

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ  
МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

**НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ  
ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Н.Ф.ГАМАЛЕИ**

**(НИИЭМ ИМЕНИ Н.Ф. ГАМАЛЕИ РАМН)**

**Методические рекомендации**

**ГРИБЫ РОДА CANDIDA**

**(Методы выделения, идентификации на видовом уровне и  
определение чувствительности к противогрибковым  
препаратам)**

**Москва 2009**



# ХайМедиа Лабораториз Пвт. Лтд.

*МИКРОБИОЛОГИЯ НА СЛУЖБЕ ЧЕЛОВЕЧЕСТВУ*

**Производитель диагностических и культуральных питательных сред,  
оборудования и расходных материалов для баклабораторий.  
Экспортирует свою продукцию более чем в 100 стран мира.  
Система управления качеством  
сертифицирована по международным стандартам  
ISO 9001:2008  
и Европейскому стандарту качества (CE)**

## Профиль продукции

- Сухие и готовые к употреблению питательные среды
- Компоненты: бактериологический агар, пептоны, желчь и соли желчных кислот, дрожжевой, мясной и др. экстракты
- Питательные среды для культур клеток
- Диски с антибиотиками и диспенсер для картриджей
- Индикаторные диски и полоски
- Система для выращивания анаэробов
- Полный спектр продукции для диагностики туберкулеза
- Пластиковая посуда и разные типы тампонов для биологических образцов
- Транспортные системы
- Флаконы для гемокультур
- Металлические и пластиковые бактериологические петли
- Лабораторные реактивы и биохимикаты высокой очистки
- Индикаторы и красители
- Полный спектр продукции для диагностики листериоза (ГОСТ Р 51921-2002)
- Лабораторное оборудование, приборы и расходные материалы

***Продукция зарегистрирована в Минздраве России, Беларуси, Украины, Казахстана,  
Узбекистана, Латвии и разрешена к применению.***



Production facility as per ISO 9001:2008

R & D Centre



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ ИМЕНИ  
ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА Ц.Ф.ГАМАЛЕИ

(НИИЭМ ИМЕНИ Н.Ф.ГАМАЛЕИ РАМН)



«УТВЕРЖДАЮ»  
Директор института  
Академик РАМН  
А.Л.Гинцбург

«20» апреля 2009г.

Методические рекомендации

**ГРИБЫ РОДА CANDIDA**  
**(Методы выделения, идентификации на видовом уровне и**  
**определение чувствительности к противогрибковым**  
**препаратам)**

Авторы: Профессор, д.б.н.,  
Заслуженный деятель науки

А.Ф.Мороз

Доцент каф. Инфектологии МПФ ППО  
ММА им. И.М.Сеченова, к.б.н.

А.Е.Снегирёва

Одобрено на Совете  
По внедрению научных  
Достижений в практику

Протокол №\_\_ 9\_\_

От «17» апреля 2009

Москва 2009

В последние годы резко возрос интерес к проблеме кандидоза, являющегося наиболее распространенным грибковым заболеванием; а наиболее частым возбудителем кандидоза является *Candida albicans*.

Значительный рост заболеваемости кандидозом обусловлен, прежде всего, тем, что эта инфекция является оппортунистической и обычно поражает больных с иммунодефицитными процессами, эндокринопатиями, патологией желудочно-кишечного тракта и вторичным авитаминозом. Его связывают также с иммунодефицитом, вызванным химиотерапией онкологических заболеваний, с трансплантацией органов и тканей, с широким использованием антибиотиков, применением внутриматочных контрацептивов, а также с ростом числа лиц, злоупотребляющих алкоголем и наркотиками. Все перечисленные выше факторы вывели кандидоз в одно из главных инфекционных осложнений в стационарах различного профиля.

Широкий спектр исследований, проведенный специалистами в разных странах мира, способствовал тому, что *C. albicans* в настоящее время является наиболее изученным в отношении морфологии, физиологии,

генетики, а так же характеристик, ответственных за его патогенность.

В последние годы появились новые, достаточно эффективные, методы выявления представителей рода *Candida*: разработаны тесты выявления их микро- и макроморфологии, ряд биохимических и физиологических идентификационных тестов, созданы наборы для быстрой и расширенной идентификации *C. albicans* и других дрожжевых грибов.

Данные методические рекомендации посвящены описанию методов выделения и идентификации грибов рода *Candida*, определению чувствительности их к антигрибковым препаратам (антимикотикам), а также приведены некоторые сведения об их экологии и эпидемиологии (включающие места обнаружения, вызываемые заболевания и основные пути инфицирования ими человека и животных).

Мы надеемся, что данные методические рекомендации помогут клиническим микробиологам и микологам ознакомиться с подходами к лабораторной диагностике возбудителей кандидоза.

## Основные виды грибов рода *Candida* – возбудителей кандидозов

Первое известие о кандидозной инфекции в полости рта (молочницы), сопровождавшей основное заболевание, было обнаружено у двух больных и описано «Epidemics» Гиппократом в четвертом столетии до нашей эры. Самые ранние упоминания в медицинской литературе о заболеваниях молочницей относятся к 18-му столетию. Rose von Rosenstein (1771г.) и Underwood (1784г.) идентифицировали эту инфекцию как проблему педиатрических клиник и подробно описали её в связи с энтеритами у больных.

Только в 1842 г. G. Gruby классифицировал этот возбудитель как *Sporotrichum*. Впоследствии этому возбудителю предлагались самые разные названия, такие как: *Apiotrichum*, *Azymocandida*, *Endoblastoderma*, *Myceloblastanon*, *Mycokluyveria*, *Parasaccharomyces*, *Rhodomyces*, *Syringospora*, *Coreopsis*, *Thrombocytozoons*. Родовое название *Candida* официально было принято в

1954 г. на VIII Ботаническом конгрессе в Париже.

К настоящему времени, в современной трактовке, род *Candida* охватывает около 200 видов, из которых только 20 патогенны для людей и животных, в том числе *C. farnata* и *C. inconspira*, которые были относительно недавно включены в эту группу и отнесены к числу потенциальных патогенов.

В Таблице 1. приведены основные представители рода *Candida*, наиболее часто встречающиеся при различных формах кандидозной инфекции с их новыми и более старыми обозначениями, а также, для некоторых представителей рода *Candida*, приведены их телеморфы (половые стадии жизненного цикла). Телеморфы различных видов грибов *Candida* входят в 11 родов семейства *Saccharomycetales* (митоспоровые) и имеют родовое название *Candida*.



## ВОЗБУДИТЕЛИ КАНДИДОЗА

ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ		РЕДКИЕ ВОЗБУДИТЕЛИ		Возбудители, выделенные в единичных случаях
Новое обозначение	Старые обозначения	Новое обозначение	Старые обозначения (синонимы) и телеморфы	
<i>C. albicans</i>	Синонимы: <i>C. clausenii</i> (1929), <i>C. langeronii</i> (1952, 1970)	<i>C. krusei</i>	Синонимы: <i>C. chevallieri</i> (1933), <i>C. brassicae</i> (1975) Телеморфа: <i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>C. catenulata</i> <i>C. ceferrii</i> <i>C. famata</i> <i>C. haemulonii</i> <i>C. inconspicua</i>  <i>C. lipolytica</i> <i>C. lipolytica</i> <i>C. nervegensis</i> <i>C. pelliculosa</i> <i>C. rogosa</i>  <i>C. utilis</i> <i>C. viswanathii</i> <i>C. zeylanoides</i>
<i>C. tropicalis</i>	Синонимы: <i>C. vulgaris</i> (1923), <i>C. paratropicalis</i> (1981)	<i>C. kefyr</i>	Синонимы: <i>C. mochedoniensis</i> (1923) <i>C. pseudotropicalis</i> (1931) Телеморфа: <i>Kluyveromyces marxianus</i>	
<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parakrusei</i>	<i>C. guilliermondii</i>	Синоним: <i>C. melibiosi</i> (1952) Телеморфа: <i>Pichia guilliermondii</i>	
<i>C. glabrata</i>	Род: <i>Torulopsis</i> , Вид: <i>glabrata</i> (1938)	<i>C. lusitaniae</i>	Синоним: <i>C. parapsilosis</i> , var. <i>obtusa</i> (1970), <i>C. obtuse</i> (1967) Телеморфа: <i>Clavispora lusitaniae</i>	

\* - телеморфы - половые стадии жизненного цикла

Из достаточно большого числа видов *Candida* наиболее часто от больных кандидозами выделяют восемь видов, среди которых лидируют четыре вида: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* и *C. glabrata*. Именно перечисленные выше четыре вида представителей рода *Candida* имеют наибольшее значение в патологии человека.

В предлагаемых рекомендациях наше внимание будет сконцентрировано в основном на описании представителей рода *Candida*, приведенных в этой таблице и некоторых редких возбудителях кандидоза.

На протяжении многих лет представителей рода *Candida* считали сапрофитными комменсалами, встречающимися чаще всего на коже людей и мукоидных мембранах. Тем не менее, некоторые виды, входящие в род *Candida*, особенно

*C. albicans*, в ряде ситуаций могут становиться патогенными, поскольку способны вызывать патологические процессы, известные как кандидозы и монолиазис.

Представители рода *Candida* могут входить в состав нормальной флоры. В этих случаях будем употреблять термин «носительство»; при этом число выросших колоний не будет превышать  $10^2$  -  $10^3$  КОЕ/мл. Если число колоний превысит эту величину, но симптомы воспаления отсутствуют, можно говорить о «повышенной колонизации». И, наконец, при наличии признаков раздражения слизистой оболочки, связанной с инвазией возбудителя в ткань, будем употреблять термин «инфекция», т.е. кандидоз.

### Ультраструктура грибов рода *Candida*

Хотя многие представители рода *Candida* различаются друг от друга устойчивостью их генома, физиологией и метаболизмом, тем не менее, для всех представителей, входящих в этот род, характерен единый принцип организации самой дрожжевой клетки и типа образуемых грибами колоний.

Грибы рода *Candida* лишены половой стадии жизненного цикла, содержат только анаморфы. Большинство из них образуют псевдомицелий, лишённый оболочки и перегородок, образующихся в результате последовательного и концевое почкования с последующим удлинением клеток и расположением в виде цепочек, которые называют псевдогифами. Следует отметить, что образование мицелиальных структур грибов не может служить критерием принадлежности их к роду

*Candida*. Это вызвано тем, что некоторые из грибов, входящих в род *Candida*, могут образовывать, помимо псевдомицелия, рудиментарные псевдогифы (*C. lusitaniae*) или вообще не иметь их (*C. glabrata*).

У некоторых видов грибов *Candida* имеет место образование настоящего мицелия, сходного с мицелием плесневых грибов, наблюдаемое у большинства штаммов *C. albicans* и у некоторых штаммов *C. tropicalis*. Предшественниками настоящих гиф являются проростковые, или зародышевые (терминальные) трубки, развивающиеся из бластоконидий. Процесс формирования конидий считается законченным в момент, когда клетка проростковой трубки образует дочернюю клетку, а в местах настоящих септ новой гифы не наблюдается сужений.

Как уже упоминалось выше, для структуры грибов *Candida* характерно наличие многослойной клеточной стенки, разделённой на внешние и внутренние слои. Для представителей рода *Candida* характерен голобластический тип почкования, т.е. образование конидий с участием всех слоёв клеточной стенки. У них отсутствуют баллистоспоры (отбрасываемые споры) и артроконидии (споры, образующиеся в результате распада гифы).

Более ранними критериями принадлежности того или иного возбудителя к роду *Candida* служили

преимущественно дрожжевая фаза роста и отсутствие половой стадии в жизненном цикле, поскольку такая классификация основывалась в основном на морфологических признаках, т.е. на микроскопическом изучении выделенных штаммов грибов. Родственные связи между различными видами и в настоящее время устанавливаются не только на основании микро- и макро-морфологических признаках (в том числе и внешних), а также, в ряде случаев, и на основании некоторых их биохимических и генетических характеристик.

## Выделение и лабораторная диагностика грибов рода *Candida*

Стадии лабораторной диагностики включают микроскопию патологического материала или биоптата, выделение из материала чистой культуры возбудителя с его

последующей идентификацией. Завершающим этапом исследования может стать определение чувствительности к противогрибковым препаратам.

### Взятие материала из мест поражения больного грибами рода *Candida*, вызывающих:

#### 1) Кандидоз глотки и миндалин

При указанных локализациях чаще всего встречается псевдомембранозная форма кандидоза, реже хроническая.

#### Сбор материала для исследования

Подозреваемые места поражения кандидозом.	Материал, собираемый от больных для исследования.
При подозрении на псевдомембранозный кандидоз глотки и миндалин.	Соскобы и смывы со слизистой полости рта, красной каймы и окружающей кожи, а так же с зубных протезов (при их наличии у обследуемого). Налёт со слизистой снимают ложечкой Фолькмана, стоматологическим скальпелем или петлёй, а с эрозированных поверхностей можно собрать стерильным увлажнённым тампоном (перед процедурой обследуемый должен прополоскать рот). При необходимости проведения культурального исследования, тампон следует поместить в транспортную среду или в бульон Сабуро.

С помощью культурального метода полученные результаты могут быть оценены количественно, что очень важно для подтверждения диагноза.

Суть метода: собранный тампоном материал переносят во флакон с 5 мл физиологического раствора и со стеклянными бусами и встряхивают в течение пяти минут. Затем 0,5 мл этой взвеси наносят на поверхность чашки Петри с агаром Сабуро и равномерно растирают шпателем. Посевы инкубируют в течение 48 часов при температуре 37°C, после чего подсчитывают число выросших колоний и



умножают его на 50. При этом получают данные, свидетельствующие о числе клеток *Candida* в смыве с 1 тампона в 1 мл среды. При наличии более 10<sup>3</sup> КОЕ/мл можно говорить о кандидозной колонизации.

### Микроскопия

Материал подлежащий микроскопированию.	Окраска мазков.
Соскобы и смывы со слизистой полости рта, красной каймы и окружающих участков кожи	Обычно готовят неокрашенные мазки с использованием смеси спирта с глицерином или же окрашенные по Граму. Положительным результатом считают обнаружение в одном или нескольких полях зрения более 10 бластоконидий, псевдогиф или истинных гиф. В случае хронической формы кандидоза, обусловленного штаммами <i>C. albicans</i> , наблюдают наличие мицелиальных форм.

## 2) Кандидоз бронхов и лёгких

Эти заболевания встречаются редко. Главным возбудителем при этих формах кандидоза является *C. albicans*. Другие представители рода *Candida* (*C. glabrata*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis*) вызывают кандидоз этих органов редко.

При сборе мокроты следует учитывать факт возможного загрязнения взятого образца грибами рода *Candida*, обитающими в полости рта и глотки. В связи с этим обследуемый, до взятия мокроты, должен прополоскать рот. Брать следует разовую утреннюю порцию мокроты перед первым приёмом пищи.

Рекомендуется также проводить исследование лаважной жидкости, а при подозрении на диссеминированный кандидоз – крови.

Наиболее ценным при этой патологии признаётся гистологическое исследование образца ткани, взятого при бронхоскопии.

Кандидоз бронхов и кандидозная бронхопневмония трудно диагностируются из-за неспецифичности клинико-рентгенологических признаков. Выделение же грибов рода *Candida* из мокроты или лаважной жидкости, а также обнаружение почкующихся клеток гриба или псевдомицелия при микроскопии собранного материала, могут лишь дополнительно подтверждать диагноз кандидоза, а положительный ответ, полученный при микроскопии, чаще всего может свидетельствовать о колонизации грибами слизистой бронхов. К тому же, чувствительность метода бронхоскопии с последующим посевом лаважной жидкости составляет 60%. Поэтому, при

исследовании мокроты и лаважной жидкости, нецелесообразно проводить культуральное исследование, поскольку оно не подтверждает клинический диагноз. Предпочтительнее микроскопия, т.к. обнаружение при этом элементов мицелия или большого количества дрожжевых клеток может свидетельствовать не только о присутствии грибов рода *Candida*, но и о повышенной колонизации.

## 3) Кандидоз желудочно-кишечного тракта

Основной возбудитель - *C. albicans*, входящий в состав постоянной микрофлоры кишечника и обнаруживаемый в кале не менее чем у 70% населения. Другие виды *Candida* выделяются реже. Наличие в полости рта людей грибов *Candida* других видов может вызвать заболевание кандидным эзофагитом. Колонизацию пищевода и желудка можно предположить на основании колонизации полости рта человека грибами рода *Candida*. Первое место при этом занимает *C. albicans*, затем следуют *C. tropicalis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* и *C. glabrata*.

Кандидоз желудка и кишечника не имеет четких и общепризнанных диагностических критериев. Чаще всего он проявляется в виде диарейного синдрома, обусловленного грибами *Candida*, или в виде синдрома «раздражённой толстой кишки», выражающегося вздутием живота, болью в животе и, нередко, водянистым приступообразным стулом.

Кандидоз желудочно-кишечного тракта чаще всего - эндогенная инфекция. Экзогенное инфицирование начинается у новорожденных при прохождении через родовые пути.

### Сбор материала для исследования

Подозреваемые места поражения кандидозом.	Материал, собираемый для исследования
Ротовая полость, глотка	Мазки или соскобы из ротовой полости и глотки
Пищевод	Смывы со стенок пищевода
Желудок	Смывы со стенок желудка
Двенадцатиперстная кишка	Гастродуоденальный сок
Желчный пузырь	Желчь
Кишечник	Кал

### Микроскопия

Для микроскопического исследования готовят мазки из следующих материалов:

- «Слепые» смывы со слизистой пищевода;
- Смывы со слизистой желудка;
- Гастродуоденальный сок.

Положительный результат микроскопического исследования и выделение культуры из смывов пищевода имеет значение только при наличии клинических показателей. В случаях кандидоза любого отдела пищеварительного тракта результаты микроскопии предпочтительнее культурального исследования. Это связано с тем, что обнаружение при микроскопии элементов мицелия или большого количества дрожжевых

клеток может свидетельствовать не только о присутствии грибов рода *Candida*, но и о значительной степени колонизации.



K001 — Набор красителей для дифференциального окрашивания микроорганизмов по Граму (HiMedia)



#### 4) Кандидоз почек и мочевыводящих путей

Наиболее часто из всех видов *Candida*, выделяемых из мочи, является *C. albicans*. Признаётся также роль и других видов *Candida*: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. guilliermondii*, вызывающих вместе 10-30% случаев кандидоза.

При сборе мочи может иметь место контаминирование грибковой флорой гениталий, а иногда и флорой катетера, используемого для сбора мочи. Перед сбором мочи его желательнее удалить.

Признано, что обнаружение  $10^4$  -  $10^5$  КОЕ/мл грибов *Candida* в моче при не катетеризованном мочевом пузыре может свидетельствовать о кандидозе почек.

Для выявления источника кандидурии рекомендовано

орошать мочевой пузырь раствором амфотерицина В (50 мг/мл) в течение 5 дней. Если после этого кандидурия сохраняется, то её источник надо искать в верхних отделах мочевого тракта.

Для диагноза кандидурии нецелесообразно использовать метод ПЦР даже в случае предрасположенности к инвазивному кандидозу.

#### 5) Вагинальный кандидоз

Основным возбудителем вагинального кандидоза является *C. albicans*. Вторым по значимости возбудителем при этой форме кандидоза является *C. glabrata* (особенно на фоне сахарного диабета). Далее следуют: *C. tropicalis*, иногда *C. krusei*, *C. parapsilosis*.

#### Сбор материала для исследования.

Подозреваемые места поражения больного кандидозом.	Материал, собираемый для исследования.
Слизистая влагалища	Соскобы со слизистой влагалища, вульвы, окружающей кожи с помощью стерильного одноразового тампона или стерильной петли. Забор материала для исследования рекомендуется проводить с задней и боковой стенок влагалища или с переднего свода.

#### Культуральный метод

Поскольку всё чаще отмечаются случаи носительства грибов *Candida* и бессимптомная колонизация влагалища, необходимо использовать культуральный метод для подтверждения диагноза.

Для этого, собранный тампоном материал помещают во флакон с бусами, содержащий 5 мл физиологического раствора. Флакон встряхивают в течение 5 мин, после чего 0,5 мл взвеси стерильным шпателем равномерно распределяют по поверхности чашки Петри с агаром Сабуро. Подсчитывают выросшие колонии и умножают их число на 50, чтобы получить представление о количестве клеток гриба, содержащемся в смыве с 1 тампона в 1 мл среды (физиологического раствора). Число

колоний выражают в КОЕ/мл. Подсчет числа колоний должен проводиться по возможности быстрее (48-72 час) во избежание ложноположительных результатов. Незначительное количество выросших колоний свидетельствует о нормальном носительстве. В настоящее время заключение о повышенной колонизации или инфекции можно сделать при обнаружении более  $1 \times 10^4$  КОЕ/мл. Диагноз вагинального кандидоза подтверждается только при наличии клинических проявлений. В случае выделения более  $1 \times 10^4$  КОЕ /мл *Candida spp.* и отсутствия клинических проявлений, можно говорить о бессимптомной колонизации. Количество выделенных грибов не коррелирует с выраженностью клинических проявлений.

#### Микроскопия

Материал, подлежащий микроскопированию.	Окраска мазков.
Соскобы со слизистой влагалища (задней и боковой стенок или с переднего свода), вульвы и окружающей кожи.	Из полученного материала готовят мазки для прямой микроскопии и для цитологического исследования. Используют: 1) неокрашенные препараты, при исследовании плёнок, помещённых в 10% раствор едкого кали; 2) окрашенные по Граму, Романовскому и метиленовым синим.

Необходимо обращать внимание на наличие в мазках дрожжевых клеток или псевдомицелия (клетки гриба *C. albicans* не образуют псевдомицелия).

При микроскопии неокрашенных мазков выявляется четкая корреляция с симптомами вульво-вагинального кандидоза. За положительный результат микроскопии принимают превышение содержания грибов в материале более  $1 \times 10^3$  КОЕ/мл. Рекомендуется определять pH среды влагалища (при кандидозе обычно pH - 4,5; при

бактериальном вагинозе - выше 5,0).

#### 5) Кандидоз кожи.

Главным возбудителем кандидоза кожи является *C. albicans*. К другим возбудителям кандидоза кожи относят *C. glabrata* и *C. tropicalis*, иногда и другие виды.

Различают несколько проявлений кожного кандидоза:

- 1) кандидоз крупных складок кожи;
- 2) кандидоз межпальцевых складок;
- 3) кандидоз кожи вне складок;

- 4) кандидозный баланит и баланопостит;  
5) кандидозный фолликулит.

Ведущим возбудителем при кандидозной паронихии и онихомикоза является *C. albicans*, вторым по частоте выделения - *C. parapsilosis*, хотя иногда он может оказаться и первым. Среди возбудителей онихомикозов на руках грибы рода *Candida* встречаются с равной или с

более высокой частотой по сравнению с дерматофитами.

При кандидозном фолликулите преимущественно выделяют *C. albicans*.

При пелёночном дерматите, помимо *C. albicans* (наиболее часто ответственной за кандидоз складок у детей), обнаруживают и другие виды: с поражённой кожи и из кала выделяют *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* и *C. kefyr*.

#### Взятие материала для исследования.

Подозреваемые места поражения кандидозом.	Материал, собираемый для исследования.
Кандидозный фолликулит.	Чешуйки мацерированного края эрозивных очагов: собирать пинцетом или ложечкой Фолькмана.
Кандидоз крупных складок гладкой кожи, ладоней.	Забирают покрышки пузырьков и пустул, содержимое пустул и стержень волоса при наличии фолликулита.
Баланопостит	Соскоб из области венечной борозды и с внутреннего листка крайней плоти. Рекомендуют брать соскобы так же из полости рта, влагалища, собирать кал.
Кандидоз крупных складок кожи.	Рекомендуют исключить кандидоз (гиперколонизацию) кишечника, а у женщин и кандидоз влагалища. Необходимо провести количественное исследование.
Кандидоз паронихия и онихомикоз.	Соскобы с краёв, наружной и внутренней поверхности проксимального и боковых околоногтевых валиков, а также с окружающей их кожи. Из-под проксимального ногтевого валика ложечкой Фолькмана, петлёй или тампоном отделяемое можно получить, надавливая на валик.  Поражённые края ногтевой пластинки срезают маникюрными ножницами, скальпелем или лезвием бритвы и собирают их и лежащий под ними материал с ногтевого ложа.  Ногтевые валики и пластинку ногтя следует протереть раствором этилового спирта (для избежания микробного заражения).
Пелёночный дерматит и кандидоз складок у детей.	Покрышки отсевных пузырьков и пустул, чешуйки мацерированного края эрозивных очагов, которые собирают пинцетом или ложечкой Фолькмана. Следует также брать соскобы из полости рта и кал.
Врождённый кандидоз кожи	Поскольку в этом случае заражение грибами рода <i>Candida</i> происходит внутриутробно или во время родов, то берут соскобы и цитологические мазки из очагов поражения на коже, а так же кровь, мочу, амниотическую жидкость, взятую при амниоцентезе, изменённые части последа.

#### Микроскопия

Из соскобов, взятых из пораженных кандидозом мест, готовят обычные неокрашенные и окрашенные по Граму мазки, а также цитологические мазки. Учитывают наличие дрожжевых клеток или псевдомицелия, что более предпочтительно для подтверждения диагноза.

В случае врождённого кандидоза предварительно поставленный клинический диагноз подтверждается только на основании гистологии или микроскопии мазка.

#### 5) Диссеминированный кандидоз

При диссеминированном кандидозе имеют место экзогенные источники инфекции (особенно в условиях стационара) и, как следствие этого, характерно наибольшее видовое разнообразие грибов *Candida*.

Главным возбудителем является *C. albicans*, далее по частоте встречаемости следуют *C. parapsilosis*, *C. glabrata* и *C. guilliermondii*. При этом отмечают также неодинаковую чувствительность возбудителя к антимикотикам: устойчивыми чаще всего являются *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, а менее чувствительными - *C. tropicalis* и *C. parapsilosis*.

Диссеминированный кандидоз довольно часто развивается как эндогенная инфекция у больных с лейкозами и лимфомами, реже при других онкологических заболеваниях, а так же у больных, получавших цитостатики (от 10 до 30% случаев).

Меньший риск приобретения этого типа кандидоза у пациентов отделения интенсивной терапии, после перенесения обширных хирургических операций.

### Особенности сбора материала для исследования.

Подозреваемые поражения кандидозом органов и систем	Материал, собираемый от больных для исследования.
Лихорадка неясной этиологии.	Кровь: не менее 10 мл дважды в день (в течение 2-х суток).
Подозрение на диссеминированный кандидоз.	Обязательно собрать: мокроту, кал, мазки и соскобы из полости рта и носа, с задней стенки гортани.
Рана с экссудацией или с дренажных трубок.	Отделяемое.
Поражение закрытых органов (печени, селезёнки, лёгких и почек).	Проводят биопсию (чрескожную, эндоскопическую или открытую, а так же при кожных высыпаниях).
Подозрение на поражение головного и спинного мозга.	Ликвор.
Поражение полости плевры, перикарда и брюшины.	Экссудат.
Подозрение, что источником инфекции является катетер (и место его введения).	Сделать посев с наконечника катетера в чашки Петри со средой Сабуро или хромогенной питательной средой, а так же взять соскобы с кожи у места введения катетера.

Все эти процедуры очень хорошо представлены в книге: «Кандидоз» Сергеев А.Ю. и Сергеев Ю.В. (2001 г.) на страницах 376-377.

### Микроскопия.

Материал, подлежащий микроскопированию.	Подготовка препаратов.
Отцентрифугированный осадок крови. Осадки мочи, ликвора, мокроты и других стерильных жидкостей; отделяемое из очагов на коже, из ран и дренажных трубок.	Окраска мазков по Романовскому в модификации Гимза и Райта. Окраска мазков с гидроксидом калия или по Грамму (в мазках, как правило, можно видеть дрожжевые клетки и псевдогифы).

