

Anna Mikołajczyk<sup>1\*</sup>, Elżbieta Stefaniuk<sup>1,2</sup>, Karolina Bosacka<sup>1</sup>, Waleria Hryniewicz<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej

<sup>2</sup>Narodowy Instytut Leków

Wpłynęło w grudniu 2015 r.  
Zaakceptowano w lutym 2016 r.

1. Wstęp. 2. Przygotowywanie i przechowywanie podłoży. 3. Kontrola jakości. 4. Podział podłoży. 4.1. Podział ze względu na skład chemiczny. 4.2. Podział ze względu na konsystencję. 4.3. Podział ze względu na zawartość substancji odżywczych. 4.4. Podział ze względu na zastosowanie. 5. Podsumowanie

### Properties and uses of bacteriological media

**Abstract:** The aim of this article was to collate information about bacteriological media, presenting their composition, properties and the resulting possible applications of a particular medium or group of media in bacteriological diagnostics. The most important groups of culture media were classified basing on their composition (synthetic, semi-synthetic and natural), consistency (liquid, semi-solid, solid), nutrient content (minimum, nutrient-enriched) and use (transport, nutrient, selective, differential, selective-differentiating, for susceptibility testing). Taking into account the practical aspect, much space is devoted to the classification of culture media based on their possible use. For each group, several examples of culture media with their major components and bacterial species for which they are intended are given. Brief information about the quality assurance and control of media during their preparation, transport and storage is also presented.

1. Introduction. 2. Preparation and storage of media. 3. Quality control. 4. Classification of culture media. 4.1. Classification of culture media based on their composition. 4.2. Classification of culture media based on their consistency. 4.3. Classification of culture media based on their nutrient content. 4.4. Classification of culture media based on their use. 5. Summary

**Słowa kluczowe:** diagnostyka mikrobiologiczna, kontrola jakości, podłoża bakteriologiczne, zapewnianie jakości

**Key words:** bacteriological media, microbiology diagnostics, quality control, quality assurance

## 1. Wstęp

Hodowla bakterii uznawana jest za „złoty standard” w diagnostyce bakteriologicznej. Umożliwia m.in. wstępną identyfikację bakterii poprzez określenie ich właściwości biochemicznych, oznaczenie lekowrażliwości oraz stanowi źródło materiału do badań molekularnych. Aby hodowla spełniała swoje zadanie, podłoża należy dobrać do wymagań patogenów obecnych w badanym materiale, zapewniając im optymalne warunki wzrostu. Kontrola jakości podłoży mikrobiologicznych jest jednym z podstawowych elementów programu zapewniania jakości w laboratorium mikrobiologicznym, jednak na ich użyteczność składa się nie tylko odpowiednie przygotowanie i przechowywanie, ale i dobrane pożywki do rodzaju badanego materiału [18, 19].

W celu zapewnienia właściwych warunków rozwoju bakterii podłoża muszą spełniać szereg wymagań. Mogą się one od siebie znacząco różnić, jednak wszystkie powinny zawierać odpowiednią ilość przyswajalnych form pierwiastków biogennych: C, O, H, N, P, S, źródeł energii, soli mineralnych, mikroelementów: Zn, Mn, Cu, Mo, Co, Ni oraz innych substancji potrzebnych do wzrostu bakterii, takich jak witaminy i aminokwasy.

Ponadto, muszą odznaczać się odpowiednim potencjałem oksydoredukcyjnym, ciśnieniem osmotycznym i pH. Większość bakterii wykazuje najobfitszy wzrost na podłożach o odczynie obojętnym, jednak niektóre wymagają szczególnie niskiego lub wysokiego pH. Podłoża powinny być również jednorodnie i przejrzyste, o ile w ich skład nie wchodzi związek nierozpuszczalny, np. CaCO<sub>3</sub> lub tłuszcze. Podłoża specjalne, przeznaczone dla wybranych grup bakterii, zawierają dodatkowo składniki selekcyjne lub różnicujące [6, 18].

Hodowle bakterii obligatoryjnie wewnątrzkomórkowych, którym tradycyjnie podłoża bakteriologiczne nie są w stanie zapewnić właściwych warunków rozwoju, prowadzone są w zarodkach kurzych lub hodowlach komórkowych. Do tej grupy zaliczają się m.in. *Chlamydia* spp., *Coxiella* spp., *Rickettsia* spp. i *Mycobacterium leprae* [2, 3, 5].

