

которые могут вызывать изменения гемоглобина, сходные с гемолизом, т.е. давать ложноположительную реакцию гемолиза. Поэтому следует представить фактические данные, подтверждающие, что данный штамм не продуцирует гемолизины (отсутствие плазмид или участка гена, кодирующих синтез гемолизина).

Предлагаемые производственные штаммы не должны обладать гемолитической активностью.

Примечание

Приготовление 5 % кровяного агара. К 100 мл растопленного и остуженного до температуры 45–50 °С МПА с 2 % агара микробиологического в его составе (рН 7,4–7,6), соблюдая правила асептики, добавляют 5мл стерильной дефибринированной крови кролика, лошади, барана или человека, не содержащей консервантов или антибактериальных препаратов. Смесь тщательно перемешивают, остерегаясь образования пены, и разливают в стерильные чашки Петри, предварительно подогретые в термостате.

Перед розливом чашки устанавливают на ровную поверхность. Слой агара должен быть одинаковым по всей площади чашки и толщиной не более 3 мм.

2.1.7 Определение гиалуронидазы

Некоторые бактерии образуют гиалуронидазу – фермент, разрушающий гиалуроновую кислоту. Сущность метода состоит в том, что культуральную жидкость, полученную после выращивания испытуемого микроорганизма, смешивают с красителем трипановым синим и вводят внутрикожно животным. Наличие гиалуронидазы определяют путем сравнения площади распространения красителя, введенного в смеси с фильтратом культуральной среды и без нее.

В ходе испытания исследуемый штамм выращивают в селективной жидкой среде в оптимальных для него условиях (температуре и времени экспозиции). По окончании инкубации культуру сначала центрифугируют при 8000 об/мин в течение 30 мин, при необходимости – фильтруют через бактериальные фильтры. Животным – кроликам или морским свинкам – вводят смесь, состоящую из 0,1 мл испытуемого фильтрата и 0,1 мл 10 %