### Выделение возбудителя

Для выделения грибов из нестерильных локусов (к примеру, мокроты, кала и др.), а также из биоптата, обычно используют традиционные методы, описанные нами выше.

Следует отметить, что возбудителя кандидоза можно выделить из крови и стерильных жидкостей лишь в 20-75% случаев, даже при использовании современных автоматизированных систем. Также трудно выделить возбудителя из крови больных при наличии у них хронического диссеминированного кандидоза. При этой форме кандидоза рекомендуется видовая идентификация возбудителя, поскольку зачастую они обусловлены редкими видами грибов *Candida* с неясной чувствительностью к антимикотикам.

### Методы идентификации выделенных грибов на микроморфологическом уровне

Для выделения из патологического материала, взятого от больного, штаммов, предположительно относящихся к роду *Candida*, было предложено в разные периоды несколько вариантов питательных сред, пригодных для этих целей. Одна из ранних питательных сред была предложена Sabouraud в 1896 и 1910 г.г. для выделения дерматофитов. Позднее оказалось, что среда Сабуро с

глюкозой довольно широко и успешно используется и в настоящее время для выделения других видов патогенных грибов.



Агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом – M1067  
*Candida albicans* (ATCC 10231)



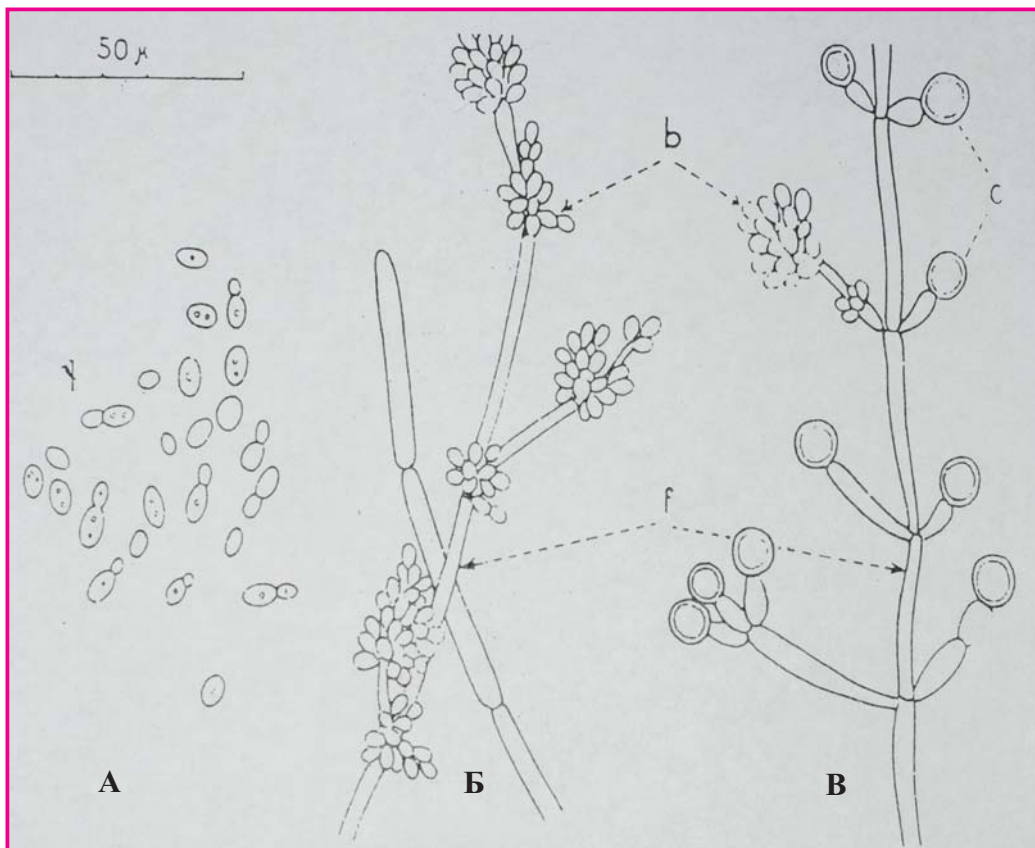


Сабуро декстрозный агар – M063  
*Candida albicans* (ATCC 10231)

В последние годы в большинстве бактериологических лабораторий для обнаружения грибковой флоры в исследуемом материале используют агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом (HiMedia, M1067) или Сабуро декстрозный агар (HiMedia, M063), который используют, когда нет необходимости подавления сопутствующей микрофлоры. Однако их видовая классификация на этих средах создаёт определённые проблемы. Это связано с тем, что при выращивании представителей рода *Candida* в течение 24 – 48 часов на этих средах штаммы грибов обнаруживаются только в дрожжеподобных формах (Рис.1А). При микроскопии они выглядят одинаково, как округлые или слегка вытянутые почкующиеся клетки. Поэтому не представляется возможным идентифицировать их на микроморфологическом уровне.

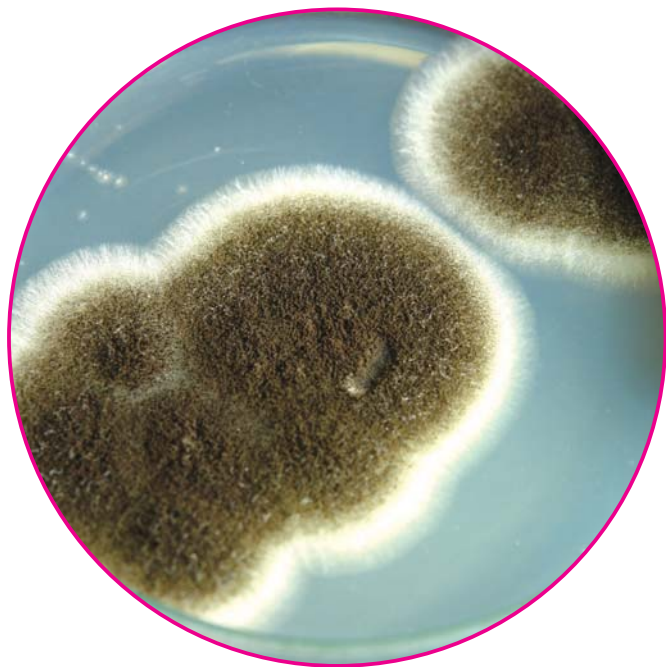
Рисунок 1

МИКРОМОРФОЛОГИЯ ШТАММА *S.ALVICANS*,  
ВЫРАЩЕННОГО НА РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

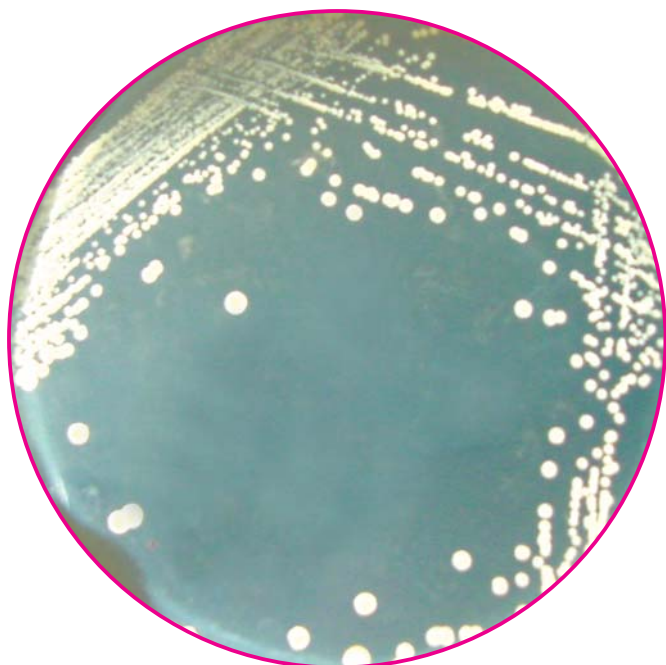


- А** : Почкование дрожжей (у)  
На сабуро-кукурузном агаре (выделение)
- Б** : Филаменты с группами бластоконидий (b), характерные для гифов *S.albicans* (на картофельно-морковной среде PCB)
- В** : Филаменты (f) с бластоконидиями и хламидоконидиями (c), специфическими для *S.albicans* (на картофельно-морковной среде PCB)

С целью стимуляции образования специфических репродуктивных структур - хламидоконидий (хламидоспор) или элементов псевдо- или истинного мицелия, применяют среды, бедные питательными веществами. Наиболее распространенными средами являются картофельно-морковный агар с желчью (Р.С.В. Potato-carroto-bile agar), Кукурузный агар (HiMedia, M146) и Агар с рисовым экстрактом (HiMedia, M1026).



**Кукурузный агар (M146)**  
*Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)



**Агар с рисовым Экстрактом (M1026)**  
*Candida albicans* (ATCC 10231)

Остановимся на методах, которые при использовании указанных сред позволяют в определенной степени определить некоторые микроморфологические характеристики грибов рода *Candida*.

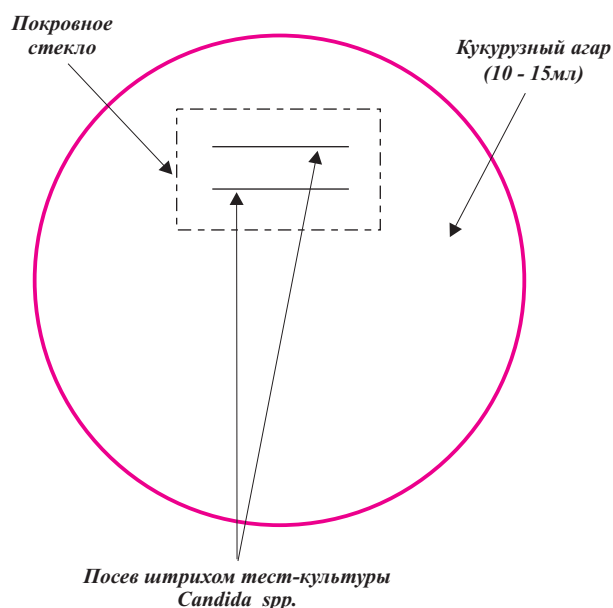
### РСВ среда (картофельно-морковно-желчный агар)

При культивировании на этой среде штаммов *Candida* (Рис.1Б), морфологические особенности филантов позволяют идентифицировать их до вида. Штаммы *C. albicans* являются единственным видом, принадлежность к которому может быть идентифицирована на основании выявления достаточно простого морфологического признака - образования хламидоконидий (хламидоспор). Эти образования могут быть концевыми или боковыми, круглыми или овальными, диаметром от 6 до 12 мкм, с толстой стенкой, отличающимися от других грибковых спор, имеющих диаметр от 3 до 4 мкм (Рис. 1В).

Многие микологи мира для идентификации грибов рода *Candida* предпочитают использовать Кукурузный агар (HiMedia, M146), с помощью которого исследуют микроморфологические признаки грибов этого рода, применяя метод, предложенный Дальмау.

Суть метода Дальмау сводится к следующему: стерильно наносят суспензию (24-часовая культура гриба) в чашку с кукурузным агаром, проводя ею два близко расположенных штриха длиной примерно 2 см.

Затем участок посева накрывают стерильным покровным стеклом и инкубируют чашку при комнатной температуре в течение 48 часов. После 48-часовой инкубации чашку с культурой микроскопируют при 20-кратном увеличении, обращая при этом внимание на образование псевдогиф, истинных гиф, артроконидий или бластоконидий (см. схему).



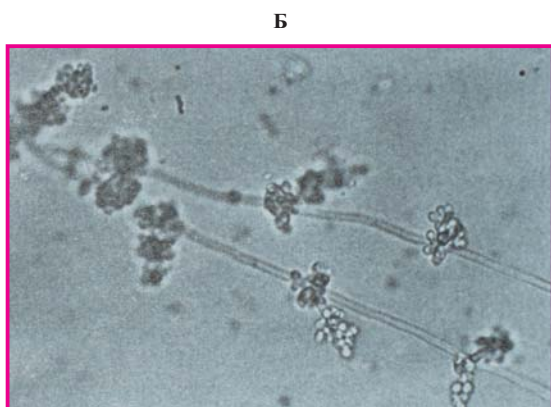
### Схема посева тест-штамма *Candida* spp. на чашки Петри с кукурузным агаром по методу Дальмау

С помощью этого метода удалось очень четко представить микроморфологическую структуру различных представителей рода *Candida*.

На изображенных фотоснимках можно видеть, что у выращенных на кукурузном агаре по методу Дальмау различных видах *Candida*, очень четко выявляется их микроморфологическая структура. Так, на

фото, изображающих морфологическую структуру штамма *C. albicans*, хорошо видны истинные гифы и бластоконоидии (Фото 1).

Фото 1



*C. albicans*

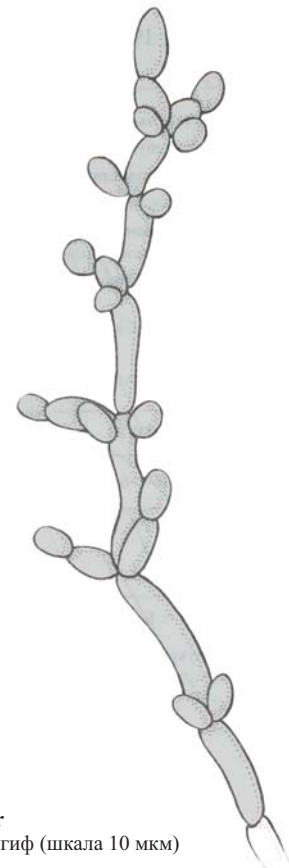
- А : настоящие гифы и бластоконоидии на кукурузном агаре в чашках Петри, 230х  
 Б : настоящие гифы и бластоконоидии на кукурузном агаре в чашках Петри, 460х

**Истинные гифы** – характерны для *C. albicans*; отличаются от псевдогиф отсутствием сужений в области септ. Культуры *C. albicans* образуют крупные толстостенные хламидоконоидии на концах истинных гиф или по ходу псевдогиф. Структуры, подобные хламидоконодиям, но с более тонкими стенками, имеются у *C. tropicalis*.

**Бластоконоидии** (собственно дрожжевые клетки) – структуры бесполого размножения всех дрожжевых грибов. Они возникают при почковании и имеют вид небольших круглых клеток, а при их удлинении образуют псевдогифы.

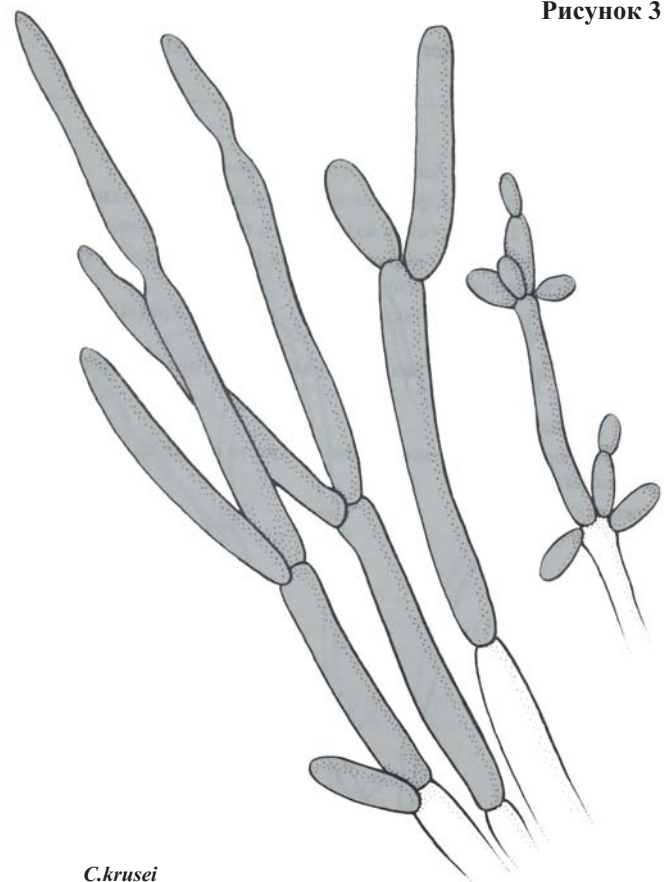
На рисунках, сделанных соответственно с препаратов грибов *C. kefyr*; *C. krusei* и *C. guilliermondii*, хорошо видны псевдогифы различной формы (Рис. 2, 3, 4).

Рисунок 2



*C. kefyr*  
 Псевдогиф (шкала 10 мкм)

Рисунок 3



*C. krusei*  
 Псевдогиф (шкала 10 мкм)



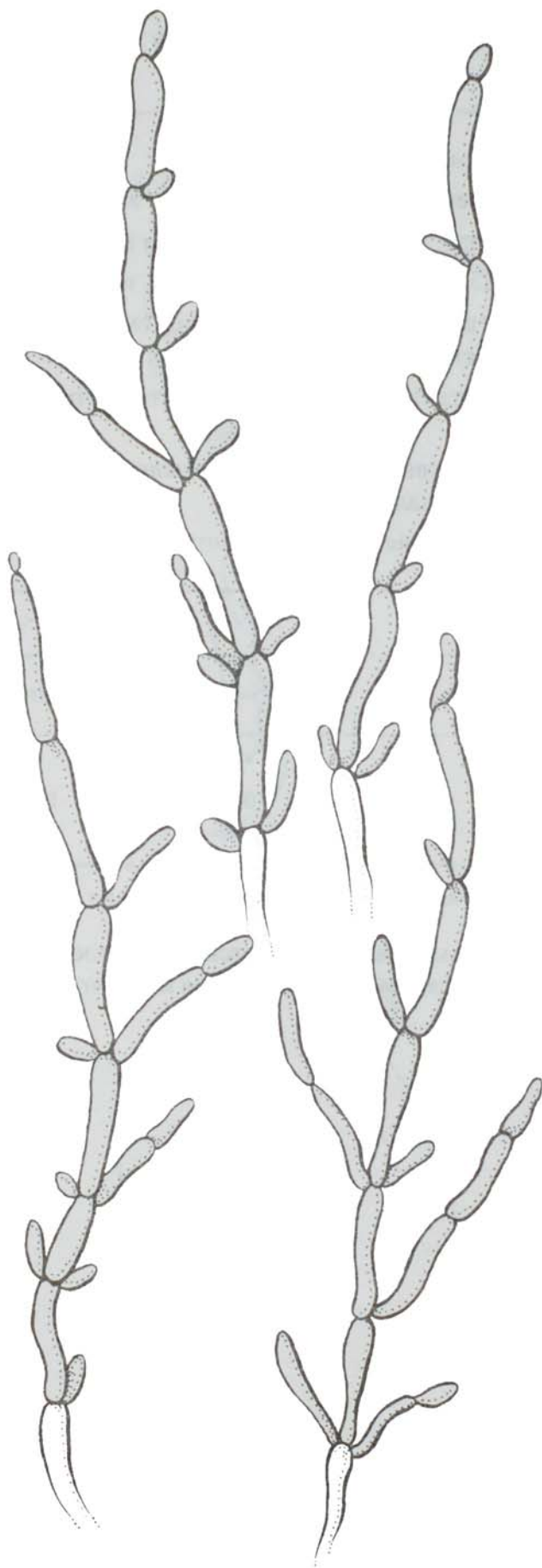
Рисунок 4

### Образование ростовых трубок

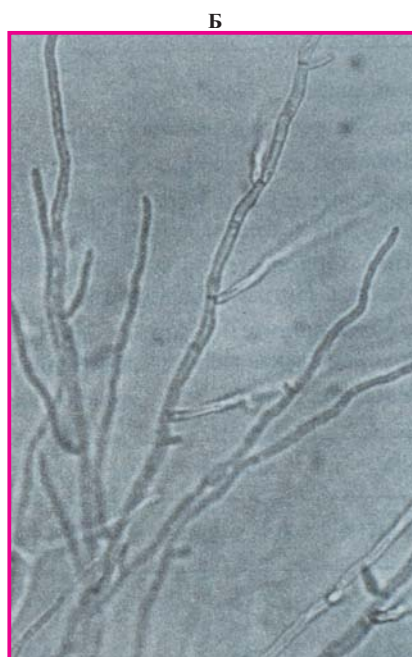
**Псевдогифы** выглядят при этом как нити, суженные в области перемычек. Наличие псевдогиф - неспецифический признак, однако их размеры, форма, расположение в сочетании с другими морфологическими признаками могут способствовать определению гриба до вида, а также подтверждать принадлежность его к роду *Candida*.

На снимках, сделанных с препаратов, полученных при выращивании гриба *C. parapsilosis* (Фото 2), выявлены многократно разветвленные псевдогифы с одиночными blastoconidia, образующимися вдоль гиф (А) и псевдогифы с blastoconidia (Б).

Фото 2



*C. guilliermondii*  
Псевдогифы (шкала 10 мкм)



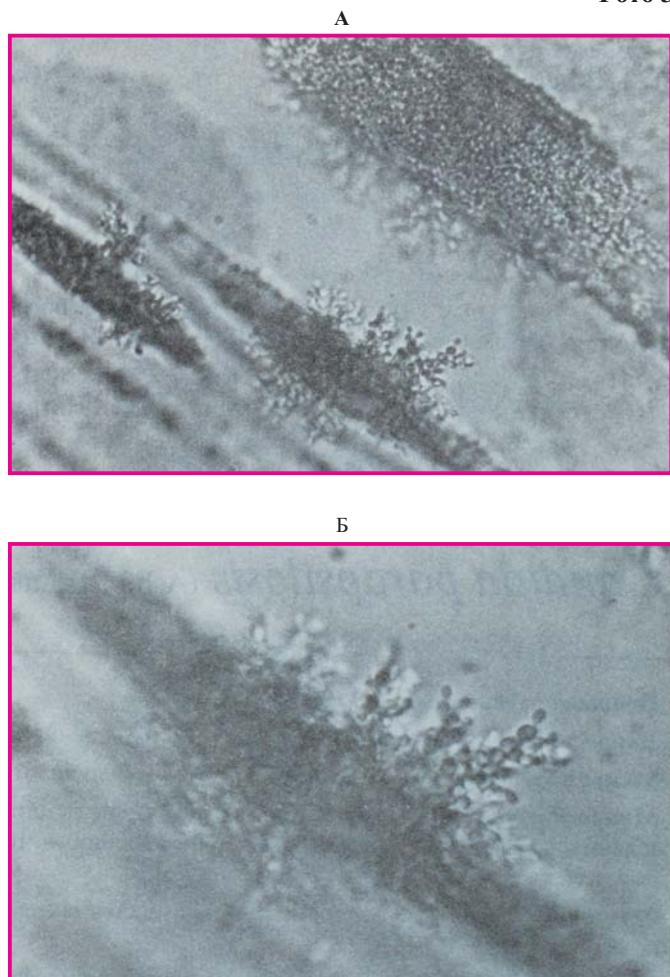
*C. parapsilosis*

А : многократно разветвленные псевдогифы с одиночными blastoconidia, образующимися вдоль гиф при росте на кукурузном агаре в чашках Петри, 460x

Б : псевдогифы с blastoconidia на кукурузном агаре в чашках Петри, 460x

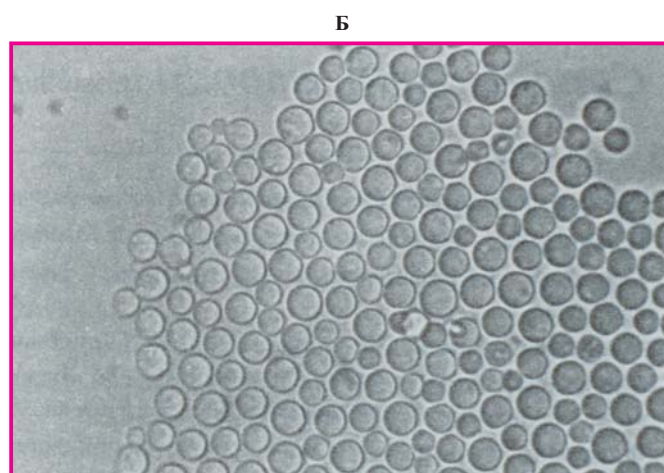
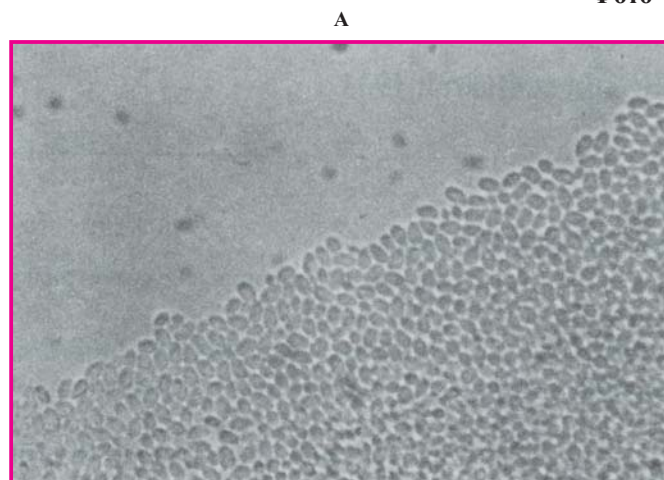
При использовании того же метода для штамма *C. lusitaniae* UTHSC 96 – 2156 (Фото 3) очень четко выявляются рудиментарные, довольно примитивные псевдогифы (А) - при увеличении 230<sup>x</sup> и (Б) - при увеличении 460<sup>x</sup>. На фото 4 представлены размеры клеток *C. glabrata* (А) по сравнению с *Cryptococcus neoformans* (Б). *C. glabrata* является гаплоидным организмом. Он не способен образовывать мицелиальные структуры.

Фото 3



*C. lusitaniae* UTHSC 96 – 2156

- А : рудиментарные, довольно примитивные псевдогифы (на кукурузном агаре в чашках Петри, 230х)
- Б : рудиментарные псевдогифы (на кукурузном агаре в чашках Петри, 460х)



*C. glabrata* UTHSC 96 2175

Размеры клетки *C. glabrata* (А) по сравнению с *C. neoformans* (Б), 920х

Представленная на этих фотографиях микроморфологическая структура грибов рода *Candida*, свидетельствует о том, что при использовании сред картофельно-морковной (РСВ) и кукурузного агара только один представитель рода *Candida* (*C. albicans*) может быть сразу идентифицирован на основании его микроморфологической структуры.

При обнаружении в культурах неспецифических признаков, к примеру, бластоконидий и псевдогиф, прибегают к использованию дополнительных тестов.

**Использование дополнительных тестов для идентификации исследуемых грибов.**

В качестве дополнительных используют тесты, с помощью которых можно обеспечить достаточно быстрый по времени скрининг культур *Candida* до вида. Для этой цели прибегают к тесту филаментации (герминации), выявлению наличия или отсутствия роста культур на агаре Сабуро с циклогексимидом, а также по окраске колоний при выращивании на среде Сабуро с 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом. Результаты использования этих тестов приведены в Таблице 2.

## БЫСТРЫЙ СКРИНИНГ ГРИБОВ рода *Candida*

Представители рода <i>Candida</i>	Результаты через 2-3 часа	Результаты через 24 часа		
		СРЕДЫ:		
	Плазма или сыворотка + грибы (37°C): образование герминантных проростковых трубок	РСВ (при 24°C) хламидоконидии	Сабуро агар + циклогексимид (0,5г/л среды)	Сабуро агар + 2, 3, 5 трифенилтет-разольный хлорид (окраска колоний) (0,1 г/л среды)
<i>C.albicans</i>	+	+	+	Белый, иногда появление кремоватого цвета
<i>C.tropicalis</i>	-	-	-	Пурпурно-красный
<i>C.parapsilosis</i>	-	-	-	Розовый, розово-красный
<i>C.glabrata</i>	-	-	-	Розовый
<i>C.krusei</i>	-	-	-	Белый
<i>C.kefyr</i>	-	-	+	Розовый
<i>C.guilliermondii</i>	-	-	+	Розово-красный, красный
<i>C.stellatoidea</i>	+	-	+	Розовый

Обозначения: « + » - наличие роста или признака « - » - отсутствие роста или признака

Используя тест образования герминантных (проростковых или зародышевых трубок), можно получить некоторые видовые характеристики представителей рода *Candida* через 2 – 3 часа. Метод простой в исполнении и очень быстрый. Тест можно проводить только в случае, если дрожжевые грибы выделяют в чистой культуре.