## 2. Przygotowywanie i przechowywanie podłoży

Podłoża mikrobiologiczne dzielimy na dwie grupy:

- przygotowywane w laboratorium ze składników podstawowych lub komercyjnie dostępnych granulatów i odwodnionych proszków,

\* Autor korespondencyjny: Centralny Ośrodek Badań Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej, ul. Rydygiera 8, 01-793 Warszawa; tel. 22 841 58 34; amikolajczyk@polmicro.edu.pl

- gotowe do użycia, w probówkach lub na płytkach Petriego.

Jeśli podłoża przygotowywane są w laboratorium, to właśnie na nim spoczywa odpowiedzialność za jakość przygotowywanych pożywek. W przypadku podłoży komercyjnych producenci zobowiązani są do kontroli jakości swoich produktów, czego potwierdzeniem jest certyfikat przedstawiający jej wyniki. Certyfikaty dla składników podstawowych i podłoży w proszku odnoszą się tylko do takiej postaci, jaka została dostarczona do laboratorium, ponieważ właściwości ostatecznej postaci pożywki zależą także od sposobu jej przygotowania. Bez względu na to, czy podłoża pochodzą od wytwórców komercyjnych, czy powstają w laboratorium, należy zapewnić nadzór nad wszystkimi czynnikami i etapami przygotowania, które mają wpływ na właściwości fizyko-chemiczne i użytkowe podłoży. Nadzór ten obejmuje standaryzację produkcji i przechowywania podłoży oraz wdrożenie programu kontroli ich jakości [13, 19, 20].

Do najistotniejszych elementów wpływających na jakość pożywek należą [9, 13, 19, 20]:

- zastosowane surowce lub podłoża sypkie, które powinny być przechowywane w szczelnych pojemnikach w przewiewnym, chłodnym i ciemnym miejscu,
- woda, której pH powinno zawierać się w zakresie 5,5–7,5, a przewodność właściwa mierzona w 25°C wynosić nie więcej niż 25  $\mu\text{S}/\text{cm}$  – przewodność zależy wprost proporcjonalnie od zawartości jonów soli, w tym jonów miedzi, które hamują wzrost drobnoustrojów,
- skład pożywki – odpowiednie proporcje poszczególnych składników warunkują właściwości odżywcze i użytkowe,
- sposób przygotowania pożywki zgodny z obowiązującymi procedurami i udokumentowany tak, by umożliwić odtworzenie przebiegu wytwarzania danej partii,
- przebieg procesu sterylizacji przeprowadzanej za pomocą pary wodnej pod ciśnieniem lub filtracji,
- opakowanie, warunki transportu i przechowywania zapewniające stabilność właściwości pożywki: zabezpieczające przed kontaminacją, uszkodzeniami mechanicznymi, odwodnieniem skutkującym zmianą stężenia poszczególnych składników, destrukcyjnym działaniem światła, które przy dłuższej ekspozycji może doprowadzić do zmiany składu chemicznego poprzez niepożądane reakcje między składnikami podłoża lub ich degradację, skrajnymi temperaturami – zbyt wysoka temperatura może doprowadzić do degradacji lub zmian stężenia komponentów, zbyt niska do wytrącenia niektórych składników, a duże wahania temperatury do nadmiernej kondensacji wody.

Aby umożliwić pełną identyfikację danej serii pożywki, każde naczynie z podłożem (płytką, kolbą, butelką czy probówka) powinno być opisane jego nazwą oraz datą przygotowania lub datą ważności partii, z której pochodzi [19].

### 3. Kontrola jakości

Jakość podłoży determinuje możliwość wykrycia bakterii w badanym materiale, ich prawidłową identyfikację oraz ocenę lekowrażliwości. Nawet najlepiej dobrane do profilu badania podłoże może sprawić, że uzyskany wynik nie będzie wiarygodny, jeśli pożywka będzie złej jakości. Od laboratoriów mikrobiologicznych wymaga się przeprowadzania kontroli podłoży niezależnie od źródła pochodzenia w celu potwierdzenia ich jakości i kwalifikacji dostawców. Wymagania te zawarte są w normach PN-EN ISO/IEC 17025:2007 i PN-EN ISO 15189:2015-05. W celu zapewnienia wiarygodności wyników wszystkie laboratoria powinny kontrolować jakość pożywek, nawet jeśli nie wdrażają systemu zarządzania jakością [14, 15, 19].

