

Оценка новой хромогенной среды – CHROMagar™ Salmonella Plus при выявлении Salmonella spp., в том числе – лактозо-позитивных, S. Typhi и S. Paratyphi

De Beaumont C. (1), Breuil J. (1), Dedicova D. (2), Tran Q. (3)

(1) Centre Hospitalier Intercommunal, Villeneuve St Georges, France

(2) Национальный Институт Общественного Здоровья – Национальная референтная лаборатория по профилю Salmonella, Прага, республика Чехия

(3) CHROMagar, Paris, France

Изложение

Инфекции, вызванные Salmonella, остаются глобальной проблемой. Применение сред для культивирования имеет ряд преимуществ перед ПЦР и иммунологическими методами – использование сред позволяет определить чувствительность бактерий к антибиотикам, провести эпидемиологические исследования, и выявить только живые микроорганизмы.

Ряд новых хромогенных среды был разработан в целях выявления Salmonella, в том числе – лактозо-позитивных, S. Typhi и S. Paratyphi. Нами изучена новая хромогенная среда – CHROMagar Salmonella Plus (CHROMagar, Париж, Франция), которая использовалась параллельно с двумя другими хромогенными средами, доступными в продаже. Тесты были направлены на выявление лактозо-позитивных сальмонелл, S. Typhi и S. Paratyphi.

Все три среды были высокоэффективны при выявлении лактозо-негативных сальмонелл; среда CHROMagar Salmonella Plus была более чувствительной при выявлении лактозо-позитивных сальмонелл, что соответствует современным требованиям микробиологии (ISO 6579:2002).

Введение

На базе референтных центров во многих странах ведется сбор тысяч штаммов Salmonella – таким образом, инфекции, вызванные этим возбудителем, представляют значительную проблему здравоохранения.

За последние десятилетия лактозо-позитивные сальмонеллы не привлекали к себе особого внимания, однако, интерес к этим возбудителям, возникший в последнее время, привел к пересмотру нормативов пищевой индустрии ISO 6579 – теперь в соответствии с ними требуется выявление лактозо-позитивных сальмонелл. Хромогенных сред и методик, необходимых для раннего выявления лактозо-позитивных сальмонелл, разработано не было.

В рамках настоящего исследования мы изучали возможности применения трех хромогенных сред – SMID2, OSCM и CHROMagar Salmonella Plus при выявлении широкого спектра сероваров Salmonella.

Материалы и Методы

Среда культивирования

Среды OSCM (Oxoid, UK) и SMID2 (bioMerieux, France) были получены в готовом виде. Среда CHROMagar Salmonella Plus (CHROMagar, France) был получена в виде дегидратированной среды, и готовилась в соответствии с инструкциями производителя.

Изоляты

Штаммы Salmonella были предоставлены Национальными референтными центрами Республики Чехия и Франции, а также College de bacteriologie Virologie et Hygiene des Hopitaux (Франция). Лактозный профиль сальмонелл определялся с использованием агара Kligler-Найна/MacConkey. Изолированные бактерии высевались квадрантным методом на 3 хромогенные среды.

Интерпретация результатов

Среды инкубировались в течение 24 часов при температуре 37°C. Чувствительность сред определялась следующим образом: штамм Salmonella считается выявленным, если колонии приобретают типичный (розово-фиолетовый) цвет на средах SMID2, OSCM и CHROMagar Salmonella Plus. На Рисунке 1 представлены типичные колонии Salmonella и прочих кишечных бактерий.



Рисунок 1

Цвет колоний Salmonella spp. (справа сверху), E coli (слева сверху), колиформных бактерий (внизу) на средах: агар MacConkey, SMID2, OSCM и CHROMagar Salmonella Plus.

Результаты

Изучено 76 ONPG⁻ – лактозо-негативных серовара штаммов *Salmonella* (6 *S.Typhi*, 5 *S.Paratyphi A*, 7 *S.Paratyphi B*, 2 *S.Paratyphi C*, 12 *S.Typhimurium*, 5 *S.Enteritidis*, 3 *S.Brandenburg*, 4 *S.Heidelberg*, 3 *S.Hadar*, 2 *S.Panama*, 3 *S.Kottbus*, 2 *S.Infantis*, 2 *S.Derby*, 1 *S.California*, 1 *S.Goldcoast*, 1 *S.Virchow*, 1 *S.Bredeney*, 1 *S.Mapo*, 1 *S.Indiana*, 1 *S.Saintpaul*, 1 *S.Newport*, 1 *S.Blockley*, 1 *S.Derby*) на 3 средах. Соотношение штаммов с типичными изолированными колониями для сред SMID2, OSCM и CHROMagar *Salmonella* Plus: 72/76 (95%), 75/76% (99%), 75/76 (99%).