Суть теста сводится к следующему: колонию 24-часовой культуры дрожжевого гриба вносят в пробирку с 0,5-1,0 мл стерильной сыворотки крови и выдерживают в течение 2-3 часов при 37°C. Можно использовать сыворотку или плазму животных, человеческую, а также и искусственные среды (Бульон с сердечно-мозговой вытяжкой - HiMedia, M210).

После 2-3 часовой инкубации проб в термостате, содержимое пробирки помещают на предметное стекло и исследуют под микроскопом. В этом случае можно видеть образование дрожжевыми клетками филаментов - зародышевых трубок (Рис.5). Последние являются предшественниками (зародышами) истинных гиф, которые могут образовываться только грибами рода *C. albicans*. Для истинных герминантных трубок, образуемых *C. albicans*, характерно отсутствие сужения в основании трубки, там, где она образуется из материнской клетки. Таким образом, по результату этого теста можно предположительно идентифицировать культуру гриба как *C. albicans* или исключить таковую возможность. К образованию истинных трубок способен также вид *C. stellatoidea* (многие микологи относят его к биовару *C. albicans*).

Рисунок 5

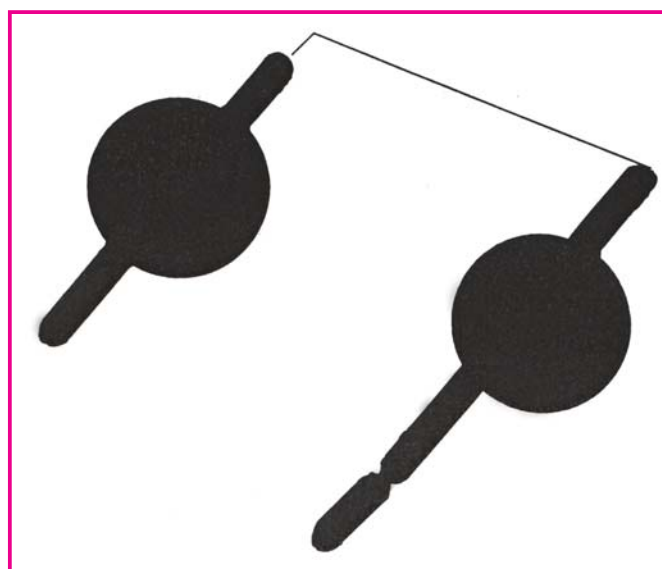


Схема образование «ростовой трубки» из бластоспоры (почки) *C. albicans* при помещении их в сыворотку

При проведении этой пробы рекомендуют использовать контрольные микроорганизмы: *C. albicans* - в качестве положительного, а *Cryptococcus neoformans* отрицательного.

**Из изложенного выше следует, что:**

*изучение микроморфологии грибов рода Candida по методу Дальмау и проростковая проба могут быть признаны начальным звеном в идентификации любого дрожжевого гриба.*

Очень важными тестами при осуществлении дополнительного скрининга грибов рода *Candida*, помимо упомянутых выше, являются такие тесты, как рост штаммов *Candida* на Агаре Сабуро с циклогексимидом и хлорамфениколом (HiMedia, M664) и агаре Сабуро с 2,3,5-трифенилтетразолием хлоридом.





В Таблице 3. приведены данные о способности грибов, принадлежащих к различным видам рода *Candida*, ассимилировать углеводы, а также осуществлять их ферментацию.

Таблица 3.

### УТИЛИЗАЦИЯ И ФЕРМЕНТАЦИЯ САХАРОВ ГРИБАМИ рода *Candida*

Представители Рода <i>Candida</i>	Глюкоза	Галактоза	Сахароза	Мальтоза	Лактоза	Раффиноза	Глюкоза	Галактоза	Сахароза	Мальтоза	Лактоза	Раффиноза
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	±/-	+	-	-
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-
<i>C. kefir</i>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	±
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	±	-	+	+	+	+	-	-	±
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	-	-	±/-	-	-	-	-	-
<i>C. zeylanoides</i>	+	±/-	-	+	-	-	±/-	-	-	-	-	-
<i>C. stellatoidea</i>	+	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-

#### Тест ферментации углеводов (зимограмма)

С помощью этого теста определяют способность тестируемых грибов рода *Candida* сбраживать определенные сахара.

Процесс определения сахаролитических свойств тестируемых штаммов грибов состоит в следующем: в пробирки с Основой бульона с феноловым красным (HiMedia, M054) вносят диски с углеводами и засевают исследуемую культуру.

Обычно изучается ферментирующая способность грибов в отношении следующих 6 сахаров: глюкозы, сахарозы, мальтозы, галактозы, лактозы и раффинозы (или трегалозы).

В этом исследовании используется суточная агаровая культура, выращенная на агаре Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом (HiMedia, M1067). Следует применять только чистую культуру грибов, поскольку любое бактериальное загрязнение может значительно исказить результаты. Пробирки с посевами инкубируют в термостате при 30-37°C в течение 24-48 часов.

Данные по ферментации сахаров некоторыми видами рода *Candida*, приведенные в Таблице 3, свидетельствуют об отсутствии таковой способности у грибов *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. zeylanoides*. Кроме того, лактозу ферментирует только штамм *C. kefir*, мальтозу - только грибы *C. albicans* и *C. tropicalis*, а раффинозу - только грибы *C. kefir* и *C. guilliermondii*.

Помимо упомянутых выше тестов рекомендуется использовать и ряд других биохимических методов, с помощью которых удастся идентифицировать практически любой из известных дрожжевых грибов. К таким тестам можно отнести тест ассимиляции азота и уреазная активность.

#### Тест ассимиляции азота (нитратный тест)

Используют Нитратный агар (HiMedia, M072), содержащий  $KNO_3$ , при утилизации которого агар окрашивается в синий цвет. При отрицательном результате цвет среды желтый.

Среды с нитратом засевают культурой и инкубируют при температуре 25-30°C до 7 суток срок, ранее которого нельзя фиксировать отрицательный результат.

В качестве положительного контроля используют штамм *Cryptococcus albidus*, отрицательного - *C. albicans*. Результаты этого теста приведены в Таблице 4. Данные, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что почти все грибы рода *Candida* не способны редуцировать нитрат.



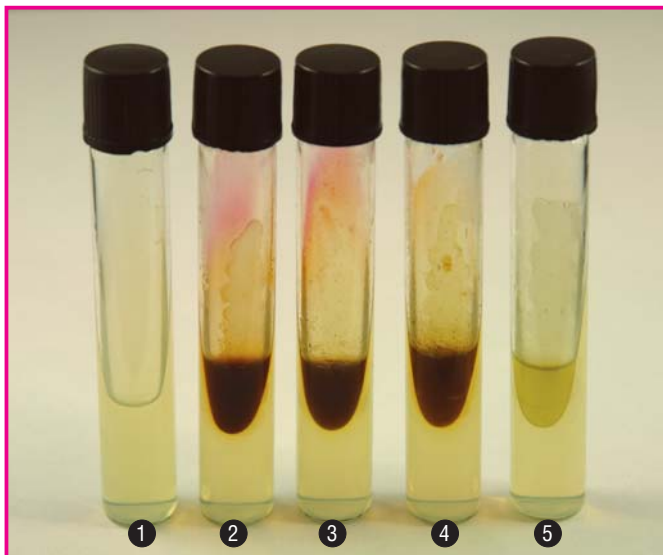
Таблица 4.

## Дополнительные диагностические тесты, рекомендованные для идентификации грибов рода

Представители рода <i>Candida</i>	Микро - и макроморфология грибов при росте на:		Толерантность к повышенной температуре			Ассимиляция азота	Уреазная активность
	кукурузном агаре по методу Дальмау	агаре Сабуро с глюкозой при t=25°C	37°C	42°C	45°C		
<i>C. albicans</i>	ПГ и/или септированные гифы с БК, образующими НГ в виде пучков, расположенных вдоль гифы.	Колонии от белых до кремовых, гладкие или слегка морщинистые.	+	+	+	-	-
<i>C. tropicalis</i>	ПГ с многократными разветвлениями и БК, расположенными одиночно или Цепочками.	Колонии мелкие, гладкие или морщинистые, тусклые.	+	+	+	-	-
<i>C. krusei</i>	Многочисленные обильно ветвящиеся ПГ, присутствуют и удлинённые БК.	Колонии сухие и тусклые, часто линзовидные (в форме глаза).	+	+	-	-	± (50% Штаммов)
<i>C. kefyr</i>	Многочисленные часто искривлённые ПГ с удлинёнными БК.	Колонии от белых до кремовых, постоянно несколько сухих на вид.	+	+	±	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	Пучки БК вдоль гиф, ПГ с многократными разветвлениями.	Колонии мелкие, от белых до кремовых и жёлтых, гладкие и морщинистые.	+	+	±	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	Образует немного или умеренное количество ПГ с БК вдоль них.	Колонии от кремовых до жёлто-бежевых, мелкие и влажные.	±	-	-	-	-
<i>C. lusitaniae</i>	Редкие ПГ, напоминающие цепочки БК, у некоторых штаммов редко ветвящиеся, иногда изогнутые, ПГ.	Колонии мелкие, белые, при старении становятся влажными.	+	+	+	-	-
<i>C. glabrata</i>	Очень мелкие почкующиеся дрожжевые клетки, не формируют гиф или ПГ.	Колонии белые, блестящие, при старении сохраняются влажными.	+	+	+	-	-

Обозначения: ПГ - псевдогифы, БК - бластоконидии, Н.Г.- настоящие гифы, «+»- наличие роста или признака, «-»- отсутствие роста или признака.





#### Нитратный агар (M072)

1. Control
2. *Enterobacter aerogenes* (ATCC 13048)
3. *Escherichia coli* (ATCC 25922)
4. *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028)
5. *Acinetobacter calcoaceticus* (ATCC 23055)

#### Тест на уреазную активность

Для теста используется Основа уреазного агара Кристенсена (HiMedia, M112). При положительном результате цвет среды, на которой культивируют штаммы, становится розовым; при отрицательном цвет среды не изменяется. Положительный результат в этом тесте фиксируют через 48-72 часа, но для констатации отрицательного результата необходимо продолжить инкубацию до 7 суток. Результаты, полученные при использовании этого теста, приведены в Таблице 4.

Следует отметить, что среди представителей рода *Candida* уреазной активностью обладают только некоторые штаммы *C. krusei*.

Помимо указанных выше тестов нередко используют изучение термотолерантности грибов рода *Candida*.



#### Основа уреазного агара Кристенсена (M112)

1. Control
2. *Proteus vulgaris* (ATCC 13315)
3. *Proteus mirabilis* (ATCC 25933)
4. *Escherichia coli* (ATCC 25922)
5. *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028)

#### Тесты на толерантность к повышенной температуре

Зависимость роста от температуры может быть полезным дифференцирующим признаком, если виды выделенных грибов *Candida* сходны по биохимическим признакам.

Суточную культуру вносят в 4 чашки Петри с Сабуро декстрозным агаром (HiMedia, M063). Одну чашку оставляют при комнатной температуре, а три других помещают в термостаты при температурах 37 °С, 42 °С и 45 °С.

Определение толерантности к повышенной температуре используют с целью идентификации видов *Candida* и *Cryptococcus*. В частности, этот метод применяют с целью выявления отличий *C. albicans* от недавно описанного вида *C. dubliniensis*. Результаты, полученные при использовании этого метода для идентификации грибов рода *Candida*, приведены в Таблице 4.

Из приведенных выше материалов с применением расширенной и окончательной идентификации с использованием нескольких разных методов позволяет осуществить более специфичную идентификацию грибов *Candida* на уровне вида. Так, исследование их физиологии (рост на среде с циклогексимидом, при повышенной температуре, уреазная активность и др.) позволяет различать биовары *C. albicans* и *C. krusei*.

#### Изучение грибов рода *Candida* на макроморфологическом уровне (на специальных средах)

Основная цель макроморфологических исследований состоит в описании формы колоний, их размера, окраски, а также таких признаков как: гладкие или морщинистые, сухие или влажные (изменение этих признаков или их сохранность при старении культур).

В Таблице 4. приведены такие характеристики представителей рода *Candida* как: наличие или отсутствие их роста при повышенных температурах (37 °С, 42 °С и 45 °С), макроморфологические признаки грибов при выращивании их на кукурузном агаре по методу Дальмау, а также морфология колоний грибов на агаре Сабуро при t= 25 °С. Мы сочли целесообразным представить в этой таблице и два других важных теста герминация - (образование зародышевых трубок) в присутствии сыворотки при 37 °С, а также, наличие или отсутствие роста на среде Сабуро с циклогексимидом.

С целью выявления макроморфологических признаков некоторых видов грибов (*C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. kefyr*) используют специальные среды, например, предложенную Никерсоном (HiMedia, M217).

Этот агар используется в основном для селективного выделения грибов *C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. kefyr*. На ней подавляется рост многих видов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, тогда как дрожжеподобные грибы рода *Candida* и другие дрожжи нормально развиваются и восстанавливают сульфит висмута, при этом колонии окрашиваются в коричневый цвет. Рекомендуют добавлять в среду неомицин или гентамицин (2 мг/л среды) для более сильного подавления сопутствующей бактериальной флоры. Результаты учитывают через 24-48 часов инкубации посевов исследуемого материала при 30 °С (Таблица 5.).

Морфология колоний и их окраска у некоторых представителей рода *Candida*, культивированных на Висмут-сульфит-глюкозо-глицино-дрожжевом агаре (Среда Никкерсона) (HiMedia, M217)

Тест-штаммы	Описание формы колоний и их окраска
<i>C. albicans</i>	Колонии гладкие, черно-коричневые, окраска не диффундирует в агар, колонии не блестят
<i>C. tropicalis</i>	Колонии гладкие, тёмно-коричневые с черным центром, диффузное почернение через 72 часа, блестящие
<i>C. kefyr</i>	Колонии большие, плоские, морщинистые, серебристо-коричневые, черные колонии, желтый диффузионный ореол



Висмут-сульфит-глюкозо-глицино-дрожжевой агар (Среда Никкерсона) (M217)  
*Candida tropicalis* (ATCC 750)

## Другие некультуральные методы идентификации грибов рода *Candida*

### 1. Метод определения продуктов метаболизма грибов рода *Candida*

Такие методы основываются на освобождении продуктов метаболизма грибов *Candida*, продуцируемых ими в различные жидкости организма больных кандидозами, и тем самым представляют определенную диагностическую ценность. Одним из таких продуктов является D-арабитол, появляющийся в качестве метаболита в сыворотке больных. Впервые он был обнаружен в сыворотке больных диссеминированным кандидозом. D-Арабитол продуцируется большинством патогенных грибов рода *Candida* за исключением *C. glabrata* и *C. krusei*. Количественно его определяют методом газовой-жидкостной хроматографии, а также методом энзимометрического измерения.

Метод газовой-жидкостной хроматографии используют также для определения концентрации в сыворотке крови больных кандидозом D-маннозы - компонента клеточной стенки грибов рода *Candida*.

### 2. Молекулярно-биологические методы

Эти методы основываются на определении ДНК грибов в различных жидкостях организма человека. Эти подходы становятся многообещающими в качестве возможного диагностического теста с использованием метода ДНК-полимеразной цепной реакции (ПЦР).

В нескольких обзорных статьях показана бесполезность применения этого метода с целью установления диагноза заболевания. Было описано несколько других проб, таких как: ген актина, ген, кодирующий образование цитохром 450 14 ланостерол-диметилазы, ген хитин-синтазы, ДНК из митохондрий. Также широко используются пробы, включающие генный комплекс r РНК.

Такие методы, как ДНК пробы могут быть также применены для видовой идентификации грибов рода *Candida* после выделения чистой культуры. Совсем недавно разработаны методы ПЦР, позволяющие вести определение достаточного количества ДНК из слюны и мочи.

Предложены и другие молекулярные методы для идентификации грибов *Candida* на геном или видовом уровне рибосомальных ДНК, включая большие и маленькие rРНК субъединицы.

Кроме того, описаны методы, связанные с SAP DNK, Erg 11 геном, включающегося в биосинтез эргостерола и другие. Однако эти методы ещё не являются полностью пригодными для рутинной диагностики грибов рода *Candida*.

Хромогенные среды (экспресс диагностика)

В настоящее время выпускаются коммерческие наборы, пригодные для идентификации отдельных или нескольких видов дрожжевых грибов, и чаще иных, чем *C. albicans*. Использование этих систем считается нетрудоёмким, удобным и требует достаточно мало времени.

Следует заметить при этом, что с помощью этих систем пока не всегда можно идентифицировать все виды тестируемых дрожжевых грибов, а лишь только наиболее распространённые виды.

Наиболее новыми и широко распространёнными являются так называемые хромогенные среды. Результаты, получаемые с использованием большинства из этих сред,

позволяют идентифицировать больше видов *Candida*, чем при постановке проростковой пробы. Основной принцип конструирования хромогенных систем, рекомендованных для грибов *Candida*, заключается в введении в питательную среду хромогенных или флюоресцирующих гексозамидных субстратов, (например:  $\beta$ -D-галактозамин), облегчающих идентификацию этих грибов уже при первичном их выделении. Введение в такие среды различных субстратов основано на сообщении Perry J.L. и Miller G.R. (1987) о том, что грибы *C. albicans* вырабатывают фермент  $\beta$ -N- ацетилгалактозаминидазу.

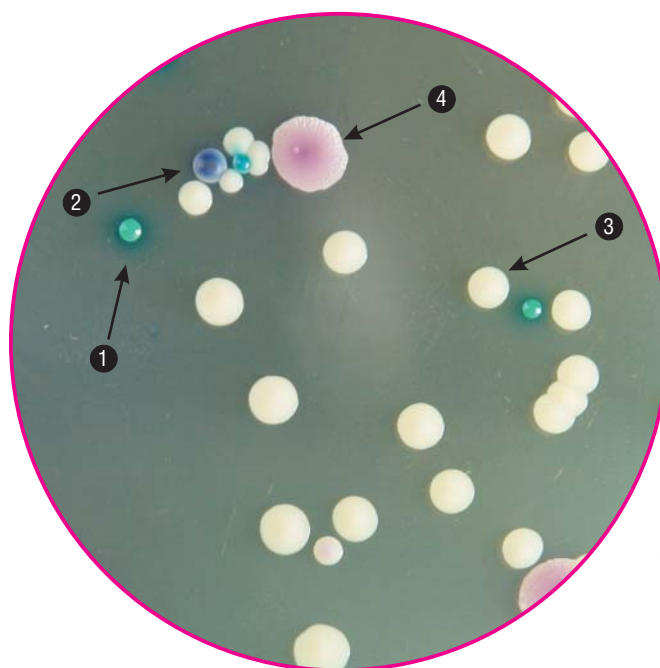
ХайХром селективный агар для грибов *Candida* (для дифференциации) (HiMedia, M1297A), предназначенный для дифференциации, является селективной и дифференциальной средой, способствующей быстрому выделению грибов рода *Candida* (в течение 48 часов) из смешанных культур и позволяет дифференцировать по цвету и морфологии колоний виды *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, часто встречающихся при исследованиях в микологических и клинико-микробиологических лабораториях.

В Таблице 6. приведены характеристики роста различных видов *Candida* на среде (HiMedia, M1297A).

Таблица 6.

Культуральные характеристики грибов рода *Candida*, выращенных на среде (HiMedia, M1297A).

Культуры	Рост культур на средах	Цвет колоний
<i>C.albicans</i>	обильный	Светло зелёные
<i>C.tropicalis</i>	обильный	Синие или синие с металлическим оттенком, выпуклые
<i>C.krusei</i>	обильный	Пурпурные, расплывчатые
<i>C.glabrata</i>	обильный	От белого до кремового
<i>E.coli</i> (25922)	отсутствует	–
<i>S.aureus</i> (25923)	отсутствует	–



ХайХром селективный агар для грибов *Candida* (для дифференциации) (M1297A)  
 1. *Candida albicans* (ATCC 10231)  
 2. *Candida tropicalis* (ATCC 750)  
 3. *Candida glabrata* (ATCC 15126)  
 4. *Candida krusei* (ATCC 24408)

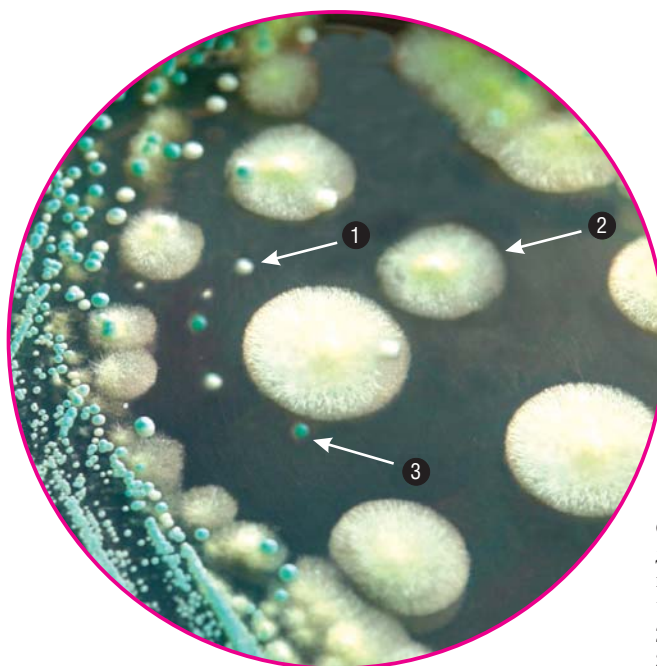


Выпускается также Основа ХайХром агара для дрожжевых и плесневых грибов (HiMedia, M1467). Он является селективной и дифференциальной средой (Таблица 7.).

Таблица 7.

Окраска колоний грибов рода *Candida* и плесневых грибов, выращенных на хромогенном агаре OGYE (HiMedia, M1467)

Культуры	Рост культур на средах	Окраска колоний
<i>Aspergillus niger</i>	обильный	светло-голубые с чёрными спорами
<i>C. albicans</i>	обильный	зелёные
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	обильный	бесцветные
<i>E. coli</i> ATCC 25922	отсутствует	—



Основа ХайХром агара для дрожжевых и плесневых грибов (M1467)

1. *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763)
2. *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)
3. *Candida albicans* (ATCC 10231)

## Противогрибковые препараты системного и местного применения, чувствительность и устойчивость к ним грибов рода *Candida*

Значительная распространенность грибковых заболеваний, высокая устойчивость к факторам внешней среды и быстрая адаптация их возбудителей, частота ассоциативных грибковых инфекций, нередкое присоединение аллергического компонента требуют постоянного поиска и внедрения в повседневную микологическую практику новых противогрибковых средств.

Во всем мире в настоящее время принята и эффективно используется классификация противогрибковых средств, построенная по принципу их химической структуры.

**I. Полиеновые антибиотики** (макролиды) классифицируются по количеству ненасыщенных сопряженных двойных связей:

1. Тетраены: натамицин;
2. Гептаены: нистагин, амфотерицин В.

**Механизм действия:** полиеновые антибиотики необратимо связываются с эргостерином клеточной мембраны дрожжевых и других грибов, нарушая при этом

проницаемость клетки. В клетке наблюдается быстрая потеря ионов, что приводит к снижению уровня pH внутри клетки (с 6,1 до 5,2) и к коагуляции цитоплазмы. Затем следует цитолиз и вытеснение цитоплазмы с последующим полным разрушением грибов.

**II. Азолы** - препараты, составляющие эту группу, объединены по принципу наличия в их химической структуре пятичленного гетероцикла:

1. Имидазолы - содержат один пятичленный гетероцикл с двумя атомами азота:

- а) препараты первого поколения (предназначены только для местного применения) клотримазол, миконазола нитрат, изоконазол;
- б) препараты второго поколения (предназначены для местного применения) эконазол, тиоконазол;
- в) препараты третьего поколения (предназначены как для местной, так и для системной терапии) кетоконазол, сульконазола нитрат, оксиконазол;

2. Триазолы - содержат один пятичленный гетероцикл с тремя атомами азота (обладают селективностью в ингибировании грибкового цитохрома):

флуконазол, итраконазол, терконазол, фторконазол.

**Механизм действия всех азолов един:** Ингибирование эндоплазматического цитохром P<sub>450</sub> - зависимых монооксигеназных реакций циклизации ланостерина в диметилэргостатриенол путём неселективного ингибирования эндоплазматического цитохрома P<sub>450</sub> и, следовательно, подавляя все P<sub>450</sub> - зависимые монооксигеназные реакции. Азолы способны серьёзно вмешиваться в стероидогенез человека и влиять на детоксикационную функцию печени.

III. **Арены:** нитрофенол, толнафат.

IV. **Пиримидины:** 5-флуороцитозин, циклопироксоламин.

**Механизм действия:** по химической структуре являются подобием пиримидиновых оснований (5-фторурацил, 5-фторуридин рибозидаза). Встречаются с РНК грибов и нарушают биосинтез протеинов, тимидинов и ДНК.

V. **Аллиламины:** нафтифин, тербинафин.

**Механизм действия:** ингибиторы фермента эпоксидазы, превращающего сквален в 2,3-оксидосквален.

Поскольку клеточная мембрана является одной из наиболее часто используемых мишеней действия противогрибковых препаратов, применяемых в клинической практике, нам представляется целесообразным подробнее остановиться на её функциональном реагировании при воздействии ряда противогрибковых препаратов. Это обусловлено в первую очередь тем, что клеточная мембрана грибов, в отличие от мембран других эукариотических клеток, содержит большие количества эргостерина, который играет главную роль в поддержании текучести мембран. Текучесть мембраны жизненно важна для её барьерной функции, а так же для правильного функционирования некоторых ферментов, связанных с мембраной. Следовательно, нарушение биосинтеза эргостерина некоторыми антимикотиками оказывает выраженное влияние на метаболизм грибковых клеток, приводя к подавлению их роста и даже гибели.

Наряду с полиеновыми антибиотиками и препаратами на основе 5-флуороцитозина, имидазольные соединения в последние годы являются основными эффективными противогрибковыми средствами, занимая всё более прочное место среди разнообразных антимикотиков. Благодаря сравнительной лёгкости их синтеза, высокой эффективности, малой токсичности, возможностью как наружного, так и внутреннего применения, они прекрасно конкурируют с полиеновыми антибиотиками и признаются почти универсальными противогрибковыми препаратами. Они хорошо сочетаются с другими антифунгальными средствами, в частности с амфотерицином В и 5-флуороцитозином, что позволяет применять каждое из них в меньшей концентрации и, следовательно, с меньшими побочными и токсическими явлениями.

Остановимся коротко на некоторых антигрибковых препаратах, широко используемых в настоящее время при необходимости их симптоматического применения.

### **Нистатин**

Препарат из группы полиенов-макролидов. Он все ещё достаточно широко применяется при лечении и профилактике глубокого кандидоза, а также в связи с ожидаемым выпуском его липосомальной формы, хотя этот препарат и не является средством для системной терапии микозов, поскольку почти не проникает в кровь. Он обладает преимущественно фунгистатическим действием. Фунгицидный эффект может проявляться при применении высоких концентраций препарата.

Чувствительными к нистатину являются грибы рода *Candida*, а также грибы рода *Aspergillus*. В лечении других микозов он не применяется. Устойчивость к препарату отмечается довольно редко. Его неэффективность зависит от применения неадекватных доз препарата или же от неправильного его назначения.

Стандарты CLSI (NCCLS) для нистатина не разработаны. Используемая в настоящее время методика определения чувствительности к нистатину, в том числе с использованием автоматизированных систем, не соответствуют стандартам CLSI (NCCLS).