Na kontrolę jakości podłoży składa się kilka etapów: ocena ogólna, ocena szczegółowa, a w przypadku podłoży komercyjnych także ocena wstępna. Dopiero po pomyślnym przejściu wszystkich etapów kontroli dana partia pożywki może być przeznaczona do użytku [13].

Wstępna kontrola dostawy polega na każdorazowym sprawdzeniu certyfikatu jakości oraz dokumentacji opisującej warunki transportu. Certyfikat powinien zawierać nazwę producenta, nazwę podłoża, numer serii, datę ważności, opis jego właściwości fizyko-chemicznych (barwy, pH) i mikrobiologicznych (morfologii kolonii danego gatunku na podłożu oraz wykaz zastosowanych szczepów kontrolnych). Ponadto, laboratorium powinno odnotowywać datę dostawy i wizualnie ocenić opakowanie transportowe pod kątem jego oznakowania i szczelności [9, 19].

Kontrola ogólna obejmuje sprawdzenie jałowości oraz określenie właściwości fizycznych i chemicznych podłoży. Weryfikuje się także stopień wypełnienia opakowania pożywką sypką, formę wypełnienia i grubość warstwy agaru dla pożywki stałej lub objętość pożywki płynnej. Ocenie podlega pH oraz wygląd zewnętrzny: klarowność, jednorodność, zabarwienie, obecność artefaktów i stopień rozdrobnienia podłoży sypkich. Do najczęściej spotykanych nieprawidłowości należą: niewystarczająca ilość pożywki w płytce/butelce/probówce, uszkodzenia mechaniczne płytek, oderwanie pożywki stałej od dna płytki, zamrożenie agaru, chropowatość, obecność pęcherzyków lub pęknięć na powierzchni agaru, nadmiar wilgoci lub odwodnienie, nietypowe zabarwienie, hemoliza krwi oraz kontaminacja widoczna makroskopowo [9, 13, 19].

Kontrola szczegółowa polega na ocenie właściwości mikrobiologicznych, inaczej nazywanych użytkowymi. W celu jej przeprowadzenia stosuje się szczepy kontrolne pochodzące ze stowarzyszonych w ECCO (European Culture Collection's Organization) lub WFCC (World Federation for Culture Collection) kolekcji kultur takich jak np. ATCC (American Type Culture Collection), DSM (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen) lub brytyjskie NCTC (National Collection of Type Culture). Zestaw szczepów odniesienia powinien składać się ze szczepów kontroli dodatniej, nazywanych szczepami docelowymi, słabo dodatniej i ujemnej. Ten etap kontroli ma na celu zbadanie intensywności wzrostu bakterii, stopnia zahamowania flory towarzyszącej oraz sprawdzenie czy na danym podłożu szczep wzorcowy wykazuje charakterystyczne dla siebie właściwości fizjologiczne i biochemiczne [9, 13, 19].

#### 4. Podział podłoży

Sprawnie działające laboratorium powinno dysponować najmniejszą możliwą liczbą rodzajów podłoży, niezbędną do wykonywania badań o określonym profilu, a kategoryzacja podłoży ułatwia ich odpowiednie dobranie. W zależności od potrzeb stosuje się wiele klasyfikacji podłoży, odnoszących się do ich składu, konsystencji, zawartości substancji odżywczych i zastosowania. Ze względu na znaczenie praktyczne, najszerszej omówiono podział podłoży pod kątem ich zastosowania [17, 20].

##### 4.1. Podział ze względu na skład chemiczny

Pod względem składu chemicznego podłoża dzieli się na naturalne, półsyntetyczne i syntetyczne. Pożywki naturalne sporządza się na bazie składników pochodzenia naturalnego, takich jak hydrolizaty białek czy wyciągi z tkanek (np. mięśni, wątroby) lub warzyw. Ich obecność sprawia, że skład chemiczny tej grupy podłoży nie jest w pełni zdefiniowany. Podłoża syntetyczne, w przeciwieństwie do naturalnych, charakteryzuje ściśle określony skład chemiczny. Podłoża półsyntetyczne posiadają zarówno składniki syntetyczne, jak i pochodzenia naturalnego [10, 19].