Далее изучено 33 ONPG⁺ лактозо-позитивных штамма *Salmonella* на 3 средах. На Рисунке 2 представлены колонии 3 ONPG⁺ штаммов *Salmonella*.

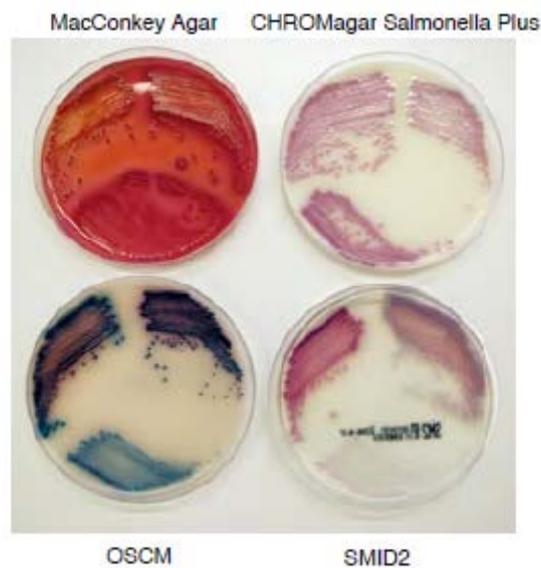


Рисунок 2

Цвет колонии *S. diarizonae* 107/05 (справа сверху), *S. Worthington* AR3910 (слева сверху), *S. Senftenberg* 7526 (внизу) на средах: агар MacConkey, SMID2, OSCM и CHROMagar *Salmonella* Plus.

На среде OSCM изолированные колонии большинства ложно-негативных штаммов приобретали синий либо синеватый цвет. На среде SMID2 они были бесцветными либо бледно-голубыми. На среде CHROMagar *Salmonella* Plus – изолированные колонии большинства ложно-негативных штаммов были бесцветными.

В таблице представлены показатели чувствительности трех хромогенных сред

Выявление на среде / штаммы	SMID2	OSCM	CHROMagar Salmonella Plus
<i>S.arizonae</i> (6)	2	0	5
<i>S. diarizonae</i> (13)	7	0	12
<i>S. salamae</i> (3)	1	1	1
<i>S.indica</i> (3)	2	1	3
<i>S.bongori</i> (3)	0	1	1
<i>S. Worthington</i> (1)	0	0	1
<i>s. Senftenberg</i> (4)	0	0	4
Всего (33)	12=36%	3=12%	27=82%

Нами изучено 105 образцов кала с посевом на среду CHROMagar Salmonella Plus, параллельно проводился рутинный поиск сальмонелл. Обнаружен 1 образец, содержащий *Salmonella*, что свидетельствует об эффективности среды. Кроме того, данная среда представляется нам достаточно специфичной, поскольку в рамках исследования не было зарегистрировано ложноположительных результатов.

Выводы

Все три хромогенные среды для *Salmonella* были высокоэффективны при выявлении лактозо-негативных штаммов *Salmonella*; среда CHROMagar Salmonella Plus была более чувствительной при выявлении лактозо-позитивных штаммов *Salmonella*, что соответствует современным стандартам пищевой микробиологии, изложенным в документе ISO 6579:2002.

Кроме того, результаты предварительного исследования с использованием клинических образцов, свидетельствуют о том, что среда CHROMagar Salmonella Plus обеспечивает четкое отличие колоний от комменсальной флоры.

Требуется проведение дополнительных исследований, направленных на выявление штаммов в рутинных условиях с использованием среды CHROMagar Salmonella Plus.

Благодарности

Благодарим Francois Xavier Weill из Французского Национального референтного центра за предоставленные штаммы *Salmonella*.

ECCMID 2006, NICE, FRANCE