### **Амфотерицин В**

Амфотерицин В обладает широким спектром антимикотической активности. Назначаемый в/м или в/в амфотерицин В является препаратом выбора при многих формах глубоких микозов, включая кандидоз, аспиргиллёз, криптококкоз, бластомикоз и др. Он наиболее эффективен при парентеральном или внутривенном введении и наиболее широко используется для этих целей в виде дезоксихолатного комплекса. Его применяют с теми же целями в виде липосомальной формы «Амбизом», ABLC-амфотерицин В липидного комплекса и ABCD-амфотерицин В коллоидной дисперсии.

Препарат обладает фунгицидным эффектом *in vitro*, но в клинических условиях фунгицидные концентрации не всегда легко достигаются.

Неэффективность лечения, связанная с развитием устойчивости к этому препарату очень редка. Определение чувствительности к нему возбудителей заболевания до начала лечения в большинстве случаев не требуется.

### **Флуконазол “Хайконазол-50/150” (капсула Флуконазол 50 / 150 мг)**

Флуконазол является синтетическим производным бистриазола. Препарат широко применяется при лечении поверхностного и глубокого кандидоза и обладает довольно широким спектром действия, включающим большинство видов *Candida* (Таблица 8.). Наиболее чувствительным к нему является *C. albicans*, а также *C. tropicalis* и *C. parapsilosis*. Устойчивыми считают штаммы *C. krusei* и *C. glabrata*, хотя такого рода данных пока не достаточно.

При лечении кандидоза следует учитывать вид возбудителя, поскольку не все виды *Candida* чувствительны к флуконазолу. Как правило, определить чувствительность к препарату до начала лечения кандидоза не требуется, если заболевание вызвано *C. albicans* (по результатам проростковой пробы). Критерием чувствительности по CLSI (NCCLS) для грибов рода *Candida* является концентрация  $\leq 8,0$  мкг/мл, зависящая от дозы – составляет 16 - 32 мкг/мл, а концентрация препарата  $\geq 64$  мкг/мл соответствует его устойчивости к нему. Устойчивость штаммов *C. albicans* в ходе лечения развивается редко, обычно при длительном применении препарата. С целью лечения хронических форм кандидоза, в частности у больных СПИДом, долгое время получавших малые дозы флуконазола, при кандидозе, вызванном другими (не *C. albicans*) видами *Candida*, следует проводить определение их чувствительности до назначения больным этого препарата.

### Итраконазол

Препарат является синтетическим диоксалановым производным триазола. Обладает очень широким спектром действия и помимо грибов рода *Candida* подавляет рост *Cryptococcus neoformans*, дерматофитов и др. Оказывает преимущественно фунгистатическое, но также и фунгицидное действие. При лечении больных с поверхностным кандидозом чувствительность определяют как МПК  $< 0,125$  мкг/мл, зависящую от дозы чувствительность – как МПК от 0,25 до 0,5 мкг/мл, тогда как устойчивость к препарату как МПК  $> 1,0$  мкг/мл (Таблица 8.). Или упрощенно: МПК ниже 0,5 мкг/мл считается показателем чувствительности, а МПК выше 1,0 мкг/мл – устойчивости. Устойчивость к препарату описана в единичных случаях. Сообщается о возможной перекрестной устойчивости ко всем препаратам группы азолов, включая итраконазол, кетоконазол и флуконазол. Определять чувствительность грибов к итраконазолу до начала лечения не требуется.

Таблица 8.

#### КРИТЕРИИ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ И УСТОЙЧИВОСТИ ГРИБОВ РОДА *Candida* ДЛЯ СОВРЕМЕННЫХ СИСТЕМНЫХ АНТИМИКОТИКОВ НА ОСНОВЕ СТАНДАРТОВ CLSI (NCCLS)

Препарат	М П К (в мкг/мл)		
	Чувствительность $\leq$ мкг/мл	Зависит от дозы (интервал) в мкг/мл	Устойчивость $\geq$ мкг/мл
Амфотерицин В	0,25	0,5-1,0	2,0
Флуцитозин	4,0	8,0-16,0	32,0
Кетоконазол	0,5	Около 1,0	2,0
Итраконазол	0,125	0,25-0,5	1,0
Флуконазол	8,0	16,0-32,0	64,0

Таблица 9.

#### Показатели МПК и МПК<sub>90</sub> (в мкг/мл) противогрибковых препаратов в отношении грибов рода *Candida* на основе стандартов NCCLS (модифицировано по Mc Ginnis et.al., 1998)

Представители грибов рода <i>Candida</i>	АМФОТЕРИЦИН В		ФЛУКОНАЗОЛ		ИТРАКОНАЗОЛ		КЕТОКОНАЗОЛ	
	МПК	МПК <sub>90</sub>	МПК	МПК <sub>90</sub>	МПК	МПК <sub>90</sub>	МПК	МПК <sub>90</sub>
<i>C. albicans</i>	0,02-4,0	1,0-2,0	$<0,02->128$	0,5->64	0,01->16	0,12->16	0,01->16	0,12->16
<i>C. glabrata</i>	1,0-2,0	2,0	0,25-128	32->64	0,06->16	0,5-4,0	0,03->16	1,0-4,0
<i>C. guilliermondii</i>	0,25	—	—	—	0,25	—	—	—
<i>C. kefyr</i>	0,125	—	—	—	0,5	—	—	—
<i>C. krusei</i>	0,25-2,0	1,0-2,0	2,0->128	16-128	0,12->4,0	0,5-4,0	0,5-1,0	0,5-4,0
<i>C. lusitanae</i>	0,125-2,0	0,5	0,125-32	32	0,125-5,0	0,5	0,03-0,5	0,5
<i>C. parapsilosis</i>	0,05-8,0	1,0-2,0	0,12->64	2,0-32	0,03-2,0	0,25-0,5	0,03-2,0	0,25-1,0
<i>C. tropicalis</i>	0,5-8,0	2,0	0,25->128	2,0->64	0,015->16	0,25->16	0,03->18	0,5->16

### Кетоконазол

Кетоконазол является синтетическим диоксалановым производным имидазола. Этот препарат обладает широким спектром действия, включающим не только многие виды грибов рода *Candida*, но также все диморфные грибы и ряд других грибов. Кетоконазол проявляет преимущественно фунгистатический эффект. Для грибов рода *Candida* под чувствительностью к нему подразумевают МПК, не превышающую 8 мкг/мл, а под устойчивостью –

превышающую 16 мкг/мл (Таблица 8.).

Иногда встречаются штаммы *C. albicans*, устойчивые к кетоконазолу. Устойчивость может развиваться при длительном лечении хронического кожно-слизистого кандидоза, а также у больных СПИДом.

#### Чувствительность и устойчивость грибов рода *Candida* к антигрибковым препаратам, методы определения и критерии

Эффект, создаваемый действием антигрибковых



препаратов, может быть фунгицидным, приводящим к гибели клеток грибов, или фунгистатическим, когда останавливается лишь образование новых клеток грибов. Количественными показателями активности препарата являются величины МПК (минимальная подавляющая концентрация) и МФК (минимальная фунгицидная концентрация). Если МПК и МФК приблизительно одинаковы, то препарат считают фунгицидным.

Те антимикотики, для которых имеется значительная разница между МПК и МФК признаются фунгистатическими. Под действием этих препаратов так же происходит гибель клеток, но это имеет место или на протяжении известного периода времени, или же при повышении концентрации исследуемого препарата.

Концентрация большинства применяемых местно антимикотиков в 1000 раз превышает концентрации для аналогичных препаратов при их системном назначении. Это вполне обеспечивает фунгицидный эффект многих местно применяемых антимикотиков.

Что касается чувствительности грибов рода *Candida* к противогрибковым препаратам, то большинством специалистов отмечается неодинаковая их чувствительность к современным антимикотическим средствам. Это характерно не только для разных представителей рода *Candida*, но то же самое наблюдается и внутри представителей каждого из видов, входящих в род *Candida*. Поэтому для гарантированного успеха антикандиозной этиотропной терапии необходимо проводить определение чувствительности выделенных от больных грибов рода *Candida* к антигрибковым препаратам.

Известно, что результаты определения чувствительности грибов к антимикотикам в значительной степени зависят от условий проведения этого теста, состава и Ph среды, температуры и продолжительности культивирования грибов, количества и типа вносимого в среду посевого материала. При этом отмечают значительные расхождения в данных, полученных в разных лабораториях мира. В связи с этим CLSI (Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам - NCCLS) осуществил ряд исследований, направленных на стандартизацию методов определения чувствительности грибов рода *Candida* к новым системным антимикотикам.

Конечным результатом этих исследований в 1992 году явилось появление документа М-27, в котором приведен референс-микрометод серийных разведений с использованием среды RPMI с буфером MOPS (морфолин-

пропан-сульфоновая кислота), пригодным для определения чувствительности грибов рода *Candida* к антигрибковым препаратам. В 1996 году вышла 3-я исправленная и дополненная серия этого документа - М-27А, которая в настоящее время является международным стандартом тестирования чувствительности грибов рода *Candida* к ряду антимикотиков.

#### **Критерии чувствительности и устойчивости грибов рода *Candida* к антигрибковым препаратам**

Критерии CLSI (NCCLS) для 5 современных антимикотиков приведены в Таблице 8., где представлены данные по концентрации антигрибковых препаратов, определяющих чувствительность или устойчивость к тому или иному из них в МПК, полученные разными методами. В представленных в таблице уровнях МПК четко прослеживаются различия значений, характеризующих чувствительность, устойчивость и зависимость от дозы чувствительность грибов рода *Candida*.

Эти критерии CLSI (NCCLS), приведенные в Таблице 9. для 8., видов грибов *Candida*, тестированных в отношении 4-х современных антимикотиков, исходят из концентраций препаратов, к которым определяют его чувствительность (отсутствие роста при данной концентрации) или устойчивость (наличие роста). Эти дозы устанавливаются, исходя из концентрации препаратов при лечении больных. Вводится также промежуточное определение: зависимость от дозы препарата чувствительность, которая допускается для тех антимикотиков, концентрации которых могут быть созданы в организме больного (т.е. они должны обладать значительной по широте терапевтической активностью).

Как видно из этих данных, грибы рода *Candida* наиболее чувствительны к амфотерицину В и итраконазолу, а наиболее устойчивы к флуконазолу.

В Таблице 9. приведены данные по концентрациям антимикотиков, определяющим чувствительность или устойчивость к тому или иному антимикотику (в МПК, МПК<sub>90</sub>), полученные разными авторами.

Из приведенных в этой таблице сводных данных следует, что наибольшей чувствительностью к антигрибковым препаратам характеризуются штаммы *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, а устойчивостью - *C. glabrata*.

Согласно этих же данных показатели МПК<sub>90</sub> для всех приведенных 6 антигрибковых препаратов значительно превышают таковые для МПК.

Таблица 10.

**Чувствительность грибов рода *Candida* к антигрибковым препаратам на основании стандартов NCCLS (модифицировано по Sutton et.al., 1998)**

Антигрибковые препараты	ДИАПАЗОН МПК ДЛЯ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА <i>Candida</i> (мкг/мл)									Оценка штаммов по критериям	
	<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. guilliermondii</i>	<i>C. lusitaniae</i>	Чувствительные	Устойчивые	
Амфотерицин В	≤0,03-1,0	≥0,03-4,0	≤0,03-2,0	≤0,03-1,0	0,06	0,125-4,0	0,06-1,0	0,06-2,0	≤1,0	≥2,0	
	100%	99%	99%	100%	100%	82%	100%	96%			
	≤0,015->8,0	≤0,015->8,0	≤0,015->8,0	≤0,015->8,0	0,06	0,125->8,0	<0,125-2,0	0,03-1,0	≤0,5	≥1,0	
Итраконазол	86%	52%	99%	77%	100%	85%	80%	95%			
	≤125->64	≤125->64	0,25->64	0,25->64	≤0,5-2,0	16->64	≤0,125-64	≤0,125->64	≤32,0	≥64	
Флуконазол	87%	85%	97%	59%	100%	50%	92%	97%			
	≤125->64	≤125->64	≤125-4,0	≤0,125->64	—	≤125->64	≤0,125->64	≤0,125->64	≤16,0	≥32	
5-флуороцитозин	95%	93%	100%	93%	—	98%	86%	89%			
	≤0,03-16,0	0,06->8	≤0,03-1,0	0,03-8,0	—	0,5-16	0,06-0,25	≤0,03-0,5	≤8,0	≥16	
Кетоконазол	91%	99%	100%	100%	—	96%	100%	100%			
	≤0,03->16,0	≤0,03-0,5	0,06-0,5	0,125-0,25	≤0,03	0,5-1,0	1,0	≤0,03-1,0	≤8,0	≥16	
Миконазол	83%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%			

Безусловно, интерес представляют сводные данные, приведенные в Таблице 10, в которой отражён процент встречаемости 8 различных видов грибов рода *Candida*, чувствительных к ряду антигрибковых препаратов.

Достаточно высокий процент изученных грибов показан для таких препаратов как амфотерицин В, 5-флуороцитозин, кетокеназол и особенно миконазол

Таблица 11.

**Грибы рода *Candida*, для которых описана устойчивость к антимикотикам  
Сергеев А.Ю. и Сергеев Ю.В., 2001 г.)**

Флуконазол	Амфотерицин В	Кетоконазол (итраконазол)
<i>C. glabrata</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. norvegensis</i>
<i>C. krusei</i>	<i>C. lusitaniae</i> (часть штаммов)	–
<i>C. ciferrii</i>	–	–
<i>C. inconspicua</i>	–	–
<i>C. lipolytica</i>	–	–
<i>C. norvegensis</i>	–	–

Из данных, приведенных в этой таблице, напрашивается заключение, что устойчивость грибов рода *Candida*, выявленная *in vitro*, может явиться фактором, предопределяющим отсутствие эффективности при лечении кандидозов, обусловленных перечисленными представителями рода *Candida*. В этих случаях, для лечения кандидозной инфекции, следует отдавать предпочтение препаратам, к которым не известна природная устойчивость к данному антимикотику.

Так, исходя из данных этой таблицы, в случае выделения от больного грибов *C. glabrata* или *C. krusei*, для которых установлена природная резистентность к флуконазолу, следует предположить его неэффективность в случае назначения больному. В подобном случае целесообразно определить чувствительность выделенного штамма гриба к другим антимикотикам.

Чувствительными к нистатину являются грибы рода *Candida*, а также грибы рода *Aspergillus*. При лечении микозов, обусловленных грибами других видов, он не применяется. Устойчивость к препарату отмечается довольно редко. На практике его неэффективность нередко зависит от применения неадекватных доз препарата или же от неправильного его назначения.

Устойчивость грибов рода *Candida* к тому или иному антимикотику, выявленная *in vitro*, уже может предопределять неэффективность лечения им кандидоза. Некоторые из видов *Candida*, включая и 3 наиболее распространенных возбудителя кандидозов (*C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis*), чувствительны к флуконазолу, амфотерицину В и ряду других азоловых антимикотиков, хотя их чувствительность к этим препаратам не одинакова.

Следует также отметить, что устойчивость и чувствительность к антимикотикам – свойство, присущее не обязательно всем штаммам одного вида. Часть же видов *Candida* устойчивы к одному или нескольким антимикотикам.

Если для какого-то вида грибов известно, что он устойчив к тому или иному антимикотику, то следует определять степень его чувствительности к данному препарату, а также к препаратам близким по химической структуре (например, к препаратам азоловой группы). Выделение одного из редких видов *Candida*, для которых не известна чувствительность к противогрибковым препаратам, необходимо сочетать с определением их чувствительности к известным новейшим препаратам. Это может также способствовать в дальнейшем повышению к нему интереса клиницистов.

**Чувствительность основных возбудителей кандидоза к ряду противогрибковых препаратов**

Как уже отмечалось выше, основным возбудителем кандидоза является *C. albicans*. Однако, в последние 17-25 лет отмечено значительное увеличение числа инфекций, вызываемых *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* и *C. krusei*.

Вид грибов, относящихся к роду *Candida*, по мнению Л.С.Страчунского и др. (2002г.) строго коррелирует с их чувствительностью к антимикотикам (Таблица 12.). Данные, приведенные в этой таблице, свидетельствуют о том, что подавляющее число штаммов *C. albicans*, *C. tropicalis* и *C. parapsilosis* чувствительны к системным азоловым препаратам (флуконазолу, итраконазолу) и амфотерицину В.



Чувствительность основных возбудителей кандидоза к противогрибковым препаратам

Грибы рода <i>Candida</i>	Противогрибковые препараты		
	флуконазол	итраконазол	амфотерицин В
<i>C. albicans</i>	Ч	Ч	Ч
<i>C. tropicalis</i>	Ч	Ч	Ч
<i>C. parapsilosis</i>	Ч	Ч	Ч
<i>C. glabrata</i>	Ч-ДЗ <sup>1</sup>	Ч-ДЗ <sup>2</sup>	Ч <sup>4</sup>
<i>C. krusei</i>	Р	Ч-ДЗ <sup>3</sup>	Ч <sup>4</sup>
<i>C. lusitaniae</i>	Ч	Ч	Ч <sup>5</sup>

Ч : чувствительность

Ч-ДЗ : дозозависимая чувствительность

Р : резистентность

1 : 15 % изолятов *C. glabrata* устойчивы к флуконазолу

2 : 46 % изолятов *C. glabrata* устойчивы к итраконазолу

3 : 31 % изолятов *C. krusei* устойчивы к итраконазолу

4 : в последние годы отмечен рост резистентности *C. glabrata* и *C. krusei* к амфотерицину В

5 : некоторые штаммы *C. lusitaniae* устойчивы к амфотерицину В (Страчунский Л.С. и др. 2002г.)

Однако следует учитывать и возможность развития устойчивости этих возбудителей к антигрибковым препаратам при длительном лечении кандидозов у больных с иммунодефицитом.

Так, к флуконазолу устойчиво большинство штаммов *C. krusei* и часть штаммов *C. glabrata*, а к итраконазолу – почти половина штаммов *C. glabrata* и 1/3 часть штаммов *C. krusei*.

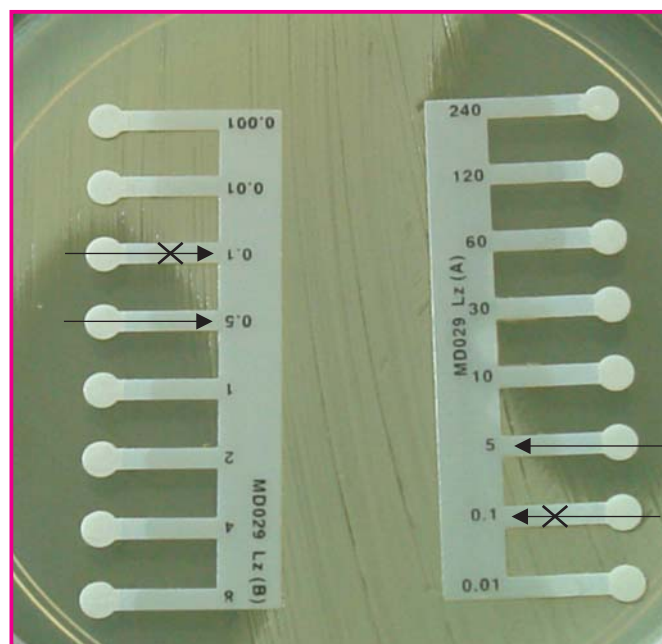
К амфотерицину В нередко резистентны грибы *C. lusitaniae* и *C. guilliermondii*, а при кандидозах, обусловленных *C. glabrata* и *C. krusei*, необходимо увеличивать дозы этого препарата.

Исходя из практики применения антимикотических препаратов, рекомендуется определить вид возбудителя инфекции при инвазивном кандидозе, а так же при рецидивирующем течении и / или резистентности поверхностного кандидоза к стандартной терапии.

#### Методы определения антимикотикограмм грибов рода *Candida* с использованием дисков с противогрибковыми препаратами.

Принципы CLSI (NCCLS) были также изложены в разработанных недавно методах диффузии антигрибковых препаратов в агар с использованием дисков, пропитанных антимикотиками. Использование этого метода значительно упрощает определение чувствительности к ним грибов рода *Candida*, делая его технически таким же несложным, как и при определении чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Рядом исследователей было показано соответствие метода ХайКомб МИК-тест (HiMedia, Кат.№: MD071, MD072, MD073, MD074) стандарту CLSI (NCCLS). Менее четко соответствие было отмечено в отношении тестирования антигрибковых препаратов азоловой группы.



ХайКомб МИК-тест флуконазол (MD072)

О степени чувствительности или устойчивости грибов рода *Candida* при использовании дисков с антимикотиками судят визуально по зоне наличия или отсутствия роста культуры вокруг дисков с антимикотиками, к которым определяется чувствительность.

Считаем необходимым представить более подробное описание определения чувствительности грибов рода *Candida* методом диффузии в агар с использованием дисков с антимикотиками, выпускаемых фирмой HiMedia.

## Определение чувствительности *Candida* к антимикотикам диско-диффузионным методом.

Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI), M1825R

### Принцип и оценка результата:

Состав среды Мюллер и Хинтон был первоначально разработан как простая, прозрачная агаризованная среда для культивирования патогенных культур (1). Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) рекомендуется для диффузии антигрибковых агентов, которыми пропитаны бумажные диски, в агаровый гель, как описано в стандарте CLSI (2).

Kirby-Bauer рекомендовали агар Мюллер Хинтон для тестов определения чувствительности с использованием одного диска с высокой концентрацией (4). Комитет ВОЗ по стандартизации определения чувствительности принял агар Мюллер Хинтон для определения чувствительности микроорганизмов в связи с воспроизводимостью результатов тестирования на этой среде (3). Агар Мюллер Хинтон с добавлением 5% бараньей крови или гемоглобина был рекомендован для определения чувствительности *S.pneumoniae* и *H.influenzae*. Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) рекомендуется для изучения чувствительности дрожжей и грибов к антимикотикам диско-диффузионным методом.

### Приготовление инокулома:

1. Взять суточную культуру (24 часа при  $35\pm 2^\circ\text{C}$ ), выращенную на среде Сабуро декстрозный агар (M063). Снять со среды пять колоний диаметром около 1 мм и суспензировать в 5 мл 0,85% NaCl.
2. Перемешать суспензию и довести ее плотность до 0,5 единиц McFarland ( $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$  КОЕ).

### Проведение исследования:

1. Приготовить чашки со средой Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI). Толщина слоя агара в чашках должна быть 4 мм.
2. Стерильным, не токсичным хлопковым тампоном на деревянной палочке нанести суспензию микроорганизмов штрихами на поверхность агара в трех направлениях (поворачивая чашку на  $60^\circ$ ). Оставить чашку с закрытой крышкой на 5 – 15 минут для подсушивания при комнатной температуре.
3. Разложить диски с антимикотиками на поверхность засеянного агара так, чтобы расстояние между центрами дисков было не менее 24 мм (не более 12 дисков на чашку диаметром 150 мм или не более 5 дисков на 100 мм чашку).
4. Перевернуть чашку вверх дном и поместить в термостат при  $35\pm 2^\circ\text{C}$  не позднее, чем через 15 минут после наложения дисков.
5. Достоверные результаты можно получить при образовании на чашках почти сливного роста культуры и равномерно круглых зон задержки роста. Если этого не наблюдается через 20 – 24 часа роста, то учитывать

результаты нужно через 48 часов (подробную информацию см. Приложение).

### Экология и эпидемиология кандидозов

В книге «Микробиология и микробные инфекции» (10-ое издание) Togley Wilson, s' 2005) сообщается о том, что представители грибов рода *Candida* составляют четверть случаев при обретенных внутрибольничных инфекций в Северной Америке. Они ответственны за возникновение в 100% всех случаев инфекций кровяного русла, которые приводят к смерти больных в 35% случаев.

Хотя большинство грибов рода *Candida* были выделены от животных или из других источников, приводящих к грибковым заболеваниям людей, тем ни менее они обычно бывают эндогенного происхождения. Их нередко обнаруживают в различных жидкостях или органах человека, главным образом в таких как: ротовая полость, вагина и кожа. Количественное варьирование присутствия грибов рода *Candida* у здоровых людей может зависеть от различных факторов - возраст человека, климат, диета.

По данным Odds F.C. (1988) количество грибов рода *Candida*, выделенных из ротовой полости составляло 1,9-41,4%, из желудочно-кишечного тракта - 0-55% и из вагины-22-68%.

Автор цитируемой выше работы считает, что штаммы *C. tropicalis* и *C. glabrata* являются вторыми, наиболее часто встречающимися видами, выделяемыми из ротовой полости, а так же из вагины и желудочно-кишечного тракта. В тоже время штаммы *C. albicans* признаются им наиболее важными патогенами среди других представителей рода *Candida*.

Кроме трех названных выше видов грибов рода *Candida* чешские исследователи Krsmery и Barnes (2000) в одном из обзоров сообщают, что другие два вида грибов из рода *Candida* - *C. parapsilosis* и *C. crusei* - также достаточно часто встречаются при различных формах кандидозных инфекций. О факте частого выделения грибов рода *Candida* из полости рта сообщается в работе Stenderup (1990), а из вагины здоровой женщины - в работе Odds (1988).

Штаммы *C. albicans* более редко удается изолировать из окружающей среды по сравнению с другими грибами этого рода. Это может быть результатом того, что штаммы этого вида грибов очень легко адаптируются к паразитирующему пути выживания в результате потери некоторых свойств, которыми обладают штаммы других видов *Candida*.

Штаммы *Candida spp.* серотипа А чаще встречаются среди клинических штаммов, чем культуры грибов серотипа В (Auger et.al.1979). Штаммы *C. albicans* серотипа В, выделенные от больных с иммуносупрессией, также встречались реже, чем штаммы серотипа А.

Интересные данные были представлены о корреляции в чувствительности к флуконазолу у штаммов, относящихся к этим двум серотипам. Так, штаммы серотипа А - чувствительны к этому антимикотику, тогда как штаммы серотипа В часто проявляют к нему резистентность (Auger et.al. 1979).

Сообщается также о том, что вспышки кандидозных

инфекций приносятся и распространяются через руки персонала и/или контаминированием предметов обихода и др.

Возбудители *Candida* нередко могут вызывать вспышки кандидозных инфекций. Айзенберг и Тусс сообщили о возможной передаче и распространении возбудителя кандидозной инфекции среди групп риска (новорожденные или больные, перенесшие коронарное шунтирование) через руки медицинского персонала, контаминированные предметы обихода и другие материалы.

*C. albicans* реже, чем другие представители рода *Candida* обнаруживаются в окружающей среде. Это может явиться причиной того, что грибы этого вида относительно легко адаптируются к паразитическому пути выживания и в результате утрачивают некоторые характеристики, которыми обладают другие представители рода *Candida*.

*C. guilliermondii* были выделены из ряда источников окружающей среды таких как: болота, почва, песок, морская вода, дикие и домашние птицы. Этот вид грибов *Candida* был выделен с рук медицинского персонала, из раствора гепарина для промывания сильным напором струи игл «батерфляй», используемых для забора образцов крови.

*C. glabrata* преобладают среди изолятов, выделенных из ротовой полости или вагины здоровых людей. Преобладание этого вида становится значительно более частым, и грибы этого вида вызывают кандидемии и являются также главными патогенами кандидозных вагинитов или стоматитов, особенно при наличии искусственных зубов.

Значительное преобладание *C. glabrata* в качестве возбудителя серьезных кандидозных инфекций, скорее всего, обусловлено селективным отбором из-за его резистентности к флуконазолу.

*C. parapsilosis* широко распространены в природе, они являются составной частью нормальной флоры кожи человека. Эти штаммы также контаминируют растворы

глюкозы. Сообщается также об их роли в отделениях интенсивной терапии. Kremerry, Barnes (2002) сообщили о способности этих штаммов образовывать биопленки на концах катетеров. Их обнаруживают на госпитальном оборудовании, руках медицинского персонала и в случаях инфекций, главным образом у больных высокого риска их приобретения.