##### 4.2. Podział ze względu na konsystencję

Ze względu na konsystencję podłoża bakteriologiczne możemy podzielić na: płynne – służące głównie do namnażania, półpłynne, zawierające 0,1–0,7% agaru – przeznaczone dla mikroaerofili, oraz podłoża stałe o 1,5–2% zawartości agaru – umożliwiające izolację czystych kultur i obserwację wyglądu kolonii. Początkowo do hodowli bakterii stosowane były jedynie podłoża

płynne, np. Ludwik Pasteur stosował proste pożywki na bazie wyciągów z moczu i mięsa. Dopiero Robert Koch rozpoczął prace nad otrzymaniem podłoża stałego, wykorzystując w tym celu m.in. skrobię, skoagulowane albuminy jaja kurzego czy żelatynę. Ostatecznie zastosowanie agaru zasugerowała mu żona jednego ze współpracowników, Fannie Eilshemius Hesse. Na przewagę agaru nad innymi środkami zestalającymi składa się jego wysoka temperatura topnienia oraz fakt, że większość drobnoustrojów nie jest w stanie go rozłożyć [7, 10].

##### 4.3. Podział ze względu na zawartość substancji odżywczych

Stosowany jest również podział podłoży na podstawie zawartości substancji odżywczych. Pożywki minimalne (inaczej: podstawowe), zawierają jedynie niezbędne składniki pokarmowe, pozwalające podtrzymać żywotność bakterii. W skład podłoży odżywczych (inaczej: pełnych) wchodzi wszystkie substancje odżywcze, które są niezbędne do zapewnienia dobrego wzrostu bakterii. Podłoża wzbogacone zawierają dodatkowe substancje wzrostowe, takie jak krew, surowica, wyciąg z wątroby, płyny wysiękowe lub mleko, dzięki czemu umożliwiają wzrost bakterii wymagających [10, 17].

##### 4.4. Podział ze względu na zastosowanie

Ze względu na zastosowanie wyróżnia się siedem głównych grup podłoży:

- 1) transportowe – minimalne, utrzymujące żywotność drobnoustrojów w czasie transportu,
- 2) transportowo-wzrostowe – odpowiednie do namnażania drobnoustrojów podczas przechowywania, transportu i inkubacji materiału klinicznego
- 3) namnażające – bogate, odpowiednie do namnażania wielu grup bakterii,
- 4) selektywne – inaczej wybiórczo-namnażające, z dodatkiem substancji umożliwiających wzrost określonego rodzaju/gatunku i hamujących wzrost pozostałych drobnoustrojów,
- 5) różnicujące – inaczej izolacyjne, w ich skład wchodzi indykator, dzięki któremu na podstawie wybranych cech pozwalają rozróżnić określone grupy bakterii,
- 6) wybiórczo-różnicujące, które łączą właściwości podłoży selektywnych i różnicujących,
- 7) podłoża do badania lekowrażliwości drobnoustrojów [18].

###### 1) Podłoża transportowe

Podłoża należące do tej grupy używane są do transportu próbek materiału klinicznego i szczepów bakterii do laboratorium. Klasyczne podłoża transportowe utrzymują żywotność bakterii, ale nie pozwalają na ich namnożenie [17].

Najszerzej stosowanymi podłożami transportowymi są uniwersalne podłoża Stuarta i Amiesa oraz – stosowane głównie do próbek kału – podłoże Cary’ego-Blaira, ponieważ są one odpowiednie do przechowywania zarówno bakterii tlenowych, beztlenowych, jak i względnie beztlenowych. Za utrzymanie niskiego potencjału redukcyjnego, umożliwiającego przeżycie beztlenowców, odpowiada dodatek tioglikolanu sodu. Niektóre bakterie, np. *Bordetella pertussis*, są bardzo wrażliwe na zmiany czynników środowiskowych i giną już w kilka godzin po pobraniu materiału, dlatego wymagają specjalnych podłoży transportowych. Przy podejrzeniu krztuśca materiał należy pobierać na półpłynne podłoże Regan-Lowe, zawierające dodatek węgla drzewnego i krwi końskiej, w dwóch powtórzeniach: z antybiotykiem (cefaleksyną lub metycyliną), który zahamuje wzrost flory towarzyszącej oraz bez dodatku antybiotyku, po czym jak najszybciej należy przesiać materiał na podłoże Bordeta-Gengou [4, 17].

Istnieją także podłoża wzbogacone, nazywane transportowo-wzrostowymi, które są odpowiednie do namnażania bakterii w czasie przechowywania, transportu oraz późniejszej inkubacji materiałów klinicz-

nych. Mogą one zawierać dodatek substancji neutralizujących aktywność antybiotyków, a niektóre z nich mają charakter dwufazowy – stanowią połączenie podłoża stałego i płynnego, na którym możliwe jest szybsze zaobserwowanie wzrostu bakterii [17].

