пластина помещена в полимерный пенал. Исследуемую колонию со среды первичного посева отсевают на скошенный МПА, микроскопируют при окраске по Граму отсевают в пробирки со средой Олькеницкого и полужидким МПА (на подвижность).

Чистую культуру бактерий со скошенного МПА суспензируют в физиологическом растворе и вносят по 100 мкл суспензии во все лунки пластины, добавляют в соответствующие лунки вазелиновое масло. Пластину в пенале инкубируют при (35-37)°С в течение (18-24) ч. Затем добавляют реактивы в соответствующие лунки и учитывают результаты. Результаты вносят в кодovou карточку. Идентификацию проводят по каталогу кодов.

Тест-система "РАПИД-ЭНТЕРО - 200" (НИИЭМ имени Пастера, отдел новых технологий, г. Санкт-Петербург) предназначена для быстрой 4 ч биохимической идентификации наиболее часто встречающихся в медицинской практике видов энтеробактерий - возбудителей гнойно-септических и острых кишечных инфекций. Тест-система рассчитана на исследование 200 культур бактерий.

Комплект состоит из флаконов с полимерными капельницами, содержащих по 22 мл жидких дифференциальных сред; флаконов с капельницами, содержащих по 22 мл реактивов, и стерильных полистироловых 96-луночных планшетов для

микротитрования однократного применения с крышками. Тест-система обеспечивает постановку 13 тестов: выявление уреазы, триптофандезаминазы, индола, эскулина, лизиндекарбоксилазы, орнитин-декарбоксилазы, нитратредуктазы; ферментации лактозы, сахарозы, маннитола, маннозы, арабинозы, адонитола. Исследованию подлежат чистые культуры, выросшие из отсевов колоний со сред выделения на секторах питательного агара (или питательного агара с желчью). Предварительно определяют их возможную принадлежность к семейству энтеробактерий экспресс-тестом на цитохромоксидазу, тестом "тяжа" на грамотрицательные бактерии, ферментацию глюкозы на среде Клиглера. На среде Клиглера учитывают также газообразование при ферментации углеводов и образование сероводорода. Дальнейшему исследованию подлежат грамотрицательные, оксидазонегативные, ферментирующие глюкозу бактерии. Дифференциальные среды во флаконах готовы к немедленному использованию. Для их применения срезают ножницами с соблюдением стерильности верхний закрытый край полимерной капельницы и закрывают отверстие съемным колпачком капельницы. При исследованиях среда из флакона выдавливается по каплям путем надавливания пальцами на эластичные стенки капельницы. Дифференциальные среды вносят в планшеты по 4 капли (100 мкл) в лунку. Среда для одной культуры размещают в одном горизонтальном ряду из 12 лунок в постоянной последовательности (в одной лунке с маннитом содержится и субстрат на нитратредуктазу).

Количество рядов соответствует количеству культур, плюс один ряд контрольный (без посева). Агаровую культуру изучаемых бактерий вносят по полной стандартной петле в каждую лунку со средой и размещивают. Петлю прожигают только в начале и конце посева на весь ряд. На поверхность сред с мочевиной, лизином и орнитином после посева вносят по 2 капли стерильного вазелинового масла. Закрытые крышками планшеты инкубируют при 37 °С. Предварительный учет результатов на среде с мочевиной проводят через 2 мин и через 1 ч, на среде с лизином - через 2 ч. Через 4 ч после посева добавляют в лунки реактивы на триптофандезаминазу, индол, нитратредуктазу и окончательно учитывают результаты визуально по изменения окраски сред. Результаты вносят в бланки регистрации. Идентификацию культур проводят по таблице идентификации.

Специфичность (достоверность) идентификации энтеробактерий тест-системой составляет $97,6 \pm 0,6$ %. Диагностическая чувствительность: идентификация $96 \pm 0,5$ % изолятов энтеробактерий. Это единственная отечественная тест-система ускоренной идентификации энтеробактерий. Она наиболее экономична, обеспечивает большой объем исследований, проста и надежна в использовании. Стоимость одного исследования существенно дешевле, чем всеми другими тест-системами.

Выпускается также вариант тест-системы "РАПИД-ЭНТЕРО - 50" на 50 исследований.

Для идентификации редких видов энтеробактерий, не предусмотренных тест-системами, применяют дополнительные тесты в соответствии с видовой характеристикой энтеробактерий, указанной в определителе бактерий Берджи (см. Приложение).

Таблица 3. Ускоренная идентификация энтеробактерий (4 часа) микрообъемным методом в планшетах

Род, вид, бактерий	Номера лунок и тесты												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
	Оскулин	Уреаз	Манноза	Арабиноза	Лизин-декарбоксилаза	Орнитин-декарбоксилаза	Лактоза	Сахароза	Адонит	Гриптофан-дезаминидаза	Индол	Маннит	Нитратредуктаза
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+2	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
<i>K.pneumoniae subsp.pneumoniae</i>	+2	+/-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
<i>K.mobilis</i>	+2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
<i>Enterobacter spp.</i>	+	-/+	+	+	-/+	+/-	+	+	-	-	-	+	+
<i>Serratia liquefaciens</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	+	-	+	+	-	-	-/+	-	-	+	+
<i>Hafnia alvei</i>	-/+	-	+	+	+2	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Pantoea agglomerans</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	+
<i>Kluyvera ascorbata</i>	+	-	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+
<i>Proteus vulgaris*</i>	-/+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+
<i>P. mirabilis*</i>	-	+	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+
<i>P. penneri*</i>	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+
<i>Providencia rettgeri</i>	+	+	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	+	+
<i>P. stuartii</i>	-	-/+	+	-	-	-	-	-/+	-	+	+	-	+
<i>P. alcalifaciens</i>	-	-	+	-	-	-	-	-/+	+	+	+	-	+
<i>Morganella morganii</i>	-	+<1	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	+
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-/+	+1	+	-	-	+	-	+	-	-	-/+	+	+
<i>Y.pseudotuberculosis</i>	+2	+1	+	-/+	-	-	-	-	-	-	-	+	-/+
<i>Edwardsiella tarda*</i>	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+

<i>Citrobacter freundii</i> *	-	-	+	+	-	-	-/+	-/+	-	-	-	+	+
<i>C. koseri</i>	-	-	+	+	-	+	-/+	-/+	+	-	+	+	+
<i>C. amalonaticus</i>	-	-	+	+	-	+	-/+	-/+	-	-	+	+	+
<i>Salmonella typhi</i> *	-	-	+	-/+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>S. paratyphi A</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Salmonella spp.</i> *	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	+	+	+/-	-/+	+/-	+/-	-	-	+	+	+
<i>Shigella spp.</i>	-	-	+	+/-	-	-/+	-	-	-	-	-/+	+/-	+/-

Обозначения:

«+<1»- положительный результат за 2 минуты;

«+1» положительный результат за 1 час;

«+2» положительный результат за 2 часа;

«+»- положительный результат за 4 часа;

«+/-» - положительный результат у более 50% штаммов;

«-/+» - положительный результат у менее 50% штаммов;

«->» - отрицательный результат;

* - образуют сероводород на среде Клиглера.