Сообщается также о случаях эндофтальмитов, вызываемых штаммами *C. parapsilosis*, контаминирующих имплантируемые глазные линзы.

*C. tropicalis* (по данным Odds, 1988) является преобладающим патогеном в полости рта у бессимптомных носителей. Его выделяют при фунгемиях в случаях послеоперационных инфекций, остеомиелитов, эндокардитов. Показана также возможность обнаружения штаммов *C. tropicalis* в смывах с рук медицинского персонала.

*C. lusitaniae* была выделена из различных источников: от животных (свиней), из пищевых продуктов (соков из цитрусовых плодов), птичьего помета и клинических образцов (мокроты, кала, мочи). Количество *C. lusitaniae* по сравнению с другими представителями рода *Candida*, выделенными из клинического материала, относительно низкое. В течение 15-ти месячного изучения только 0,64% выделенных грибов были идентифицированы как *C. lusitaniae*. Было сообщено также о случаях внутрибольничной колонизации желудочно-кишечного и мочевого трактов и была доказана их передача через руки медицинского персонала больницы.

*C. kefyr* является видом, который очень редко вызывает кандидоз у людей. Этот вид *Candida* выделялся от больных спорадически, в случаях кандидозной инфекции, из вагины, мочи и ушей.

Более подробные сведения об этих грибах представлены в Таблице 13. - эпидемиологические показатели, включая места обнаружения и колонизации грибов рода *Candida*, вызываемые ими заболевания и основные пути инфицирования.



### МЕСТА КОЛОНИЗАЦИИ ГРИБАМИ РОДА CANDIDA, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯ И ОСНОВНЫЕ ПУТИ ИНФИЦИРОВАНИЯ

Представители рода <i>Candida</i>	Места обнаружения (или колонизации)	Вызываемые заболевания	Основные пути инфицирования
1	2	3	4
<b>ОСНОВНЫЕ ВОЗБУДИТЕЛИ КАНДИДОЗОВ</b>			
<b><i>C. albicans</i></b>	Обнаруживается широко во всем мире и может быть частью нормальной микрофлоры горла, кожи, вагины и лица. Гриб может широко проникать в любую ткань или орган и обуславливать заболевание. Колонизирует кишечник, кожу и особенно участки, окружающие естественные отверстия.	Довольно часто вызывает инфекционные заболевания (кандидозы) зараженных этим грибом различных органов человека и животных. Хронические заболевания при беременности (вагиниты), а также нередко при использовании антибиотиков, стероидных и цитотоксических препаратов. Грибы этого вида обуславливают молочницу у новорожденных и у их матерей, а также у пожилых людей. <i>C. albicans</i> вызывает также вагиниты, баланиты, инфекции кожи и ногтей, легочные и бронхиальные инфекции, энтериты и диареи, эндокардиты (после лекарственного наркоза перед операцией на сердце), менингиты, циститы, септицемии и абсцессы во многих органах в случаях диссеминированного кандидоза.	Эндогенные инфекции, и начинаются они на слизистых оболочках самого больного. Описаны также случаи внутрибольничного происхождения: показана передача этого гриба через руки медперсонала и инструменты с последующим развитием кандидоза.
<b><i>C. tropicalis</i></b>	Обнаруживают в фекалиях человека и животных Колонизирует кожу, полость рта. Этот вид гриба рода <i>Candida</i> выделяют также из молочных и морепродуктов, из морской воды, мяса.	Этот гриб становится распространенным возбудителем инфекций у лиц с ослабленной иммунной системой, установлено его участие при сепсисе, раневых инфекциях, инфекциях новорожденных и диссеминированных инфекциях глубоких тканей. Вызывает также менингиты и септицемию.	Показана возможность передачи этого гриба через руки медперсонала и инструменты, что приводило к развитию глубокого кандидоза, а также возможность парентерального заражения с последующим развитием диссеминированной инфекции

1	2	3	4
<b><i>C. glabrata</i></b>	Входит в состав микрофлоры слизистых оболочек человека, обнаруживают в ротовой полости, кишечнике и фекалиях, в составе микрофлоры влагалища. Выделен при случаях сепсиса, при хронических инфекциях мочеиспускательного канала и при рефрактерном вагините. Встречается также у млекопитающих и птиц, насекомых, во фруктовых соках.	Вызывает хронические циститы и септические процессы, а также обуславливает рефрактерный вагинит.	Эндогенные инфекции, начинающиеся на слизистых оболочках самого больного. Описаны случаи внутрибольничного инфицирования, и в связи с этим <i>C. glabrata</i> признается как опасный возбудитель внутрибольничных инфекций.
<b><i>C. parapsilosis</i></b>	Может входить в состав микрофлоры пищеварительного тракта человека, обнаружен в полости рта, на коже, особенно на кончиках пальцев на участке под свободным краем ногтя. Гриб обнаруживают в засоленном мясе, овощах, в рассолах и приправах.	Вызывает заболевания ногтей (онихопатию). Кроме онихомикоза <i>C. parapsilosis</i> редко вызывает поверхностные микозы, но часто способствует появлению глубоких инвазивных и особенно диссеминированных форм кандидоза. <i>C. parapsilosis</i> ассоциируют также с ожогами и эндокардитами. В 7–10% случаев этот гриб ответственен за развитие гематогенного кандидоза.	Чаще всего экзогенный путь передачи грибковой инфекции, чему способствует загрязнение им растворов парентерального питания (глюкоза, глицерин, альбумин), катетеры, колонизированные биопленкой гриба, шприцы, искусственные клапаны, внутрисосудистые датчики, глазные капли и растворы.
<b><i>C. krusei</i></b>	Обнаруживают в пробах воздуха, кожи, фекалий людей и животных, пива и молочных продуктов. Входит в состав микрофлоры слизистых оболочек человека.	Вызывает диареи у новорожденных, а также системные заболевания. Может вызывать сепсис и диссеминированные инфекции, в том числе эндокардиты, кандидоз кожи редко вызывается <i>C. krusei</i> .	Инфекции, которые вызывает этот грибок эндогенные с предшествующей колонизацией слизистых оболочек. Описаны случаи внутрибольничного заражения. Как правило этот грибок устойчив к флуконазолу, однако некоторые штаммы обнаруживают к нему чувствительность, зависимость от дозы.

1	2	3	4
<b><i>C. guilliermondii</i></b>	Часто обнаруживают на нормальной коже человека и выделен из случаев эндокардита (после лекарственного наркоза), от женщин с предшествующим заболеванием вагины, сопровождающимся применением антибиотиков и от больных, которым проводили хирургические вмешательства. Выделен из мочи, а также из мокроты при инфекциях дыхательных путей, из случаев абсцессов мозга, а так же с ногтей. Редко колонизирует полость рта и кишечник. Может загрязнять продукты брожения, фруктовые соки, рыбу.	Редко вызывает инфекции слизистых оболочек, однако этот вид гриба довольно часто ассоциируют с инфекциями кожи и ногтей.	Преимущественно эндогенный. Однако описаны случаи ятрогенного инфицирования при заражении операционного поля и контаминации грибом парентеральных растворов. Этот гриб умеренно чувствителен к современным антимикотикам.
<b><i>C. kefyr</i></b>	Обнаруживают в зерне, сыре и молочных продуктах (отсюда название вида), у человека и других млекопитающих. Может заселять слизистые оболочки человека и животных. Имеются сведения об обнаружении гриба в случаях онихомикоза и отомикоза.	В редких случаях вызывает микозы у человека, в том числе сепсис, инвазивные заболевания, вагиниты, инфекции мочеиспускательного канала и ушей. Описаны случаи пневмонии, вызванные этим грибом.	Инфекции, вызываемые этим грибом считаются экзогенными.
<b><i>C. lusitaniae</i></b>	Может заселять слизистую оболочку пищеварительного тракта человека и животных. Невелика доля этого возбудителя в колонизации слизистых оболочек.	Выявлен при случаях сепсиса, особенно часто у больных с ослабленной иммунной системой при таких видах заболевания, как рак. Может вызывать инфекции мочеиспускательного канала. Описано 10 случаев глубокого и диссеминированного кандидоза с преобладанием гематогенной диссеминированной инфекции.	Инфекции, вызываемые этим грибом, преимущественно эндогенные. Описана и доказана возможность внутрибольничного инфицирования, а также передача от человека к человеку. Возбудитель нередко устойчив к амфотерицину В и чувствителен ко всем азоловым производным и флуцитозину.



## Заключение

В заключение изложенных в данных методических рекомендациях методов, с помощью которых выделенные от больных штаммы грибов рода *Candida* могут быть идентифицированы до вида, следует отметить, что выбор того или иного конкретного пути зависит от ряда факторов, таких как: уровень финансового положения лабораторий, их оснащённости и подготовленности персонала.

В первую очередь следует помнить, что выделение чистой культуры грибов рода *Candida* – необходимое условие для его первичной и последующей идентификации, что достигается использованием селективных питательных сред. Некоторые методы идентификации позволяют распознавать штаммы грибов за несколько часов (метод проростковой трубки), а в случае применения хромогенных сред – выделение первичной культуры сочетают с предварительной идентификацией. В этом случае нет необходимости затрачивать время на использование других идентификационных тестов.

Нередко использование классических и модифицированных современных методов и тест-систем, применяемых с целью идентификации грибов рода *Candida*, может способствовать получению значительного числа положительных находок.

В этой связи нам представляется, что очень наглядным примером сказанного выше может служить схема 1, представленная А.Ю.Сергеевым и Ю.В.Сергеевым в книге «Кандидоз» (Триада-Х, 2001), отражающая возможные пути микологической диагностической идентификации грибов *Candida* - возбудителей кандидозов.

На представленной схеме приведены основные направления, с помощью которых может быть осуществлена видовая идентификация первичной культуры неизвестного дрожжевого гриба до вида *C. albicans*.

По мнению авторов схемы, в неё включены несколько направлений такого идентификационного поиска. Все представленные в ней пути включают несколько тестов предварительной идентификации, направленных, в первую очередь, на быстрое выделение или исключение гриба *C. albicans*. Это связано с тем, что этот гриб является наиболее частым возбудителем различных форм кандидозной инфекции и характеризуется к тому же высокой чувствительностью ко многим антигрибковым препаратам, особенно к препаратам азоловой группы и амфотерицину В.

Направление, обеспечивающее быструю идентификацию *C. albicans* включает два теста: рост на хромогенных питательных средах и тест «проростковой трубки». Оба теста самые короткие. 1-2-этапный путь идентификации гриба *C. albicans*, а тест с использованием хромогенных сред включает как первичное выделение гриба, так и его быструю идентификацию до вида.

В случае же, если выделенный дрожжевой грибок не является *C. albicans*, то используют расширенные схемы идентификации, включающие тест ассимиляции углеводов, изучение морфологии гриба на специальных средах. При этом предварительно учитывается

устойчивость к ряду антимикотиков (например, устойчивость *C. glabrata* и *C. krusei* к флуконазолу). При отсутствии таких показателей обязательно следует определить его антимикотикограмму.

## Список литературы.

1. Кашкин П.Н., Шеклаков Н.Д., Руководство по медицинской микологии, М.: Медицина, 1975.
2. Лещенко В.М. Лабораторная диагностика грибковых заболеваний. М.: Медицина, 1982, стр. 112.
3. Саттон Д, Фотергилл А., Ринальди М., «Определитель патогенных и условно патогенных грибов», Москва, Мир, 2001.
4. Сергеев А.Ю. «Иммунитет при кандидозе». Иммунология, аллергология и инфектология, 1999, №1, стр. 91-99.
5. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Кандидоз. Природа инфекции, механизмы агрессии и защиты. Лабораторная диагностика, клиника и лечение. М.: Триада-Х, 2001, стр. 472.
6. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В., Кандидоз, природа инфекции, механизмы агрессии и защиты, лабораторная диагностика, клиника и лечение, М.: Триада-Х, 2000
7. Руководство по лабораторной диагностике ониомикозов (под редакцией Сергеева А.Ю.), М., ГЭОТАР, Медицина, 2000
8. Страчунский Л.С. и др. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии, 2002 г., стр. 283.
9. Aktas E., et al. Esterase activity in various *Candida* species. J. Intern Medical Research, 2002, p. 322-324.
10. Bodey G.P., Ed., Candidosis: pathogenesis, diagnosis and treatment. 2nd, ed. New York: Raven Press - 1993
11. Culture media and laboratory reagents. Pasteur Institute Production, PCB media, 1-st Edition 1979, p. 273-274.
12. Espinel-Ingroff A. Clinical relevance of antifungal resistance. Infect Dis Clin 1997, 11, 4, 929- 944
13. Espinel-Ingroff A. Susceptibility testing of yeasts and NCCLS standardized methods. Abstr. 13<sup>th</sup> ISHAM Congress. Parma, Italy, 1997: S51
14. Ester Segal, Damel Elad. Candidosis. Medical Micologi, Edital W.G. Merz w Roderick J.Hay ASM Press., 580-623 (From 10<sup>th</sup> Edition Topley Wilson's "Microbiology and Microbial. Infections")
15. Gadeal I, Cuenca M, Gegondez MI, Zapardiel J, Valero ML, Soriano F. Effect of pH and buffer system on the in-vitro activity of five antifungal against yeasts. J. Antimicrob Chemother. 1997 Apr 39, 4 453-9.
16. Huber B. *Candida albicans* secreted asparil proteases in *C. albicans* infections. Rev. Iberoum. 1998, № 15, p. 65-68.
17. Kremery V., Barnes A.J. 2002. Non *albicans* *Candida* spp. Cansing fungeemia pathogenecity and antifungal resistance. J. Hosp. Infect. 50, 243-260
18. Lautour B. et al. Comparative sensitivity study: Fungitest with M-27<sub>T</sub> – NCCLS refereable micro diluted method. E-test and Neo-sensitabs: Abstr. 4<sup>th</sup> ECMM meeting. –

- Glasgow, U.K., 1988, p.76.
19. Manns J.M., et al. Production of hemolytic factor by *Candida albicans*. *Infect. Immun.*, 1995, № 62, p. 5154-5156.
  20. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Proposed standard M27-P. Villanova, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1992
  21. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Tentative standard M27T. Villanova, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1995
  22. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard M27D. Villanova, Pa, National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
  23. Odds F.C., 1988, *Candida and candidosis*, 2<sup>nd</sup> edition. London: Bailliere Tindall
  24. Pfaller M., Rex J., Rinaldi M. Antifungal susceptibility testing, technical advances and potential clinical applications. *Clin. Infect. Dis.* 1997. 24. 776-784
  25. Reiss E., et. al. Non-culture based diagnostic test for mycotic infections, 2000, *Med. Mycol.*, 38, suppl. 1, p. 147-150.
  26. Repentighy L., et al. Characterization of binding of *Candida albicans* to small intestinal mucin and its role in adherence to mucosal epithelial cells. *Infect. Immun.*, 2000, № 68, p. 3172-3179.
  27. Rex J., Nelsom P., Paetznick V., Lozano-Chiu M., Espinel-Ingroff A., Anaissie E. Optimizing the correlation between results of testing in vitro and therapeutic outcome in vivo for fluconazole by testing critical isolates in a murine model of invasive candidiasis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1998, 42, 129-134.
  28. Rex J. et al. Quality control guidelines for National Committee for clinical Laboratory Standards recommended broth for macro dilution testing ketoconazole and itraconazole. *J. Clin. Microbiol.*, 1996, № 34, p. 816-817.
  29. Shawar R, Paetznick V, Witte Z, Ensign L.G, Anaissie E, LaRocco M. Collaborative investigation of broth microdilution and semisolid agar dilution for in vitro susceptibility testing of *Candida albicans*. *J. Clin. Microbiol.* 1992 Aug. 30, 8 1976-81.
  30. Sutton D.A., Fothergill A.W., Rinaldi M.G., *Guide to clinical significant fungi*. Baltimore: W&W – 1998, p.11-24
  31. Turin L., et. al. Fast simple highly sensitive double-rounded polymerase chain reaction assay to detect medically relevant dermatological specimen. *Eur. J. Clin. Invest.*, 30, p. 511-518.
  32. Wanger A, Mills K, Nelson PW, Rex J Comparison of Etest and National Committee for Clinical Laboratory Standards broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing: enhanced ability to detect amphotericin B-resistant *Candida* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1995 Nov 39: 2520-2.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Продукция компании **HiMedia Laboratories Pvt Ltd (Индия)**.

**Mueller Hinton Agar, Modified (as per CLSI for antifungal)**  
**Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI)**

**M1825R**

Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) рекомендуется для изучения чувствительности дрожжей и грибов к антимикотикам диско-диффузионным методом.

### Состав\*\*:

Ингредиенты:	грамм/литр
Мясной настой	300,00
Казеина кислотный гидролизат	17,50
Крахмал	1,00
Глюкоза	20,00
Метиленовый синий	0,0005
Агар-агар	17,00
pH (при 25°C) 7,3±0,1	

\*\* Состав выверен и доведен до соответствия необходимым параметрам

### Приготовление:

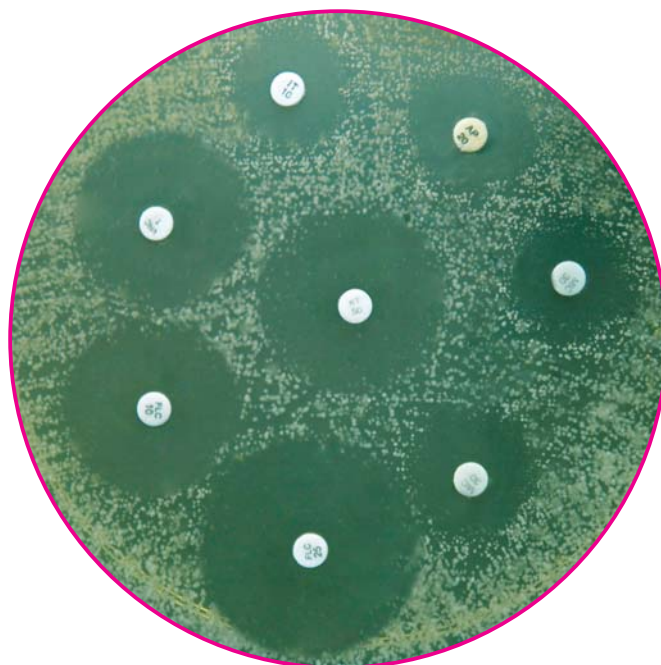
Размешать 58,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Довести до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при давлении 1,1 атм (121 C) в течение 15 мин. Тщательно перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Состав среды Мюллер и Хинтон был первоначально разработан как простая, прозрачная агаризованная среда для культивирования патогенных культур (1). Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) рекомендуется для диффузии антигрибковых агентов, которыми пропитаны бумажные диски, в агаровый гель, как описано в стандарте CLSI (2).

Kirby-Bauer рекомендовали агар Мюллер Хинтон для тестов определения чувствительности с использованием одного диска с высокой концентрацией (4). Комитет ВОЗ по стандартизации определения чувствительности принял агар Мюллер Хинтон для определения чувствительности микроорганизмов в связи с воспроизводимостью результатов тестирования на этой среде (3). Агар Мюллер Хинтон с добавлением 5% бараньей крови или гемоглобина был рекомендован для определения чувствительности *S.pneumoniae* и *H.influenzae*. Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) рекомендуется для изучения чувствительности дрожжей и грибов к антимикотикам диско-диффузионным методом.

Мясной настой и кислотный гидролизат казеина являются источником азотистых соединений, углерода, серы и других необходимых компонентов. Крахмал, коллоидный протектор, обеспечивает защиту от токсичных субстанций, выделяемых в среду микроорганизмами в процессе роста. Крахмал гидролизует, образуя декстрозу, являющуюся источником энергии, как и глюкоза. Метиленовый синий



Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) – M1825R

позволяет получить четкие границы зоны задержки роста.

### Методика:

#### Приготовление инокулома:

1. Взять суточную культуру (24 часа при  $35\pm 2^\circ\text{C}$ ), выращенную на среде Сабуро декстрозный агар (M063). Снять со среды пять колоний диаметром около 1 мм и суспензировать в 5 мл 0,85% NaCl.
2. Перемешать суспензию и довести ее плотность до 0,5 единиц McFarland ( $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6$  КОЕ).

#### Проведение исследования:

1. Приготовить чашки со средой Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI). Толщина слоя агара в чашках должна быть 4 мм.
2. Стерильным, не токсичным хлопковым тампоном на деревянной палочке нанести суспензию микроорганизмов штрихами на поверхность агара в трех направлениях (поворачивая чашку на  $60^\circ$ ). Оставить чашку с закрытой крышкой на 5 – 15 минут для подсушивания при комнатной температуре.
3. Разложить диски с антимикотиками на поверхность засеянного агара так, чтобы расстояние между центрами дисков было не менее 24 мм (не более 12 дисков на чашку диаметром 150 мм или не более 5 дисков на 100 мм чашку).



4. Перевернуть чашку вверх дном и поместить в термостат при  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  не позднее, чем через 15 минут после наложения дисков.
5. Достоверные результаты можно получить при образовании на чашках почти сливного роста культуры и равномерно круглых зон задержки роста. Если этого не наблюдается через 20 – 24 часа роста, то учитывать результаты нужно через 48 часов.

### Контроль качества:

#### Внешний вид порошка:

Гомогенный сыпучий порошок от желтого до светло-желтого цвета с легким голубоватым оттенком.

#### Плотность готовой среды:

Образуется среда, соответствующая по плотности 1,7%-ному агаровому гелю.

#### Цвет и прозрачность готовой среды:

После остывания до комнатной температуры среда прозрачна, опалесцирует и имеет янтарную окраску.

#### Кислотность среды:

При 25 С водный раствор (5,8% вес/об) имеет pH  $7,3 \pm 0,1$ .

### Культуральные свойства:

Наилучший рост указанных тест-культур был получен на среде Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI) при инкубации в течение 24-48 часов при  $33-37^\circ\text{C}$ , также как и образование зон задержки роста.

#### Культуры, применяемые для контроля качества дисков с антимикотиками:

1. *C. albicans* ATCC 90028\*
2. *C. parapsilosis* ATCC 22019\*
3. *C. tropicalis* ATCC 750\*
4. *C. krusei* ATCC 6258\*
5. *C. albicans* ATCC 10231
6. *S. cerevisiae* ATCC 9763

\* Контрольные культуры в соответствии со стандартом CLSA

### Интерпретация размеров зон задержки роста

№ по каталогу	Антимикотик	Символ	Содержание в диске (мкг)	Диаметр зоны (мм)			Контроль					
				R (мм) или менее	S-DD*	S (мм) или более	<i>C. albicans</i> ATCC 90028	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763
SD111	Амфотерицин В	AP	100 ЕД	–	–	–	10-17	11-20	8-12	9-14	10-18	11-18
SD233	Амфотерицин В	AP	20 мкг	–	–	–	10-15	10-17	8-10	8-12	10-16	8-12
SD270	Амфотерицин В	AP	50 мкг	–	–	–	12-15	13-17	13-17	14-20	15-23	16-25
SD115	Клотримазол	CC	10 мкг	–	–	–	18-32	16-30	10-20	14-24	12-18	17-25
SD114	Флюконазол	FU	10 мкг	–	–	–	27-38	22-33	16-25	–	18-22	–
SD232	Флюконазол	FU	25 мкг	14	15-18	19	28-39	22-33	26-37	–	25-30	–
SD221	Итраконазол	IT	10 мкг	–	–	–	16-20	11-18	8-13	8-15	18-22	–
SD276	Итраконазол	IT	30 мкг	–	–	–	18-22	20-24	11-18	8-15	18-22	–
SD224	Кетоконазол	КТ	10 мкг	–	–	–	20-32	14-29	17-28	10-14	18-22	–
SD275	Кетоконазол	КТ	30 мкг	–	–	–	32-36	26-32	26-32	19-26	31-40	–
SD274	Кетоконазол	КТ	50 мкг	–	–	–	37-45	36-44	27-34	19-26	31-40	–
SD273	Миконазол	MIC	30 мкг	–	–	–	22-26	13-17	14-20	19-26	20-27	20-28
SD272	Миконазол	MIC	50 мкг	–	–	–	26-32	23-29	14-20	19-26	20-27	20-28
SD025	Нистатин	NS	100 ЕД	–	–	–	19-27	16-25	16-21	15-20	15-23	17-25
SD271	Нистатин	NS	50 мкг	–	–	–	19-23	19-23	13-17	19-26	16-25	22-27
SD277	Вориконазол	VOR	1 мкг	13	14-16	17	31-42	28-37	–	16-25	30-40	29-38

S-DD\* - Дозозависимая

Красным цветом выделены результаты в соответствии со стандартом CLSA.

### Интерпретация размеров зон задержки роста при использовании ХайКомб МИК-теста

на среде Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI)

№ по каталогу	Антимикотик	Символ	Диапазон (мкг)	Критерии интерпретации для <i>Candida</i> spp			Контроль качества				
				S ≤	S-DD*	R ≥	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. tropicalis</i> ATCC 750	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. albicans</i> ATCC 90028
							Не исследовано				
MD071	Амфотерицин В	AP	A: 32-0.25 B: 0.256-0.002	Не исследовано			0.125-0.5	0.25-1	0.5-2	0.064-0.25	0.016-0.25
MD072	Флюконазол	FLC	A: 256-2 B: 2.048-0.016	8	16-32	64	0.125-0.5	1-8	–	4-16	0.5-8
MD073	Итраконазол	IT	A: 32-0.25 B: 0.256-0.002	0.12	0.25-0.5	1	0.064-0.25	0.064-0.25	0.25-1	0.032-1	0.016-0.25
MD074	Кетоконазол	КТ	A: 32-0.25 B: 0.256-0.002	Не исследовано			0.008-0.032	0.032-0.125	0.25-1	0.032-2	0.004-1

S-DD\* - Дозозависимая

Красным цветом выделены результаты в соответствии со стандартом CLSA

### Литература:

1. Mueller J. H. and Hinton J., 1941, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 48:330.
2. Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of yeasts; Approved Guideline Second Edition M44-A2 Vol.24 No.17.
3. Present Status and Future Work, WHO Sponsored

collaborative study, Chicago, Oct. 1967.

4. Bauer A. W., Kirby W. M., Sherris J. L. and Turck M., 1966, Am. J. Clin. Pathol., 45:493.

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже  $+30^\circ\text{C}$ . Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре  $+2 \dots 8^\circ\text{C}$ .

## Nutrient Agar No.2 / Nutrient Agar / Broth with 1% Peptone / Nutrient Agar, pH 6,0 with 0,8% NaCl

M1269 / M012 / M244 / M090

## Питательный агар N2 / Питательный агар с 1% пептона / Питательный бульон с 1% пептона / Питательный агар с 0,8% хлорида натрия и pH 6,0

Среды являются питательными средами общего назначения.