## 2) Podłoża namnażające

Podłoża bogate, stwarzające dogodne warunki dla wzrostu wielu rodzajów bakterii, nazywane są podłożami namnażającymi. Przykładami pożywek namnażających są: bulion odżywczy, w skład którego wchodzi wyciąg z mięsa i woda peptonowa (pepton, NaCl i woda) oraz bulion glukozowy, który różni się od bulionu odżywczego jedynie dodatkiem glukozy [10].

## 3) Podłoża selektywne (wybiórczo-namnażające)

Zadaniem podłoży wybiórczo-namnażających jest stworzenie dogodnych warunków do wzrostu określonych bakterii przy równoczesnym zahamowaniu rozwoju pozostałych. Przykłady pożywek selektywnych wraz z ich najważniejszymi składnikami i grupami bakterii, do których wzrostu są przystosowane, przedstawiono w tabelach I a i I b [2, 4, 16, 17, 21].

Tabela Ia  
Wybrane podłoża selektywne (wybiórczo-namnażające) dla bakterii Gram-ujemnych

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Pozostałe istotne składniki
<b>Agar czekoladowy</b>	<i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Brucella abortus</i> i inne bakterie wymagające	Czynniki X (hemina) i V (NAD) ze zdenaturowanej krwi baraniej, w modyfikacji dla <i>Haemophilus</i> spp., bacytracyna	Enzymatyczny hydrolyzат kazeiny i tkanek zwierzęcych, wyciąg drożdżowy
<b>Podłoże MTM</b> (ang. <i>Modified Thayer-Martin</i> )	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i>	Wankomycyna, kolistyna, nystatyna, trimetoprim	Hemina, NAD, hemoglobina, witaminy
<b>Podłoże Roiron</b>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Wankomycyna, kolistyna, amfoterynyna B	Enzymatyczny hydrolyzат kazeiny, osocze końskie, glukoza
<b>Brucella agar</b>	<i>Brucella</i> spp.	Mieszanina antybiotyków: polimyksyna B, bacytracyna, kwas nalidyksowy, nystatyna, wankomycyna, cykloheksamid	Enzymatyczny hydrolyzат kazeiny i tkanek zwierzęcych, wyciąg drożdżowy, glukoza (w wersji stałej 10% odwłóknionej krwi końskiej)
<b>Agar BCYE</b> (ang. <i>Buffered Charcoal east Extract Agar</i> )	<i>Legionella</i> spp., <i>Tatlockia</i> spp., <i>Fluriobacter</i> spp.	Mieszanina antybiotyków: cefamandol, polimyksyna B, anizomycyna	Chlorowodorek L-cysteiny, kwas $\alpha$ -ketoglutarynowy, pirofosforan żelaza, wyciąg drożdżowy, węgiel drzewny
<b>Agar Bordeta-Gengou</b> (B-G)	<i>Bordetella</i> spp.	Metycylina, cefaleksyna	Krew końska lub barania, wyciąg z ziemniaków, glicerol
<b>Agar BCSA</b> (ang. <i>Burkholderia cepacia Selective Agar</i> )	<i>Burkholderia cepacia</i>	Fiolet krystaliczny, polimyksyna B, gentamycyna, wankomycyna	Pepton, laktoza, sacharoza
<b>Podłoże CCD A</b> (ang. <i>Charcoal, Cefoperazone, Deoxycholate Agar</i> )	<i>Campylobacter</i> spp. – kolonie wypukłe ( <i>C. jejuni</i> – możliwy wzrost mgławicowy)	Deoksyholan sodu, cefoperazon, amfoterycyna B	Aktywowany węgiel drzewny, siarczan żelaza (II), pirogronian sodu
<b>Bulion SF</b> (ang. <i>Selenite F Broth</i> )	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.	Selenin sodowy (wzmaga wzrost <i>Salmonella</i> i <i>Shigella</i> )	Hydrolyzат kazeiny, laktoza

Tabela Ia – c.d.