Ингредиенты	M1269 грамм/ литр	M012 грамм/ литр	M244 грамм/ литр	M090 грамм/ литр
Пептический перевар животной ткани	10,00	10,00	10,00	5,00
Мясной экстракт	10,00	5,00	10,00	5,00
Натрия хлорид	5,00	5,00	5,00	8,00
Агар-агар	15,00	15,00	—	—
Конечное значение pH (при 25°C)	7,2 ± 0,2	7,4 ± 0,2	7,4 ± 0,2	6,0 ± 0,2

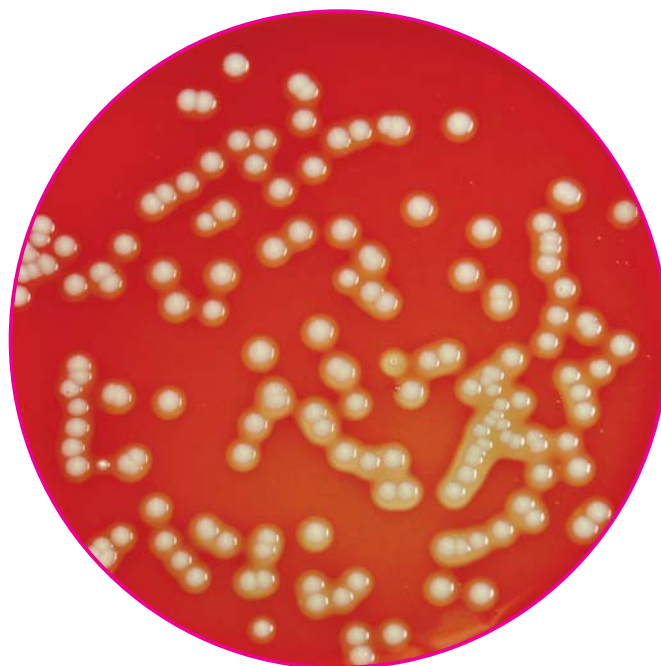
### Приготовление:

Разместить 40,0 г порошка M1269 или 35,0 г порошка M012 или 25,0 г порошка M244 или 31,0 г порошка M090 в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

### Принцип и оценка результата:

Питательный агар или бульон являются средами общего назначения, которые используют для проведения стандартных микробиологических исследований воды и молочных продуктов. Питательный агар 2, в соответствии с чешскими стандартами, используют для анализа воды. Его можно также использовать для культивирования некоторых менее притязательных микроорганизмов. В одном из стандартов для приготовления питательного агара предложено использовать вместо мясного настоя мясной экстракт. Питательный агар с 0,8% хлорида натрия и pH 6,0 используют для культивирования бактерий, имеющих потребность в более низких значениях pH. Данные среды можно использовать в качестве основы для приготовления обогащенных сред, вводя в их состав 10% крови, асцитическую жидкость, сыворотку и другие биологические жидкости.

Пептический перевар животной ткани и мясной экстракт обеспечивают присутствие в среде соединений азота, углерода, витаминов и некоторых микроэлементов, необходимых для роста таких неприхотливых организмов, как *Bacillus subtilis* и *Staphylococcus aureus*. Хлорид натрия



Питательный агар с 1% пептона (M012)  
*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

обеспечивает оптимальное осмотическое давление среды.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 35-37°C на среде M012.

Штаммы микроорганизмов крови (ATCC)	Рост без кровью	Рост с кровью	Гемолиз
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	Обильный	Бета
<i>Neisseria meningitidis</i> (13090)	Хороший	Обильный	Отсутствует
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6303)	Хороший	Обильный	Альфа
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	Хороший	Обильный	Бета

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Endo Agar Агар Эндо

M029R

Среда рекомендуется для выделения и дифференциации грамотрицательных микроорганизмов кишечной группы.

Ингредиенты	грамм/литр
Пептический перевар животной ткани	15,00
Лактоза	12,90
Натрия хлорид	3,60
Калия гидрофосфат	0,48
Калия дигидрофосфат	0,22
Натрия сульфит	1,86
Натрия лаурилсульфат	0,01
Фуксин основной	0,83
Агар-агар	9,60
Конечное значение pH (при 25°C)	7,5 ± 0,2

### Приготовление:

Разместить 41,5 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Перед розливом в чашки тщательно перемешать.

### Принцип и оценка результата:

Эта среда разработана Endo как культуральная среда для дифференциации микроорганизмов, ферментирующих и неферментирующих лактозу, которая в дальнейшем доведена до современного состава. Она используется для

микробиологического исследования воды, стоков, молочных и других пищевых продуктов.

Сульфит натрия и основной фуксин обладают подавляющим эффектом на грамположительные микроорганизмы. Лактоза разлагается микроорганизмами до альдегида и кислоты. Альдегид в свою очередь освобождает фуксин из фуксин-сульфитного комплекса, усиливая красное окрашивание колоний. У кишечных палочек эта реакция очень выражена и сопровождается кристаллизацией фуксина, что проявляется зеленоватым металлическим блеском (фуксиновый глянец) колоний.

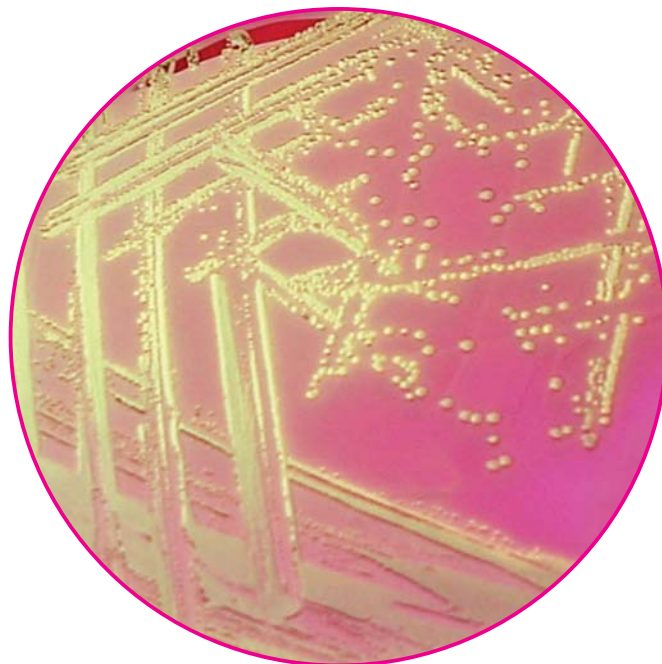
#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-24 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Вид колоний
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	Обильный	Розовые слизистые
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	Розовато-красные с металлическим блеском
<i>Salmonella typhi</i> (6539)	Обильный	Бесцветные или озовые
<i>Shigella sonnei</i> (25931)	Обильный	Бесцветные или розоватые
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13883)	Обильный	Розовые слизистые
<i>Proteus vulgaris</i> (13315)		Бесцветные или розоватые
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	Обильный	Бесцветные неровные
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Слабый или отсутствует	Розовые мелкие
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	—

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C.



Агар Эндо (M029R)  
*Escherichia coli* (ATCC 25922)

Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C в темноте (для предотвращения окисления на свету).

## Sabouraud Chloramphenicol / Dextrose Agar

M1067 / M063

## Агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом / Агар Сабуро с глюкозой

Агар Сабуро с хлорамфениколом рекомендуют для селективного культивирования дрожжевых и плесневых грибов, а Агар Сабуро с глюкозой используют также для культивирования кислотолюбивых бактерий.

Ингредиенты	M1067	M063
	грамм/литр	грамм/литр
Микологический пептон	—	10,00
Гидролизат казеина	5,00	—
Пептический перевар животной ткани	5,00	—
Глюкоза	40,00	40,00
Хлорамфеникол	0,05	—
Агар-агар	15,00	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 5,6 ± 0,2

#### Приготовление:

Размешать 65,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

#### Принцип и оценка результата:

Агар Сабуро с глюкозой является модификацией прописи, предложенной Sabouraud для культивирования грибов, в частности тех, которые связаны с инфекциями кожи. Агар Сабуро с глюкозой рекомендован американской Фармакопеей для теста на присутствие микроорганизмов. Для выделения патогенных грибов из материалов, обильно загрязненных грибами или бактериями, в эту среду



Агар Сабуро с глюкозой и хлорамфениколом (M1067)  
*Candida albicans* ATCC 10231



часто добавляют антибиотики, например, хлорамфеникол.

Микологический пептон, гидролизат казеина и пептический перевар животной ткани служат источником необходимых питательных веществ для роста. Глюкоза является источником энергии. Хлорамфеникол подавляет рост широкого спектра грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, придавая среде селективность в отношении грибов. Низкое значение pH способствует росту грибов и подавляет рост бактерий, контаминирующих клинический материал. Поскольку некоторые патогенные грибы могут образовывать легко увлекаемые воздушными потоками споры, для профилактики лабораторных заражений исследования рекомендуется проводить в ламинарном боксе.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 48-72 при 30°C.

#### Штаммы микроорганизмов (ATCC)

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Aspergillus niger</i> (16404)	Обильный
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный
<i>Trichophyton rubrum</i> (28191)	Обильный
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (9763)	Обильный
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный*
<i>Lactobacillus casei</i> (9595)	Обильный

Примечание: \* = подавляется на среде с низким значением pH

### Условия и сроки хранения:

Порошок M063 хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Blood Agar Base Основа кровяного агара

M073

Среду после добавления крови можно использовать для выделения и культивирования притязательных микроорганизмов, в том числе таких возбудителей инфекций, как стрептококки и нейссерии.

Ингредиенты	грамм/литр
Настой говяжьего сердца	500,00
Триптоза	10,00
Натрия хлорид	5,00
Агар-агар	15,00

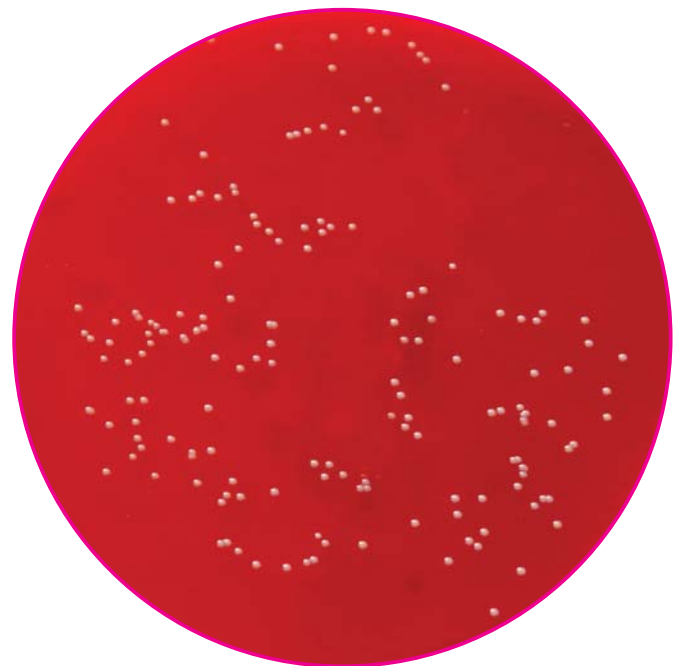
Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 40,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и асептично внести до 5% стерильную дефибринированную кровь. Тщательно перемешать и разлить среду в чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Эта среда с настоем сердца используется в качестве основы для приготовления кровяного агара. Основа M073 высокопитательна и может использоваться без добавления крови в качестве среды общего назначения. Так, ее применяли для исследования облученных клеток *Escherichia coli*, фагов *Clostridium perfringens*. Ее можно использовать для изучения фосфатазы стафилококков, после добавления соли и агара – для оценки микробной контаминации оборудования и свиных туш или определения галотолерантности морских флавобактерий. Эту среду применяли для получения антигенов *Salmonella typhi*. Ее можно обогатить внесением крови или сыворотки. После добавления крови она подходит для определения гемолитических реакций, но результат зависит от видовой принадлежности крови. Так, баранья кровь дает наилучшие результаты для тестирования стрептококков группы А. При использовании лошадиной крови колонии *Haemophilus haemolyticus* дают гемолиз, как и колонии *Streptococcus pyogenes*. Norton установил, что слабощелочные значения pH (6,8 ± 0,2) помогают различать гемолитические реакции и способствуют росту на данной среде пневмококков и других стрептококков. Низкие значения pH помогают стабилизировать эритроциты, в результате чего формируются четкие зоны гемолиза.



Основа кровяного агара (M073)  
*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 35-37°C.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Основа	Кровяной агар	Гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> (13090)	Обильный	Обильный	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	Обильный	Бета
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Обильный	Обильный	—
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6303)	Средний или хороший	Обильный	Альфа
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	Средний или хороший	Обильный	Бета

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



## Mannitol Salt Agar Солевой агар с маннитом

M118

Среду используют в качестве селективной и дифференциальной для выделения клинически значимых культур стафилококков.

Ингредиенты	грамм/литр
Протеозопептон	10,00
Мясной экстракт	1,00
Натрия хлорид	75,00
D-Маннит	10,00
Феноловый красный	0,025
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,4 ± 0,2

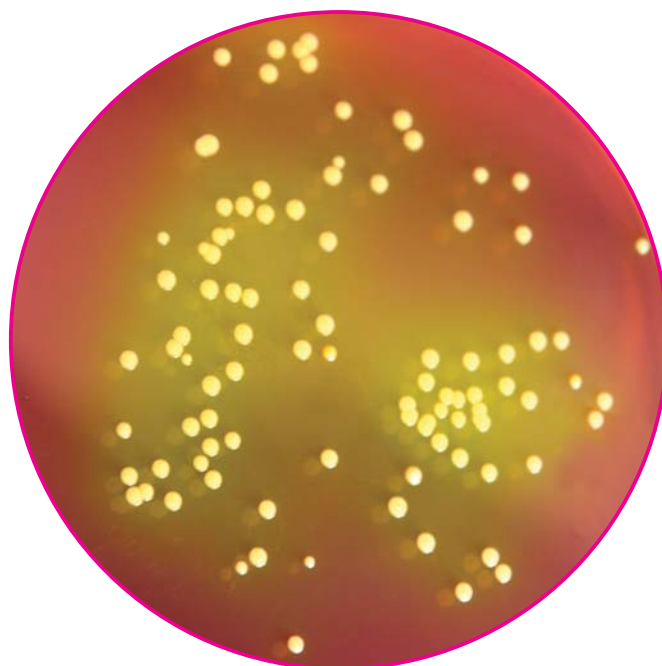
### Приготовление:

Размешать 111,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. При желании к среде можно добавить (до 5% об/об) эмульсию яичного желтка (FD045). Тщательно перемешать и разлить в соответствующие емкости.

### Принцип и оценка результата:

Среду готовят в соответствии с прописью Чэпмена и используют в качестве селективной для выделения клинически значимых культур стафилококков, рекомендуют для определения и подсчета коагулазоотрицательных стафилококков в молоке, пищевых продуктах и другом материале. Для оценки микробной обсемененности материалов использование этой среды регламентируется американской Фармакопеей.

Среда содержит протеозопептон и мясной экстракт, что делает ее очень питательной ввиду содержания необходимых ростовых факторов. Вместе с тем рост бактерий, кроме стафилококков, подавляется высокой концентрацией (7,5%) хлорида натрия. Маннит является ферментируемым и дифференцирующим субстратом, а также источником углерода. Штаммы *Staphylococcus aureus*, вырастающие на этой среде, ферментируют маннит и образуют желтые колонии, окруженные зоной пожелтения среды. Большинство коагулазоотрицательных стафилококков и микрококков не ферментируют маннит и растут, образуя мелкие красные колонии, окруженные красной или лиловой зоной. Цвет среды и колоний определяется реакцией индикатора фенолового красного, который при pH 8,4 имеет красный, а при pH 6,8 – желтый цвет. В случае добавления (до 5% об/об) эмульсию яичного желтка (FD045) на среде можно определять не только ферментацию маннита, но и липазную активность



Солевой агар с маннитом (M118)  
*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

микроорганизмов. Эмульсия в солевой среде становится прозрачной, поэтому при наличии липазной активности вокруг колоний формируется желтая непрозрачная зона. Колонии предположительно коагулазоотрицательных стафилококков окружены яркими желтыми зонами, тогда как колонии непатогенных стафилококков образуют колонии с красновато-лиловыми зонами.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Хороший или обильный	Желтые
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Средний или хороший	Красные
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	—

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Rogosa SL Agar Агар SL для лактобактерий

M130

Агар используют в качестве селективной среды для выращивания лактобактерий орального и фекального происхождения.

Ингредиенты	грамм/литр
Триптоза	10,00
Гидролизат казеина	—
Дрожжевой экстракт	5,00
Глюкоза	10,00
Арабиноза	5,00

Сахароза	5,00
Натрия ацетат	15,00
Аммония цитрат	2,00
Калия дигидрофосфат	6,00
Магния сульфат	0,57
Марганца сульфат	0,12
Железа сульфат	0,03
Твин-80	1,00
Агар-агар	15,00
Конечное значение pH (при 25°C)	5,4 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 75,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Добавить 1,32 мл ледяной уксусной кислоты. Тщательно перемешать и разлить в культуральные пробирки или флаконы. Прогреть при 90-100°C в течение 2-3 минут. Остудить до 45°C для прямого посева. НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ СРЕДУ.

### Принцип и оценка результата:

Эти среды являются модификациями сред, описанных Rogosa и соавт. Они дают прекрасные результаты при качественных и количественных исследованиях на лактобактерии фекалий, физиологического раствора или молочных продуктов.

Триптоза или гидролизат казеина и дрожжевой экстракт обеспечивают присутствие азотистых веществ, витаминов группы В и микроэлементов, необходимых для роста лактобактерий. Глюкоза, арабиноза и сахароза являются ферментируемыми углеводами. Твин-80 источник жирных кислот.

Аммония цитрат и натрия ацетат подавляют рост плесневых грибов, стрептококков и многих других микроорганизмов. Низкое значение рН и добавление уксусной кислоты подавляет рост сопутствующей микрофлоры, делая среду селективной для лактобактерий.

Чашки со средой рекомендуется инкубировать при 30°C в течение 5 дней или при 37°C в течение 3 дней в атмосфере 95% водорода и 5% углекислого газа. Если это невозможно, то перед инкубированием чашки рекомендуется залить вторым слоем агара. Высокая концентрация ацетата и кислое значение рН подавляют рост многих штаммов других молочнокислых бактерий. Для последующей идентификации все колонии рекомендуется проверять в пробе на каталазу и путем микроскопии окрашенных по Граму мазков.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 40-48 ч при 35-37°C



Агар SL для лактобактерий (M130)  
*Lactobacillus leichmanii* (ATCC 4797)

в атмосфере 95% водорода и 5% углекислого газа.

### Штаммы микроорганизмов (ATCC)

*Lactobacillus casei* (9595)  
*Lactobacillus fermentum* (9338)  
*Lactobacillus leichmanii* (4797)  
*Lactobacillus plantarum* (8014)  
*Staphylococcus aureus* (25923)

### Рост

Хороший или обильный  
Хороший или обильный  
Хороший или обильный  
Хороший или обильный  
Подавляется

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +8°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить не рекомендуется.

## Columbia Blood Agar Base Основа колумбийского кровяного агара

M144

Среда используется в качестве эффективной основы для приготовления кровяного, шоколадного агаров, а также различных селективных и дифференциальных сред.

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон (специальный)	23,00
Крахмал кукурузный	1,00
Натрия хлорид	5,00
Агар-агар	15,00

Конечное значение рН (при 25°C) 7,3 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 44,0 г порошка M144 в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 40-50°C и асептично внести указанные ниже термочувствительные ингредиенты.

Для приготовления *кровяного* агара: стерильную дефибринированную кровь барана (до 5% об/об).

Для приготовления *шоколадного* агара: стерильную дефибринированную кровь барана (до 10% об/об), прогреть при 80°C в течение 10 мин при постоянном помешивании.

Тщательно перемешать и разлить среду в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Эту среду разработали Ellner и соавт. Присутствие специального пептона обеспечивает быстрый и обильный рост на ней даже прихотливых микроорганизмов. Кроме того, на ней вырастают типичные колонии, лучше проявляется пигментообразование и более четкие гемолитические реакции. Колумбийский агар используют для приготовления кровяных и селективных сред с различными сочетаниями антибиотиков.

Кукурузный крахмал служит источником энергии и одновременно нейтрализует токсические метаболиты. Баранья кровь позволяет оценить способность микробов к

гемолизу и обеспечивает их гемином (X фактором), который необходим для роста многих бактерий. Вместе с тем в среде нет фактора V (никотинамидадениндинуклеотида), поэтому *Haemophilus influenzae*, имеющие потребность в обоих факторах (X и V), на этой среде расти не будут. Ввиду относительно высокого содержания углеводных компонентов бета-гемолитические стрептококки могут давать на этой среде зеленоватые зоны гемолиза, которые можно ошибочно принять за альфа-гемолиз. В этой связи для подтверждения требуется проведение дополнительных тестов.

#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 40-48 ч при 35-37°C.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> (13090)	Обильный	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	Бета или гамма
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Обильный	Гамма
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6303)	Обильный	Альфа
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	Обильный	Бета

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Основа колумбийского кровяного агара (M144)  
*Streptococcus pyogenes* (ATCC 19615)

## Corn Meal Agar Кукурузный агар

M146

Среда применяется для получения хламидоспор у грибов *Candida albicans* и хранения культур грибов.

Ингредиенты	грамм/литр
Настой кукурузной муки	50,00
Агар-агар	15,00
Конечное значение pH (при 25°C)	6,0 ± 0,2

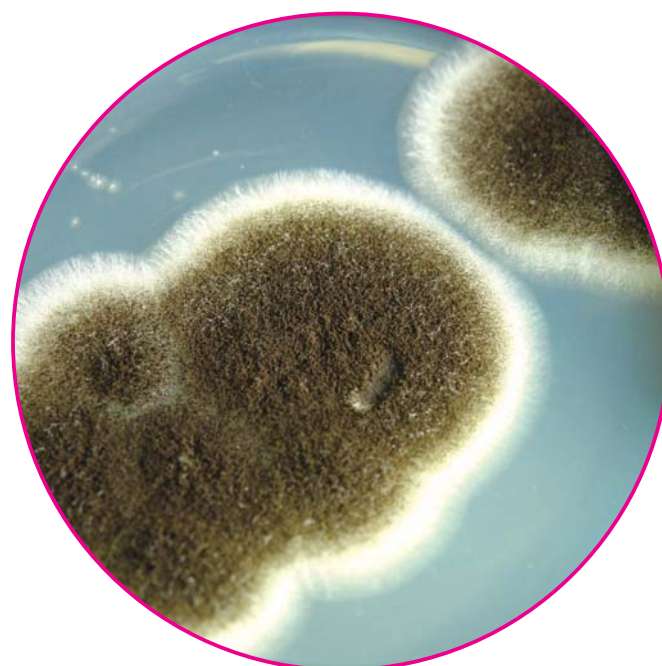
#### Приготовление:

Размешать 17,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. При необходимости добавить в среду твин-80 (до 1%). Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

#### Принцип и оценка результата:

Кукурузный агар является основной средой и используются для получения хламидоспор у грибов *Candida albicans* и культивирования грибов. Кукурузный агар с глюкозой используют для культивирования широко распространенных, в том числе фитопатогенных, грибов. Pollak и Benham нашли эту среду полезной для изучения морфологии грибов Кандида. Walker и Huppert модифицировали ее путем добавления твина-80, который стимулирует быстрое и полное формирование хламидоспору *Candida albicans*.

Это очень простая пропись, включающая только настой кукурузной муки и агар. Тем не менее настой содержит достаточное количество питательных веществ для роста грибов. Добавление глюкозы способствует более обильному росту некоторых грибов. Твин-80 является смесью сложных жирных эфиров, которые активируют образование хламидоспор у *Candida albicans*, *Candida stellatoidea* и *Candida tropicalis*. Некоторые виды грибов Кандида при субкультивировании утрачивают способность к образованию хламидоспор. Кукурузный агар с глюкозой не рекомендуется использовать для определения хламидоспор.



Кукурузный агар (M146)  
*Aspergillus niger* (ATCC 16404)

#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов в течение 4 дней при 25°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Хламидоспоры
<i>Aspergillus niger</i> (16404)	Обильный	—
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный	+
<i>Sacharomyces uvarum</i> (9080)	Обильный	—
<i>Sacharomyces cerevisiae</i> (9763)	Обильный	—

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Агар Никкерсона используют для обнаружения, селективного выделения, дифференциации и предварительной идентификации грибов *Candida albicans* и *Candida tropicalis*.

Ингредиенты	грамм/литр
Дрожжевой экстракт	1,00
Глицин	10,00
Глюкоза	10,00
Висмута аммонийного цитрат	5,00
Натрия сульфит	3,00
Агар-агар	16,00

Конечное значение pH (при 25°C) 6,8 ± 0,2

#### Приготовление:

Размешать 45,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ И НЕ ПЕРЕГРЕВАТЬ, так как это может вести к исчезновению селективных свойств среды. Перед внесением в чашки Петри размешать образовавшийся в емкости хлопьевидный преципитат круговыми движениями.

#### Принцип и оценка результата:

Среда разработана Nickerson, а затем модифицирована Naley для изучения способности восстанавливать сульфит. Цитрат аммонийного висмута в сочетании с сульфитом натрия обеспечивают селекцию грибов *Candida*, подавляя бактериальный рост. В то же время они являются дифференцирующим субстратом, поскольку сульфит висмута помогает при первичной идентификации культур *Candida*. Дрожжевой экстракт, глюкоза и глицин служат источником питательных веществ.

Среду можно засеивать непосредственно клиническим материалом, например, тканями, чешуйками кожи, кусочками ногтей и т.д. Не рекомендуется использовать скошенную среду. При розливе в чашки преципитат должен быть равномерно распределен в среде.

#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 30°C.



Висмут-сульфит-глюкозо-глицино-дрожжевой агар  
(Среда Никкерсона) (M217)  
*Candida tropicalis* (ATCC 750)

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Морфология колоний
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный	Гладкие, круглые, без блеска, коричнево-черные, без диффузии
<i>Candida tropicalis</i> (750)	Обильный	Гладкие, блестящие, темно-коричневые с черным центром, через 72 ч дают диффузию почернения
<i>Candida krusei</i> (24408)	Обильный	Большие, плоские, морщинистые, коричневые или черные с коричневой периферией, с желтым венчиком
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Подавляется	—
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Подавляется	—

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Schaedler Agar Агар Шадлера

M291

Среду используют для подсчета различных аэробных и анаэробных бактерий в желудочно-кишечном тракте.

Ингредиенты	грамм/литр
Гидролизат казеина	5,67
Протеозопептон	5,00
Папаиновый перевар соевой муки	1,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Глюкоза	5,83
Натрия хлорид	1,67
Калия гидрофосфат	0,83
Трис (гидроксиэтилметиламинометан)	3,00
L-Цистин	0,40

Гемин	0,01
Агар-агар	15,00
Конечное значение pH (при 25°C)	7,6 ± 0,2

#### Приготовление:

Размешать 43,41 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить с частым помешиванием для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить и асептично добавить (до 5% об/об) стерильной дефибрированной крови (при необходимости). Перед розливом среду



тщательно перемешать. Избегать перегрева среды или ее окисления на свету, так как это приводит к задержке роста бактерий.

#### Принцип и оценка результата:

Среда разработана Schaedler и соавт., а затем модифицирована Mata и соавт. для подсчета различных аэробных и анаэробных микроорганизмов.

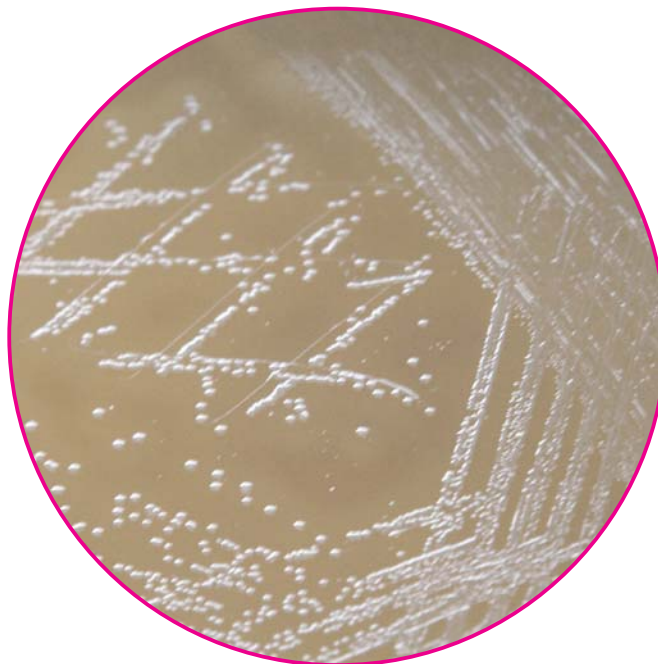
Агар Шадлера с витамином K1 и 5% бараньей крови используется для выделения таких прихотливых анаэробов, как бактероиды. При добавлении 5% бараньей крови, колистина и налидиксовой кислоты этот агар используют для селективного выделения грамположительных анаэробных кокков пептококков и пептострептококков. Введение в ту же среду других антибиотиков – канамицина и ванкомицина – позволяет селективно выделять грамотрицательные анаэробы.

Данная среда является прекрасной основой, в которую для выделения прихотливых анаэробных бактерий можно добавлять кровь или другие обогатительные добавки.

Комбинация гидролизата казеина, протеозопептона, папаинового перевара соевой муки, дрожжевого экстракта и L-цистина обеспечивает присутствие азотистых питательных веществ, витаминов и других факторов, необходимых для роста микроорганизмов. Глюкоза является источником энергии. Гемин и витамин K стимулируют рост прихотливых микроорганизмов. Витамин K1 позволяет выращивать *Prevotella (Bacteroides) melaninogenicus*, *Bacteroides* spp. и стимулирует рост спорообразующих грамположительных бактерий. Антикоагулянт полианетолсульфонат натрия (SPS), помещенный в культуральные флаконы, способствует выделению гемокультур. Он подавляет фагоцитоз и нейтрализует антимикробную активность компонентов свежей крови.

#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-48 ч при 35°C.



**Агар Шадлера (M291)**  
*Clostridium perfringens* (ATCC 12924)

#### Штаммы микроорганизмов (ATCC)

*Bacteroides fragilis* (25285)  
*Clostridium butyricum* (9690)  
*Clostridium perfringens* (12924)  
*Clostridium sporogenes* (11437)  
*Streptococcus pyogenes* (19615)  
*Escherichia coli* (25922)

#### Рост

Обильный  
Обильный  
Обильный  
Обильный  
Обильный  
Подавляется

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Bile Esculin Azide Agar Желчно-эскулиновый агар с азидом натрия

M493

Среда является селективной и используется для выделения и предварительной идентификации фекальных стрептококков (энтерококков).

Ингредиенты	грамм/литр
Гидролизат казеина	17,00
Протеозопептон	3,00
Мясной экстракт	5,00
Oxgall	10,00
Натрия хлорид	5,00
Эскулин	1,00
Железа аммонийного цитрат	0,50
Натрия азид	0,15
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,1 ± 0,2

#### Приготовление:

Размешать 56,65 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

#### Принцип и оценка результата:

Вначале Swan разработал желчно-эскулиновый агар, который в дальнейшем оценивали и модифицировали другие исследователи. С небольшими изменениями он рекомендован комитетом ISO. Эти среды являются селективными для стрептококков группы Д и обеспечивают их быстрый рост.

Среда высокопитательна, поскольку содержит гидролизат казеина, пептический перевар животной ткани, протеозопептон, дрожжевой экстракт и мясной экстракт. Азид натрия подавляет рост грамотрицательных микроорганизмов, но позволяет расти фекальным стрептококкам. Гидролиз эскулина и толерантность к желчи позволяют выделять и идентифицировать стрептококки группы D в течение 24 часов.

#### Культуральные свойства:

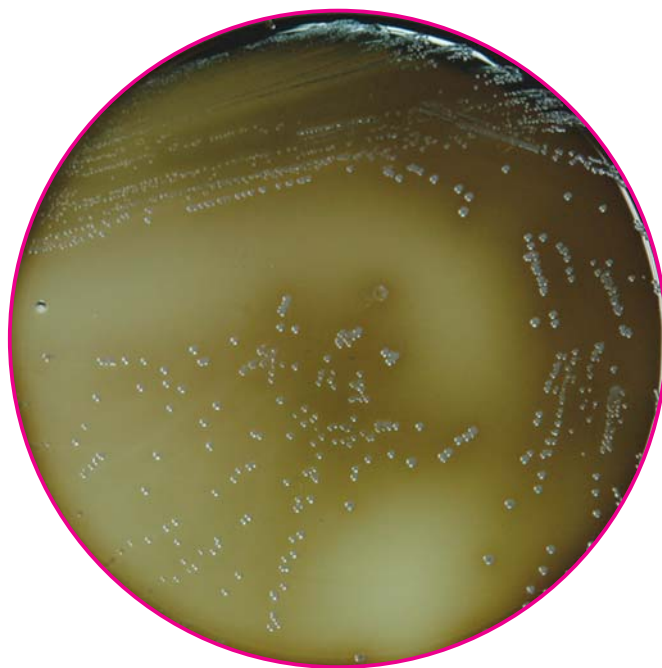
Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-24 ч при 35-37°C.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гидролиз эскулина
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Обильный	+
<i>Streptococcus bovis</i> (27960)	Обильный	+
<i>Proteus mirabilis</i> (25933)	Обильный	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Хороший	—
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	Слабый или отсутствует	—

Примечание: + почернение среды;  
— цвет не изменен

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Желчно-эскулиновый агар с азидом натрия (M493)  
*Enterococcus faecalis* (ATCC 29212)

## Lactobacillus MRS Agar Агар МРС (Ман, Рогоза, Шарп)

M641

Среда рекомендуется для выделения и культивирования лактобактерий.

Ингредиенты	грамм/литр
Протеозопептон	10,00
Мясной экстракт	10,00
Дрожжевой экстракт	5,00
Глюкоза	20,00
Твин-80	1,00
Аммония цитрат	2,00
Натрия ацетат	5,00
Магния сульфат	0,10
Марганца сульфат	0,05
Натрия гидрофосфат	2,00
Агар-агар	12,00

Конечное значение pH (при 25°C) 6,5 ± 0,2

#### Приготовление:

Размешать 67,15 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Разлить в пробирки или флаконы. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

#### Принцип и оценка результата:

Эта среда дается по прописи deMan, Rogosa и Sharpe с небольшой модификацией. На ней обильно растут лактобактерии из ротовой полости, молочных продуктов, других пищевых продуктов, фекалий и другого материала.

Протеозопептон и мясной экстракт являются источником необходимых питательных веществ, глюкоза — ферментируемым субстратом и источником энергии. Дрожжевой экстракт обеспечивает витаминами группы В. Твин-80 является источником жирных кислот, необходимых для роста лактобактерий. Ацетат натрия и цитрат аммония подавляют рост стрептококков, плесневых грибов и многих других микроорганизмов.

#### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-24 ч при 35°C.



Агар МРС (Ман, Рогоза, Шарп) (M641)  
*Lactobacillus leichmannii* (ATCC 7830)

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Lactobacillus fermentum</i> (9338)	Обильный
<i>Lactobacillus leichmannii</i> (7830)	Обильный
<i>Lactobacillus plantarum</i> (8014)	Обильный

#### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +8°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Bacteroides Bile Esculin Agar (BBE) Агар для бактероидов с желчью и эскулином

M805

Среда используется для селективного выделения, идентификации и культивирования микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis*.

Ингредиенты	грамм/литр
Гидролизат казеина	15,00
Папаиновый перевар соевой муки	5,00
Натрия хлорид	5,00
Oxgall	20,00
Эскулин	1,00
Железа аммонийного цитрат	0,50
Гемин	0,01
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,0 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 61,51 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Подогреть до кипения для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 45-50°C, асептично добавить регидратированное содержимое пузырька с селективной добавкой для бактероидов (FD062). Тщательно перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Этот агар разработан Livingston, Kominos и Yee, как среда для первичного выделения и предварительной идентификации микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis*. Он содержит такие высокопитательные компоненты, как гидролизат казеина, пептический перевар соевой муки и гемин, которые поддерживают рост бактероидов и других прихотливых анаэробных микроорганизмов.

Компонент Oxgall подавляет рост почти всех анаэробных грамотрицательных бактерий, кроме *Bacteroides fragilis*. Гентамицин подавляет рост большинства микроорганизмов, кроме эскулинположительных бактероидов, которые могут быть также толерантны к действию желчи. Для подавления роста микроорганизмов группы *Bacteroides fragilis* требуется не менее 80 мкг/мл гентамицина. При гидролизе эскулина образуется эскулетин и глюкоза. Эскулетин образует с солями железа (например, цитратом аммонийного железа) комплексные соединения коричневого или черного цвета.



Агар для бактероидов с желчью и эскулином (M805)  
*Bacteroides fragilis* (ATCC 25285)

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 40-48 ч при 35°C в анаэробных условиях.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Гидролиз эскулина
<i>Bacteroides fragilis</i> (25285)	Хороший или обильный	+
<i>Bacteroides vulgatus</i> (8482)	Хороший или обильный	—
<i>Proteus mirabilis</i> (12453)	Слабый или отсутствует	—
<i>Clostridium perfringens</i> (13124)	Подавляется	—

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...+8°C.

## Bifidobacterium Broth Бульон для бифидобактерий

M1395

Бульон применяется для культивирования *B. Infantis*.

Ингредиенты:	Грамм/литр
Глюкоза	20,00
Казеина гидролизат ферментативный	20,00
Дрожжевой экстракт	10,00
Пептический перевар животной ткани	10,00
Томатный сок, порошок	16,65
Твин-80	2,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 78,65 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить до полного растворения компонентов среды. Разлить в соответствующие емкости. Стерилизовать автоклавированием при 110°C в течение 30 мин.



### Принцип и интерпретация:

Бульон для бифидобактерий рекомендован ATCC и Atlas как среда культивирования для *B. Infantis*.

Среда содержит необходимые ростовые вещества, глюкозу, как источник энергии. Томатный сок помогает установить кислую pH, в то время как твин-80 предоставляет жирные кислоты, необходимые для метаболической активности бифидобактерий.

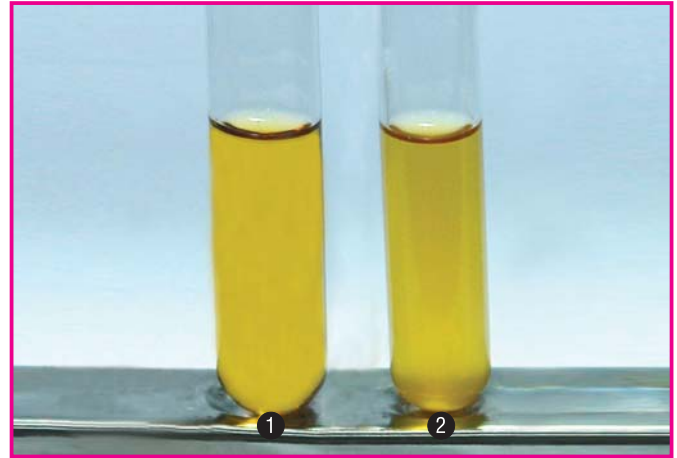
### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов после 24-48 часов роста при 37°C

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Bifidobacterium infantis</i> (25962)	хороший обильный

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



Бульон для бифидобактерий (M1395)

1. Control
2. *Bifidobacterium infantis* (ATCC 25962)

## Bifidobacterium Agar Агар для бифидобактерий

M1396

Агар для бифидобактерий используется для культивирования и сохранения многочисленных видов бифидобактерий.

Ингредиенты:	Грамм/литр
Пептон специальный	23,00
Натрия хлорид	5,00
Глюкоза	5,00
Крахмал водорастворимый	1,00
L-Цистеин гидрохлорид	0,30
Агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,3 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 49,3 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить до полного растворения компонентов среды. Разлить в пробирки или флаконы и автоклавировать при 1 атм (121°C) в течении 15 мин.

### Принцип и интерпретация результатов:

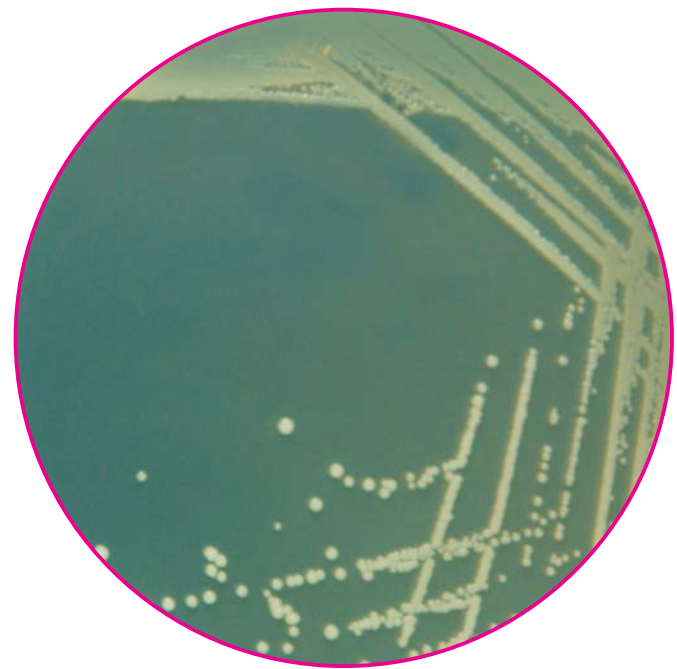
Агар для бифидобактерий рекомендован ATCC и Atlas как среда для культивирования и сохранения различных видов *Bifidobacterium*.

Специальный пептон является богатым источником азота. Крахмал предохраняет микроорганизмы от токсичных продуктов метаболизма, образующихся в среде. Глюкоза используется как источник энергии, хлористый натрий поддерживает изотоническое равновесие. Цистин помогает создать необходимые условия, требуемые для роста бифидобактерий.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов после 24-48 часов роста при 37°C

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост
<i>Bifidobacterium breve</i> (15698)	хороший-обильный
<i>Bifidobacterium infantis</i> (25962)	хороший-обильный
<i>Bifidobacterium bifidum</i> (15696)	хороший-обильный



Агар для бифидобактерий (M1396)

*Bifidobacterium bifidum* (ATCC 15696)

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +30°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



## HiCrome Candida Agar (HiCrome Candida Differential Agar) ХайХром селективный агар для грибов Candida

M1297A

Хромогенная среда рекомендуется для быстрого выделения и идентификации грибов *Candida* из смешанных культур.

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон специальный	15,00
Дрожжевой экстракт	4,00
Калия гидрофосфат	1,00
Хромогенная смесь	7,22
Хлорамфеникол	0,50
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 6,3 ± 0.2

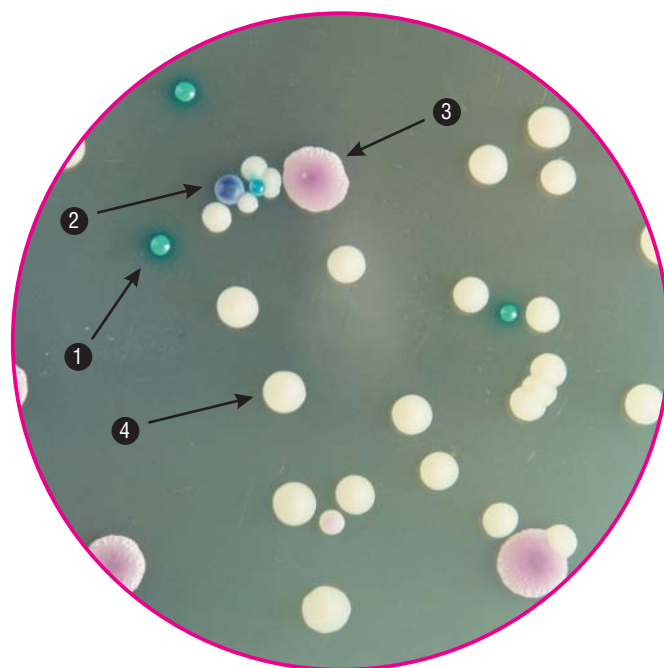
### Приготовление:

Разместить 42,72 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ СРЕДУ! Остудить до 50°C и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Perry J.L. и Miller G.R. (1) сообщили, что грибы *Candida albicans* вырабатывают фермент β-N-ацетилгалактозаминидазу. Согласно данным P. Rousselle и соавт. (2), введение в питательную среду хромогенных или флюоресцирующих гексоамидазных субстратов облегчает идентификацию этих грибов уже при первичном выделении. Хромогенный агар для грибов *Candida* является селективной и дифференциальной средой, которая способствует быстрому выделению грибов из смешанных культур и позволяют дифференцировать по цвету и морфологии колоний грибы *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis* и *Candida glabrata*. Эти среды полезны ввиду возможности быстрой (в течение 48 ч) предварительной идентификации грибов, часто встречающихся при исследованиях в микологических и клинических микробиологических лабораториях.

Специальный пептон и дрожжевой экстракт обеспечивают обильный рост грибов. Хлорамфеникол подавляет рост бактерий, придавая среде селективные свойства. *C. albicans* образуют гладкие зеленые колонии, *C. tropicalis* – синие или синие с металлическим оттенком выпуклые колонии, *C. glabrata* – колонии от кремового до белого цветов, а *C. krusei* – пурпурного цвета расплывчатые колонии.



### ХайХром селективный агар для грибов Candida (M1297A)

*Candida albicans* (ATCC 10231) *Candida tropicalis* (ATCC 750)  
*Candida krusei* (ATCC 24408) *Candida glabrata* (ATCC 15126)

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 2-3 дня при 25°C.

#### Штаммы

микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный	Светло-зеленые
<i>Candida tropicalis</i> (750)	Обильный	Синие или синие с металлическим оттенком выпуклые
<i>Candida krusei</i> (24408)	Обильный	Пурпурного цвета расплывчатые колонии
<i>Candida glabrata</i> (15126)	Обильный	От белого до кремового
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Рост отсутствует	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Рост отсутствует	—

### Условия и сроки хранения:

Хранить порошок при температуре ниже 8°C в плотно закрытой таре. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## HiCrome OGYE Agar Base

### Основа ХайХром агара для дрожжевых и плесневых грибов

M1467

Хромогенная среда HiCrome OGYE Agar рекомендуется для выделения и подсчета дрожжевых и плесневых грибов в молоке и молочных продуктах.

Ингредиенты	грамм/литр
Дрожжевой экстракт	4,0
Глюкоза	20,0
Хромогенная смесь	1,1
Агар-агар	12,0

Конечное значение pH (при 25°C) 7,0 ± 0.2

### Приготовление:

Разместить 37,1 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и асептически внести растворенное содержимое 1 флакончика со специальной добавкой (FD032). Тщательно перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Первоначально агаровые среды OGYE были предложены Mossel и соавт. для выделения и подсчета дрожжевых и плесневых грибов в пищевых материалах. Затем Mossel и соавт. ввели в состав среды в качестве селективного компонента окситетрациклин. Они обнаружили, что на среде с этим антибиотиком при нейтральном значении pH вырастает больше дрожжевых и плесневых грибов, по сравнению со средой, где для подавления бактериального роста используются низкие значения pH. HiCrome OGYE Agar является селективной и дифференциальной средой, которая облегчает выделение и дифференциацию дрожжевых и плесневых грибов из молока и молочных продуктов.

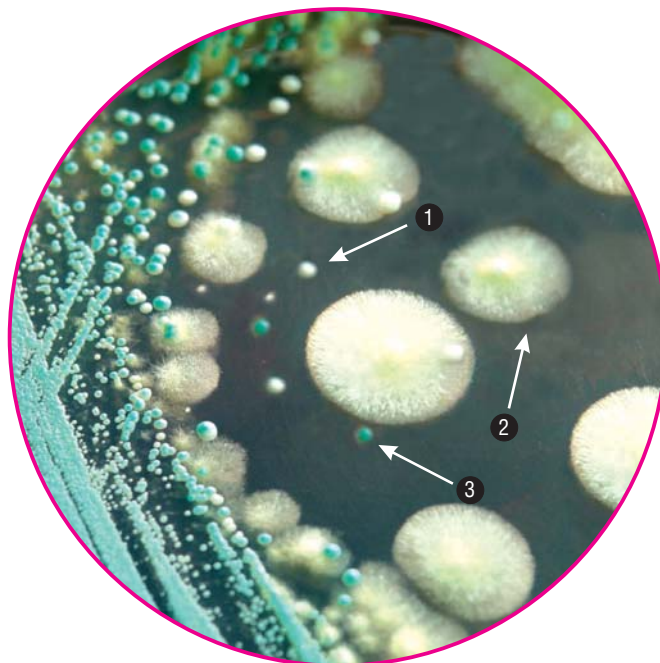
Дрожжевой экстракт является источником необходимых факторов роста, глюкоза – источником атомов углерода и энергии. Окситетрациклин подавляет рост лактобактерий, обычно встречающихся в молоке и молочных продуктах. Входящая в состав среды хромогенная смесь помогает идентифицировать грибы непосредственно в первичном посеве. Благодаря этой смеси *Aspergillus niger* образует светло-голубые колонии с черными спорами, *Candida albicans* – зеленые, а *Saccharomyces cerevisiae* – бесцветные колонии.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 2-3 дня при 25°C.

#### Штаммы

микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний
<i>Aspergillus niger</i> (16404)	Обильный	Светло-голубые колонии с черными спорами
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный	Зеленые
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Рост отсутствует	—
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (19615)	Обильный	Бесцветные



Основа ХайХром агара для дрожжевых и плесневых грибов (M1467)

1. *Saccharomyces cerevisiae* (ATCC 9763)
2. *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404)
3. *Candida albicans* (ATCC 10231)

### Условия и сроки хранения:

Хранить порошок при температуре ниже 8°C в плотно закрытой таре. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## HiCrome Aureus Agar Base

M1468

### Основа ХайХром агара для выделения и идентификации стафилококков

Данная хромогенная среда рекомендуется для выделения и идентификации стафилококков из объектов внешней среды.

Ингредиенты	грамм/литр
Ферментативный гидролизат казеина	12,0
Панкреатический перевар желатина	3,0
Говяжий экстракт	6,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Натрия пируват	10,0
Лития хлорид	5,0
Хромогенная смесь	2,1
Агар-агар	20,0

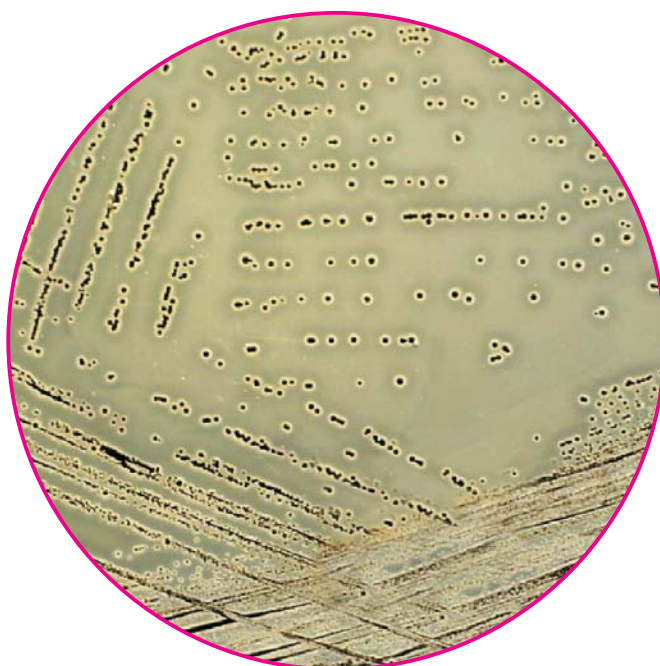
Конечное значение pH (при 25°C) 7,0 ± 0.2

### Приготовление:

Размешать 63,1 г порошка в 950 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C. Асептически добавить 50 мл желтково-теллуритового концентрата (FD046). Тщательно перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Данная хромогенная среда рекомендуется для выделения и подсчета коагулазоположительных *Staphylococcus*



Основа ХайХром агара для выделения и идентификации стафилококков (M1468)  
*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

*aureus* в объектах внешней среды. Ферментативный гидролизат казеина, панкреатический перевар желатина, говяжий и дрожжевой экстракты являются источником питательных веществ для роста бактерий. Пируват натрия предохраняет поврежденные клетки, помогая выделению и улучшая рост стафилококков. Хлорид лития и теллурид калия подавляют рост большинства сопутствующих микроорганизмов, за исключением *S. aureus*. Ввиду присутствия яичного желтка протеолитические бактерии формируют на данной среде прозрачную зону вокруг колоний. Коагулазоположительные *S. aureus* образуют на данной среде коричнево-черные колонии с прозрачной зоной вокруг, а *Staphylococcus epidermidis* – коричневатые. Благодаря присутствию хромогенной смеси, другие микроорганизмы формируют либо бесцветные, либо голубоватые колонии. У *Listeria monocytogenes* колонии голубоватые, а у *Bacillus* spp., *E. coli* и *Micrococcus* spp. – бесцветные.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний	Лецитиназа
<i>Bacillus subtilis</i> (6633)	Отсутствует или слабый	Бесцветные	—
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Отсутствует или слабый	Бесцветные	—
<i>Listeria monocytogenes</i> (19112)	Средний или хороший	Голубоватые	—
<i>Micrococcus luteus</i> (10240)	Отсутствует или слабый	Бесцветные	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Хороший	Коричнево-черные	+
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Отсутствует или слабый	Желтые или светло-коричневые	—

### Условия и сроки хранения:

Хранить порошок при температуре ниже 8°C в плотно закрытой таре. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## HiCrome UTI Agar Modified ХайХром агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий модифицированный

M1418

Хромогенная среда рекомендуется для идентификации и дифференциации энтеробактерий из мочи и других субстратов, которые могут содержать большое количество протеев и других условно-патогенных бактерий. Особые характеристики этой среды позволяют использовать ее вместо агара МакКонки.

### Ингредиенты

	грамм/литр
Пептон специальный	—
Пептический перевар животной ткани	18,00
Ферментативный гидролизат казеина	4,00
Говежий экстракт	6,00
Хромогенная смесь	12,44
Агар-агар	15,00

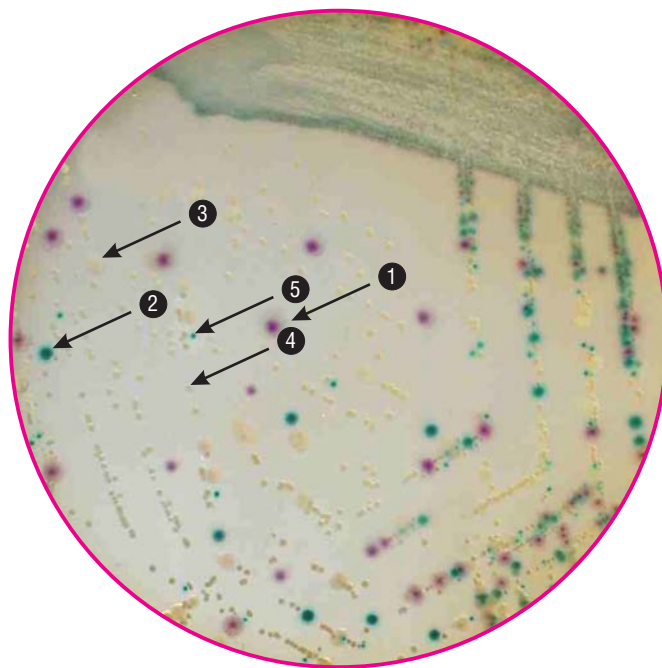
Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 55,44 г порошка M1418 в 1000 мл дистиллированной воды. Осторожно прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C. Перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Хромогенный агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий разработан на основе результатов исследований, опубликованных Pezzlo, Wilkie и соавт., Friedman и соавт., Muga и соавт., Soriano и Ponte и Merlino и соавт. Эту среду рекомендуют для обнаружения уропатогенных бактерий и как питательную среду общего назначения, поскольку она облегчает и ускоряет идентификацию некоторых грамотрицательных и грамположительных бактерий по различной окраске колоний. Характер окраски определяется



### ХайХром агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий модифицированный (M1418)

1. *E. coli* (ATCC 25922)
2. *Kl. pneumoniae* (ATCC 13883)
3. *Ps. aeruginosa* (ATCC 27853)
4. *S. aureus* (ATCC 25923)
5. *E. faecalis* (ATCC 29212)

взаимодействием родо- и видоспецифичных ферментов бактерий (*Enterococcus* spp, *Escherichia coli* и других колиформных бактерий) с двумя хромогенными субстратами.