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Pozostałe istotne składniki
<b>Podłoże SS</b> (Salmonella- -Shigella agar)	<i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp. – kolonie bezbarwne, szczepy <i>Salmonella</i> wytwarzające H <sub>2</sub> S – z zaczernionym środkiem	Sole kwasów żółciowych, cytrynian	Laktoza (do odróżniania pałeczek laktozododatnich), tiosiarczan sodu
<b>Podłoże Simmons</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> zdolne do wykorzystywania cytrynianu jako źródła węgla – kolonie niebieskie	Cytrynian sodowy, błękit bromotymolowy	Siarczan amonowy
<b>Podłoże z cetrimidem</b>	<i>Pseudomonas</i> spp.	Cetrimid	Enzymatyczny hydrolyzат żelazny
<b>Półpłynne podłoże Fletcher</b>	<i>Leptospira</i> spp. – zmętnienie górnjej warstwy pożywki	Pepton, surowica królicza (wspierają wzrost <i>Leptospira</i> )	Wyciąg mięsny
<b>Podłoże BSK II</b> (Barboura-Stoenera- -Kelly'ego II)	<i>Borrelia</i> spp.	Bardzo wolny wzrost krętków (inkubacja do 3 miesięcy)	Ok. 60 składników, m.in. aminokwasy, witaminy, elektrolity, surowica królicza
<b>Agar CHAB</b> (ang. <i>Cysteine Heart Agar with Blood</i> )	<i>Francisella tularensis</i>	Zhemolizowana krew barania	Wyciąg sercowo-mózgowy i chlorowodorek cysteiny

Tabela I b

Wybrane podłoża selektywne (wybiórczo-namnażające) dla bakterii Gram-dodatnich

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Pozostałe istotne składniki
<b>Agar CNA</b> (ang. <i>Colistin Nalidixic Acid Agar</i> )	Bakterie Gram-dodatnie (gł. <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Listeria</i> spp.)	Kolistyna, kwas nalidyksowy	Krew barania
<b>Bulion LE</b> (ang. <i>Listeria Enrichment Broth</i> )	<i>Listeria</i> spp., ew. <i>Staphylococcus</i> spp.	Tiocyanian potasu lub chloro- wodorek akryflawiny, w modyfi- kacjach także: kolistyna, kwas nalidyksowy, cykloheksamid	Pepton, glukoza, witaminy
<b>PALCAM agar – agar selektywny wg Nettena</b> (ang. <i>Listeria Selective Agar Base</i> )	<i>Listeria</i> spp. – kolonie oliwkowo- zielone lub czarne, otoczone czarną strefą (rozkład eskuliny), ew. mannitolododatnie gronkowce (żółte)	Akryflawina, chlorek litu, antybiotyki (polimyksyna i ceftazydym)	Mannitol, eskulina, sole żelaza
<b>Agar CCF</b> (ang. <i>Cycloserine- -Cefoxitin-Fructose Agar</i> )	<i>Clostridium difficile</i> – kolonie żółte, przypominające matowe szkło na tle różowego podłoża, zapach końskiego nawozu	Cykloseryna, cefoksytyna	Fruktoza
<b>Podłoże Middlebrooka</b>	<i>Mycobacterium</i> spp.	Zieleń malachitowa, w systemach automatycznych także zestaw antybiotyków i chemioterapeutyków	Sole mineralne, glukoza, glicerol, albumina, kwas oleinowy, witaminy, czynniki wzrostowe i katalaza
<b>Podłoże Loewensteina-Jensena</b> (L-J)	<i>Mycobacterium</i> spp.	Zieleń malachitowa	Asparagina, glicerol, mąka ziemniaczana, jaja kurze
<b>Podłoże Stonebrinka</b>	<i>Mycobacterium</i> spp., w tym katalazoujemne, odporne na izoniazyd (INH)	Zieleń malachitowa	Pirogronian sodu, glicerol, mąka ziemniaczana, jaja kurze
<b>Podłoże Rogosa</b>	<i>Lactobacillus</i> spp.	pH 5,5	Pepton, wyciąg drożdżowy, glukoza, Tween 80, sole mineralne

## 4) Podłoża różnicujące (izolacyjne)

Podłoża różnicujące są odpowiednie dla wielu bakterii, jednak obecne w ich składzie czynniki różnicujące (inaczej: indykatory), umożliwiają ich rozróż-

nienie na podstawie identyfikacji określonych cech, np. hemolizy czy fermentacji danego cukru. Przykładowe podłoża izolacyjne wraz z ich najważniejszymi składnikami i grupami bakterii, do których

Tabela II  
Wybrane podłoża różnicujące (selektywne)