Содержащиеся в пептоне аминокислоты (триптофан и фенилаланин) помогают выявить триптофандезаминазную активность, характерную для *Proteus* spp, *Morganella* spp и *Providencia* spp. Один из хромогенных субстратов расщепляется  $\beta$ -глюкозидазой энтерококков, что приводит к образованию ими синих колоний. Кишечные палочки образуют розовые или красные колонии вследствие активности другого фермента-  $\beta$ -D-галактозидазы. Колиформные бактерии ввиду гидролиза обоих хромогенных субстратов обычно образуют фиолетовые колонии. У некоторых штаммов *Enterobacter cloacae* фермент  $\beta$ -глюкозидаза отсутствует, поэтому они образуют такие же по цвету колонии, как у кишечных палочек. Для подтверждения принадлежности к виду *E. coli* можно использовать тест на индол (реактив DMACA, R035). Тест на индол лучше проводить на фильтровальной бумаге; он позволяет различить колонии *E. coli* и *Enterobacter cloacae*, а также *Proteus mirabilis* и других видов.

Ферментативный гидролизат казеина, пептический перевар животной ткани и говяжий экстракт удовлетворяют потребности бактерий в источниках азота, углерода и необходимых факторах роста.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24 ч при 35-37°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний	Триптофандезаминаза	Индол
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	Розовые или красные	—	+
<i>Proteus mirabilis</i> (10975)	Обильный	Светло-коричневые	+	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13883)	Обильный	Темно-синие или фиолетовые, мукоидные	—	—
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	Обильный	Бесцветные	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	Обильный	Золотисто-желтые	—	—
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Обильный	Синие, мелкие	—	—

Примечание: «+» - положительная реакция; «-» - отрицательная реакция.

### Условия и сроки хранения:

Хранить порошок при температуре ниже 8°C в плотно закрытой таре. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## HiCrome UTI Selective Agar ХайХром селективный агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий

M1505

Для селективного обнаружения, дифференциации и подтверждения энтеробактерий в клиническом материале, таком, как моча, при высоком содержании протеев.

Ингредиенты	грамм/литр
Пептический перевар животных тканей	18,00
Ферментативный гидролизат казеина	4,00
Мясной экстракт	6,00
Соли желчных кислот	1,50
Хромогенная смесь	12,44
Агар-агар	15,00

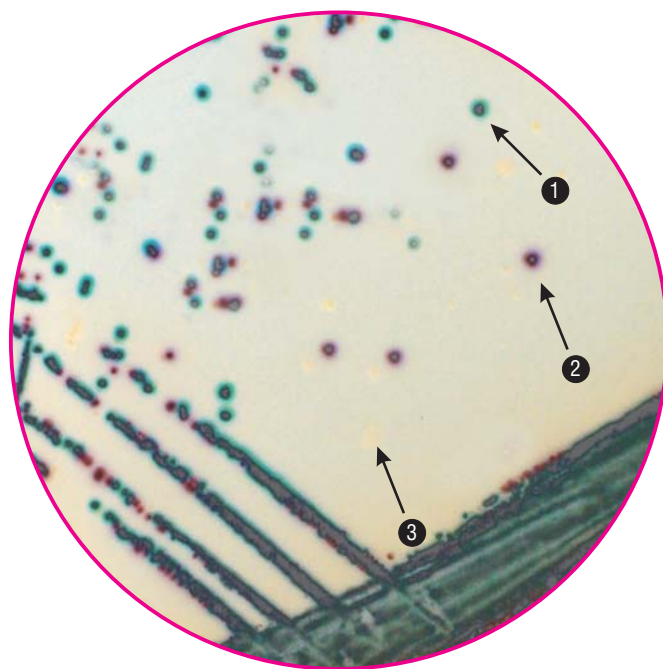
Конечное значение pH (при 25°C) 7,2 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 56,94 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50°C и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Хромогенный селективный агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий разработан на основе работ Pezzlo, Wilkie et al., Friedman et al., Murray et al., Soriano и Ponte и Merlino et al. Среда является модификацией хромогенного агара для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий (M1418), который может использоваться вместо агара МакКонки (M081) для выделения лактозопозитивных и лактозонегативных энтеробактерий. Это облегчает и ускоряет идентификацию некоторых грамотрицательных и грампозитивных бактерий на основе дифференциации окрашенных колоний при взаимодействии видо- или родоспецифических ферментов с двумя хромогенными субстратами, входящими в состав среды.



ХайХром селективный агар для обнаружения и подсчета уропатогенных бактерий (M1505)

1. *K. pneumoniae* (ATCC 13883)
2. *E. coli* (ATCC 25922)
3. *P. mirabilis* (ATCC 10975)

Хромогенные субстраты расщепляются ферментами, продуцируемыми *E. coli* и колиформными бактериями. Наличие богатого источника фенилаланина и триптофана в



виде пептона и триптона обеспечивает выявление триптофандезаминазной активности с помощью реагента TDA (R036), что указывает на присутствие бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*, колонии которых окрашиваются в коричневый цвет. *E.coli* образует колонии красного цвета, обусловленным расщеплением хромогенного субстрата ферментом  $\beta$ -галактозидазой. Для подтверждения принадлежности колоний к *E.coli* можно провести тест на индол, используя реагент ДМАСА (R035). Некоторые штаммы *Enterobacter cloacae*, недостаточные по  $\beta$ -галактозидазе, образуют колонии розового цвета, неотличимые от *E.coli*. Реагент ДМАСА для теста на индол (выполненный на фильтровальной бумаге) позволяет различить *E.coli* и *Enterobacter*, *Proteus mirabilis* и другие виды протеев. Колиформные бактерии формируют колонии от голубых до пурпурных при расщеплении обеих хромогенных субстратов.

Пептический перевар животных тканей, ферментативный гидролизат казеина, мясной экстракт являются источниками соединений азота, углерода и других, необходимых для роста, питательных веществ. Среда более селективная за счет присутствия солей желчных кислот, которые ингибируют рост грамположительных бактерий.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24ч при 35-37°C

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Цвет колоний	TDA*	ДМАСА**
<i>E. coli</i> (25922)	Обильный	Фуксиново-красный	—	+
<i>E. faecalis</i> (29212)	Рост отсутствует	—	—	—
<i>K. pneumonia</i> (13883)	Обильный	От голубого до пурпурного, слизистые	—	—
<i>P. aeruginosa</i> (27853)	Обильный	Бесцветные	—	—
<i>P. mirabilis</i> (10975)	Обильный	Светло-коричневые	+	—
<i>S. aureus</i> (25923)	Рост отсутствует	—	—	—

Примечание: + = положительный результат, — = негативная реакция

\* Добавить 1-2 капли реактива TDA непосредственно на поверхность колонии. Появление коричневого окрашивания вокруг колонии свидетельствует о положительной реакции.

\*\* Перенести исследуемую колонию на фильтровальную бумагу, смоченную в реагенте ДМАСА. Появление голубовато-пурпурного окрашивания свидетельствует о положительной реакции.

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +2 - 8°C. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## HiCrome Ent. faecium Agar Base ХайХром агар для дифференциации *Enterococcus faecium*

M1580

Рекомендуется для выделения и дифференциации *E. faecium* и *E. faecalis* из кала, канализационных стоков и воды.

Ингредиенты	грамм/литр
Пептон, специальный	23,00
Крахмал кукурузный	1,00
Натрия хлорид	5,00
Хромогенный субстрат	0,10
Арабиноза	10,00
Феноловый красный	0,10
Агар-агар	15,00

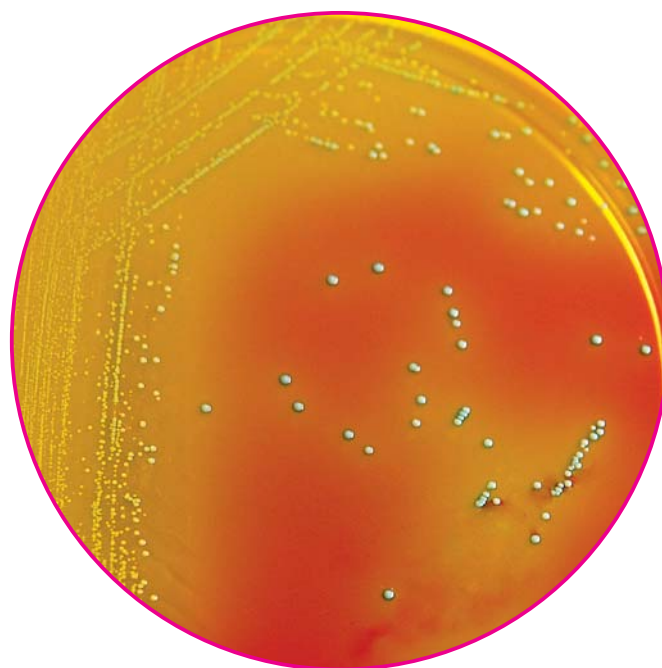
Конечное значение pH (при 25°C) 7,8 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 27,1 г порошка в 500 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ. Остудить до 45-50°C и асептически добавить растворенное содержимое 1 флакона добавки (*Ent. faecium* Selective Supplement – FD226). Хорошо перемешать и разлить в стерильные чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Хромогенный агар рекомендуется для для выделения *Enterococcus faecium* из мочи, кала, почвы, продуктов питания, воды, растений и животных. *E. faecium* обычно находят и в желудочно-кишечном тракте людей. Энтерококки обладают ферментом  $\beta$ -глюкозидазой,



ХайХром агар для дифференциации *Enterococcus faecium* (M1580)  
*Enterococcus faecium* (19434)

который специфически расщепляет хромогенный субстрат, образуя при этом колонии синего цвета. Ферментация *E. faecium* арабинозы и расщепление присутствующего в среде хромогенного субстрата придают колониям зеленую окраску, наряду с окрашиванием среды в желтый цвет. *E. faecalis* не ферментирует арабинозу и формирует колонии синего цвета.

Специальный пептон является источником углерода, азота и других, незаменимых для роста микроорганизмов веществ. Кукурузный крахмал нейтрализует токсичные продукты метаболизма, хлористый натрий поддерживает осмотическое равновесие. Феноловый красный используется как pH индикатор.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24ч при 35-37°C

Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост	Цвет колоний
<i>E. coli</i> (25922)	Рост отсутствует	—
<i>E. faecalis</i> (29212)	Обильный	Синий
<i>E. faecium</i> (19434)	Обильный	Зеленый
<i>E. hirae</i> (10541)	Обильный	Синий
<i>P. aeruginosa</i> (27853)	Рост отсутствует	—
<i>S. aureus</i> (25923)	Рост отсутствует	—

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +2 - 8°C в плотно закрытой банке. Использовать до даты, указанной на этикетке.

## Rice Extract Agar Агар с рисовым экстрактом

M1026

Этот агар рекомендуют для идентификации *Candida albicans* по продукции хламидоспор.

Ингредиенты	грамм/литр
Экстракт белого риса	20,00
Агар-агар	20,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,1 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 40,0 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Добавить 10 мл твина-80. Разлить в пробирки или флаконы. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

### Принцип и оценка результата:

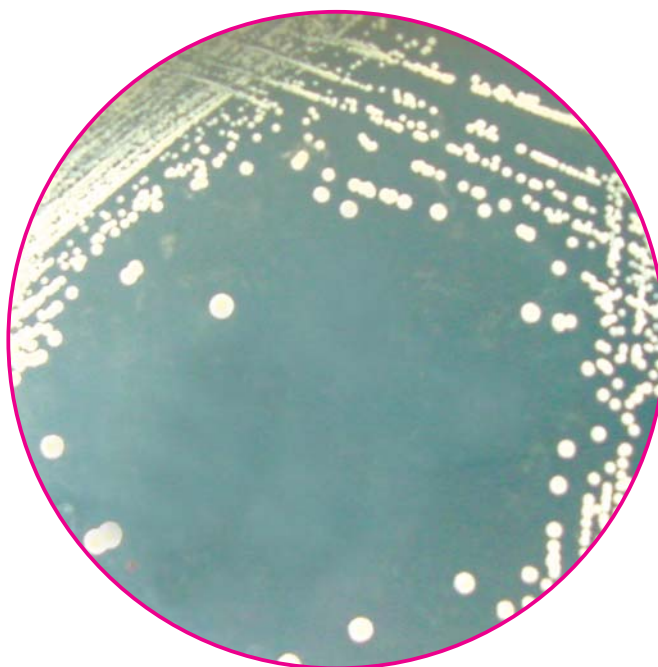
Этот агар разработан Taschdjian (1, 2) для дифференциации по продукции хламидоспор *Candida albicans* от других грибов этого рода.

Рисовый экстракт обеспечивают среду питательными веществами для роста грибов Кандида. Твин-80 способствует формированию хламидоспор у *Candida albicans* (3, 4). Для дифференциации видов Кандида рекомендуется использовать и другие среды (5). В случае добавления к Рисовому агару 2% глюкозы усиливается пигментообразование у *Trichophyton rubrum*, что позволяет дифференцировать их с *Trichophyton mentagrophytes*. При отрицательном результате рекомендуется продолжить инкубирование при 25°C до 14 суток.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 40-48 ч при 23-25°C.

Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост	Хламидоспоры
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный или хороший	+
<i>Candida tropicalis</i> (1369)	Обильный или хороший	—



Агар с рисовым экстрактом (M1026)  
*Candida albicans* (ATCC 10231)

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.

## Chlamydospore Agar Хламидоспор-агар

M113

Эту среду используют для дифференциации *Candida albicans* от других видов грибов *Candida* по образованию хламидоспор.

Ингредиенты	грамм/литр
Аммония сульфат	1,00
Калия гидрофосфат	1,00
Полисахарид очищенный	20,00
Трипановый синий	0,10
Биотин	0,000005
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 5,1 ± 0,2

### Приготовление:

Размешать 37,1 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин.

### Принцип и оценка результата:

Этот агар готовится по прописи Nickerson и Mankowski (1). Он стимулирует образование хламидоспор у *Candida albicans* и эти помогает легко и быстро дифференцировать виды грибов рода Кандида. Вид *Candida albicans* образует хламидоспоры только на специальных средах и это является одним из критериев при быстрой идентификации

вида *Candida albicans*. Вместе с тем следует отметить, что в этих же условиях хламидоспоры могут образовывать и грибы вида *Candida stellatoidea*, поэтому для точной идентификации нужны дополнительные тесты. К другим критериям относятся форма бластоспор, тип филаментации, ферментация сахаров и восстановление индикатора.

В состав среды включен трипановый синий, который позволяет лучше рассмотреть хламидоспоры в микроскопе. Биотин и полисахарид являются факторами роста и стимулируют образование хламидоспор. Фосфат калия обеспечивает буферность среды.

### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 2-6 дней при 20-25°C.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Рост	Хламидоспоры
<i>Candida albicans</i> (10231)	Обильный	+
<i>Candida tropicalis</i> (1369)	Обильный	—
<i>Candida krusei</i> (24480)	Обильный	—
<i>Candida minosa</i>	Обильный	—

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...+8°C.

## Candida Medium Среда с висмутом для грибов Candida

M104

Эту среду используют для селективного выделения и культивирования грибов *Candida*.

Ингредиенты	грамм/литр
Микологический пептон	2,50
Глюкоза	5,00
Калия гидрофосфат	5,00
Натрия сульфит	5,00
Висмута сульфит	3,00
Агар-агар	15,00

Конечное значение pH (при 25°C) 7,6 ± 0,2

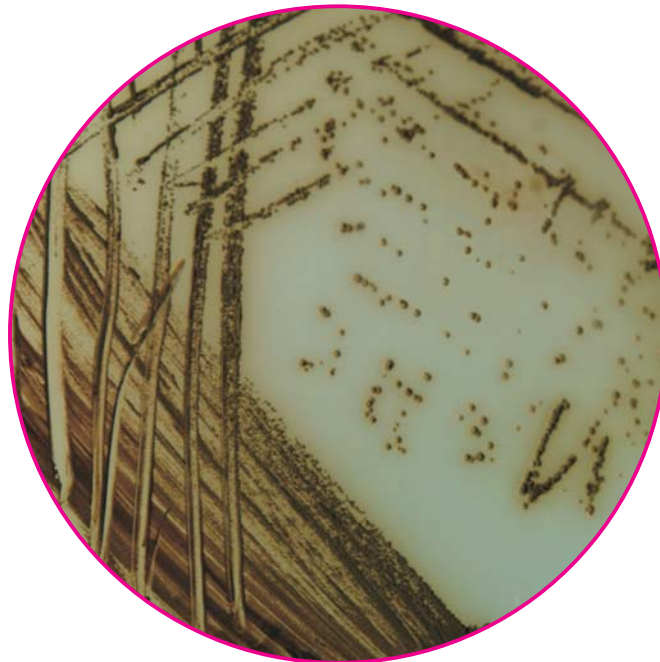
### Приготовление:

Размешать 35,5 г порошка в 1000 мл дистиллированной воды. Прокипятить для полного растворения частиц. Стерилизовать автоклавированием при 1,1 атм (121°C) в течение 15 мин. Остудить до 50-52°C и асептично добавить селективную добавку FD112 (Селективная добавка Джорджа Киммига, George Kimmig Selective Supplement). Тщательно перемешать и разлить в чашки Петри.

### Принцип и оценка результата:

Агар *Candida* используют для селективного культивирования и дифференциации видов грибов *Candida*. Первоначально среду предложил Nickerson. Ее используют также для посева нативного материала, в том числе пораженных тканей, кожных чешуек, ногтей и волос. Дифференциацию грибов рода Кандида ведут по характеру роста и пигментации изолированных колоний.

Микологический пептон дает необходимые азотистые вещества для питания грибов, глюкоза служит источником атомов углерода, фосфат придает буферные свойства среде. Присутствующий в среде сульфит натрия восстанавливается грибами Кандида до сульфида. В



Среда с висмутом для грибов *Candida* (M104)  
*Candida tropicalis* (ATCC 750)

сочетании с висмутом сульфид окрашивает колонии некоторых видов в черный цвет, а вокруг них формируются зоны темного преципитата. Сульфит висмута действует и как ингибитор роста сопутствующей бактериальной флоры. Селективность среды возрастает с введением пенициллина и стрептомицина, которые подавляют рост многих бактерий.



### Культуральные свойства:

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 30°C.

#### Штамм микроорганизмов (АТСС)

*Candida albicans* (10231)

*Candida tropicalis* (1369)

*Escherichia coli* (25922)

#### Рост

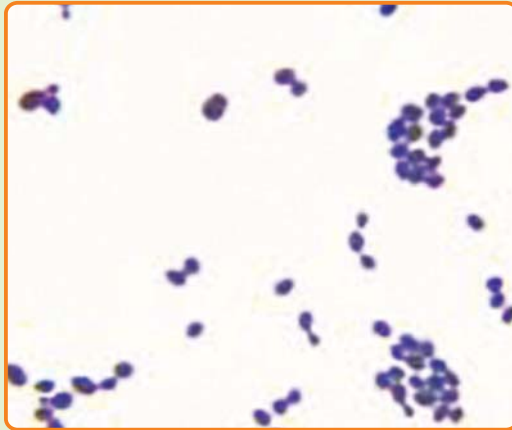
Хороший или обильный

Хороший или обильный

Подавляется

### Условия и сроки хранения:

Порошок хранить при температуре ниже +25°C. Использовать до даты, указанной на этикетке. Готовую среду хранить при температуре +2...8°C.



**Negative Staining – *Candida albicans* (ATCC 10231)**



**HiMedia – M1825R – Агар Мюллера-Хинтона (модифицированный, для определения чувствительности к антимикотикам, по стандарту CLSI)**



# Хайконазол-50 / Хайконазол-150

## Флуконазол капсулы - противогрибковый препарат.

### Стандартная упаковка

Капсула по 50мг: В картонной коробке 1 блистер ( 7 капсул) с инструкцией по применению.

Капсула по 150мг: В картонной коробке 1 блистер ( 1 капсула) с инструкцией по применению.

### Показания к применению

- Криптококкоз: криптококковый менингит, инфекции кожи и легких. Лечение и профилактика может проводиться у больных с нормальным иммунным ответом, у больных СПИДом и у больных с другими формами иммунодефицита.
- Генерализованный кандидоз: кандидемия, диссеминированный кандидоз и другие формы инвазивных кандидозных инфекций (инфекции брюшины, эндокарда, глаз, дыхательных и мочевых путей).
- Кандидоз слизистых оболочек: полости рта и глотки, пищевода, неинвазивные бронхолегочные инфекции, кандидурия, кожно-слизистый и хронический атрофический кандидоз ротовой полости (связанный с ношением зубных протезов), профилактика рецидива орофарингеального кандидоза у больных СПИДом.
- Генитальный кандидоз: вагинальный кандидоз (острый и хронический рецидивирующий), профилактика рецидивов вагинального кандидоза, кандидозный баланит.
- Профилактика и лечение грибковых инфекций при злокачественных новообразованиях (лечение цитостатиками и/или лучевая терапия), антибиотикотерапии, лечении иммунодепрессантами, после трансплантации.
- Микозы кожи (стоп, тела, паховой области), отрубевидный лишай, онихомикоз, кандидоз кожи
- Глубокие эндемические микозы (кокцидиомикоз, паракокцидиомикоз, споротрихоз, гистоплазмоз) у больных с нарушенным иммунитетом.

### Способ применения и дозы Хайконазол:

Препарат (капсулы) принимать внутрь.

Рекомендуется принимать сразу после еды, запивая их достаточным количеством воды (около 1/2 стакана).

### Взрослым

- ☆ При криптококковом менингите и криптококковых инфекциях другой локализации в 1-й день назначают по 400 мг, а затем продолжают лечение в дозе 200-400 мг 1 раз/сут. Длительность лечения криптококковых инфекций зависит от наличия клинического и микологического эффекта; при криптококковом менингите его обычно продолжают, по крайней мере, 6-8 недель.
- ☆ Для профилактики рецидива криптококкового менингита у больных СПИДом, после завершения полного курса первичного лечения, терапию флуконазолом в дозе 200 мг/сут можно продолжать в течение длительного срока.
- ☆ При кандидемии, диссеминированном кандидозе и других инвазивных кандидозных инфекциях доза обычно составляет 400 мг в первые сутки, а затем по 200 мг/сут. В зависимости от выраженности клинического эффекта доза может быть увеличена до 400 мг/сут. Длительность терапии зависит от клинической эффективности.
- ☆ При орофарингеальном кандидозе препарат назначают по 50-100 мг 1 раз/сут, продолжительность лечения - 7-14 дней. При необходимости у больных с выраженным снижением иммунитета лечение можно продолжать в течение более длительного времени.
- ☆ При атрофическом кандидозе полости рта, связанном с ношением зубных протезов, препарат обычно назначают по 50 мг 1 раз/сут в течение 14 дней в сочетании с местными антисептическими средствами для обработки протеза.
- ☆ При других локализациях кандидоза (за исключением генитального кандидоза), например, эзофагите, неинвазивном бронхолегочном поражении, кандидурии, кандидозе кожи и слизистых оболочек и др., эффективная доза обычно составляет 50-100 мг/сут при длительности лечения 14-30 дней.
- ☆ Для профилактики рецидивов орофарингеального кандидоза у больных со СПИДом после завершения полного курса первичной терапии флуконазол может быть назначен по 150 мг 1 раз/нед.
- ☆ При вагинальном кандидозе флуконазол принимают однократно внутрь в дозе 150 мг. Для снижения частоты рецидивов вагинального кандидоза препарат может быть использован в дозе 150 мг 1 раз/мес. Длительность терапии определяется индивидуально и варьирует от 4 до 12 мес. Некоторым больным может потребоваться более частое применение.
- ☆ При баланите, вызванном *Candida*, флуконазол назначают однократно в дозе 150 мг внутрь.
- ☆ Для профилактики кандидоза рекомендуемая доза флуконазола составляет 50-400 мг 1 раз/сут в зависимости от степени риска развития грибковой инфекции. При наличии высокого риска генерализованной инфекции, например, у больных с ожидаемой выраженной или длительно сохраняющейся нейтропенией, рекомендуемая доза составляет 400 мг 1 раз/сут. Флуконазол назначают за несколько дней до ожидаемого появления нейтропении; после повышения числа нейтрофилов более 1000 / мм<sup>3</sup> лечение продолжают еще в течение 7 сут.
- ☆ При инфекциях кожи, включая микозы стоп, туловища, голеней, паховой области, вызванных дерматофитами и кандидозных инфекциях, рекомендуемая доза составляет 150 мг 1 раз/нед. или 50 мг 1 раз/сут. Длительность терапии в обычных случаях составляет 2-4 нед., однако, при микозах стоп может потребоваться более длительная терапия (до 6 нед.).
- ☆ При отрубевидном лишае рекомендуемая доза составляет 300 мг 1 раз/нед. в течение 2 недель; некоторым больным требуется третья доза 300 мг/нед., в то время как в части случаев оказывается достаточным однократный прием препарата в дозе 300-400 мг. Альтернативной схемой лечения является применение препарата по 50 мг 1 раз/сут в течение 2-4 нед.
- ☆ При онихомикозе рекомендуемая доза составляет 150 мг 1 раз/нед. Лечение следует продолжать до замещения инфицированного ногтя (вырастания неинфицированного ногтя). Для повторного роста ногтей на пальцах рук и стоп в норме требуется 3-6 мес и 6-12 мес соответственно.
- ☆ При глубоких эндемических микозах может потребоваться применение препарата в дозе 200-400 мг/сут в течение до 2 лет. Длительность терапии определяют индивидуально: при кокцидиомикозе - 11-24 мес, при паракокцидиомикозе - 2-17 мес, при споротрихозе - 1-16 мес и при гистоплазмозе - 3-17 мес.
- ☆ Хайконазол-50 / Хайконазол-150 лекарственные средства Произведено: Хайланс Лабораториз



# ДВУХФАЗНАЯ СИСТЕМА ДЛЯ ГРИБОВ

**LQ034-КТ** 1 набор  
**HiCombi** Двухфазная система для гемокультур для грибов

**Для детей**

Набор содержит 10 флаконов HiCombi Двухфазная система для гемокультур для грибов для выделения дрожжей и плесеней из патологического материала. (Флакон содержит: плотная среда – 7 мл; жидкая среда – 20 мл). Для селекции грибов набор содержит 10 флаконов модифицированной добавки СС (FD169В).

**LQ034А-КТ** 1 набор  
**HiCombi** Двухфазная система для гемокультур для грибов

**Для взрослых**

Набор содержит 10 флаконов HiCombi Двухфазная система для гемокультур для грибов для выделения дрожжей и плесеней из патологического материала. (Флакон содержит: плотная среда – 20 мл; жидкая среда – 40 мл). Для селекции грибов набор содержит 10 флаконов модифицированной добавки СС (FD169А).



ISO 9001-2008  
CERTIFIED



Срок годности всех систем для гемокультур - 1 год с момента изготовления.

## HiSafe™

Blood Culturing System *safe, efficient & easy*

## HiCombi™

HiSpeed Culturing System *Dual Performance*

**ХайМедиа Лабораториз Пвт. Лтд.**

Представительство в РФ, Странах СНГ и Балтии.

Почтовый адрес: 124498, Москва, а/я 130

Офис: 123007, Москва, Хорошевское шоссе, д. 13 а, стр. 3

Тел/Факс: (495) 940 33 12, 940 33 13, 940 33 14, 940 33 96, 940 33 97, 940 33 98.

E-mail: [himedia@orc.ru](mailto:himedia@orc.ru) Наш сайт: [www.himedialabs.ru](http://www.himedialabs.ru)

**HiMediaLaboratories™**

HiMedia Laboratories Pvt. Limited

A-406, Bhaveshwar Plaza, Mumbai - 400 086, India.

Phone : 00-91-22-4095 1919 Fax : 4095 1920/1921

Email : [info@himedialabs.com](mailto:info@himedialabs.com)

**HIMEDIA®**

Для Драгоценной Жизни