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Pozostałe istotne składniki
<b>Agar Columbia</b>	Bakterie wymagające, różnicowanie na podstawie typu hemolizy ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ )	Krew barania lub końska	Enzymatyczny hydrolizat kazeiny i tkanek zwierzęcych, wyciąg drożdżowy
<b>Agar CLED</b> (ang. <i>Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient Agar</i> )	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Enterococcus</i> spp. Bakterie laktozododatnie – kolonie żółte, zażółcenie podłoża; laktozoujemne – bezbarwne z ciemnoniebieską otoczką ( <i>Pseudomonas</i> spp. – brązowawy środek)	Laktoza	L-cysteina, mała ilość elektrolitów, błękit bromotymolowy
<b>Podłoże Kliglera</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> , brak fermentacji cukrów – zmiana barwy podłoża z łososiowej na czerwoną, fermentacja glukozy – zażółcenie części słupkowej (skos wtórnie łososiowy), fermentacja laktozy – utrzymujące się zażółcenie skosu i słupka, wytwarzanie CO <sub>2</sub> lub H <sub>2</sub> – unoszenie lub rozerwanie podłoża, wytwarzanie H <sub>2</sub> S – czarny strąk w części słupkowej	Glukoza, laktoza, tiosiarczan, jony żelaza, wskaźnik pH	Hydrolizat kazeiny i wyciąg z tkanek zwierzęcych
<b>Podłoże do obserwacji zdolności ruchu bakterii</b>	Bakterie urzęsione (ruchliwe) – wzrost w całej objętości podłoża, bakterie nieurzęsione (nieruchliwe) – wzrost w kanale wkłucia	0,3–0,4% agaru	Bulion odżywczy, w modyfikacji: 1% TTC (chlorek 3,2,5-trifenylo-tetrazoliowy – ciemnoczerwone zabarwienie ułatwia określenie strefy wzrostu)
<b>Podłoże Loefflera</b>	Bakterie wymagające, <i>Corynebacterium</i> spp. – rosną szybciej niż pozostałe, wytwarzają liczne ziarna metachromatyczne	Surowica końska	Bulion wzbogacony, glukoza
<b>Podłoże płynne Stuarta</b>	Bakterie wytwarzające ureazę – zmiana barwy podłoża z żółtej na różowoczerwoną, bakterie niewytwarzające ureazy – brak zmiany barwy	Mocznik (2%) i czerwień fenolowa	Ekstrakt drożdżowy
<b>Agar Christensena</b>	Bakterie wytwarzające ureazę – zmiana barwy podłoża z żółtej na różowoczerwoną w ciągu kilku godzin ( <i>Proteus</i> spp.) lub dni ( <i>Klebsiella</i> spp.), bakterie nie wytwarzające ureazy – brak zmiany barwy	Mocznik (2%) i czerwień fenolowa	Pepton, dekstroza

wzrostu są przystosowane, przedstawiono w tabel II [2, 4, 17, 21, 23].

#### 5) Podłoża wybiórczo-różnicujące

Podłoża tego typu łączą właściwości pożywek różnicujących i selektywnych, tzn. umożliwiają różnicowanie określonych rodzajów/gatunków bakterii oraz hamują wzrost flory towarzyszącej. Wybrane podłoża wybiórczo-izolacyjne wraz z ich najważniejszymi składnikami i grupami bakterii, do których wzrostu są przeznaczone, przedstawione zostały w tabelach III a i III b [2, 4, 11, 17, 21].

#### 6) Podłoża chromogenne

Podłoża chromogenne wydzielone zostały jako odrębna grupa ze względu na to, że mogą mieć one właściwości wybiórczo-różnicujące lub też wybiórczo-namnażające. Charakteryzują się dodatkiem substratów,

które ulegając hydrolizie pod wpływem wytwarzanych przez bakterie enzymów, przekształcane są do barwnych produktów. Oczekiwaną cechą substratów chromogennych jest tworzenie produktów, które nie dyfundują do podłoża, co jest szczególnie istotne w wykrywaniu patogenów w kulturach mieszanych. W teorii, flora towarzysząca na pożywkach chromogennych powinna tworzyć bezbarwne kolonie lub jej wzrost powinien być całkowicie zahamowany. W skład podłoża często wchodzi kilka substratów chromogennych, co umożliwia rozróżnienie na jednym podłożu chromogennym kilku rodzajów/gatunków bakterii jednocześnie [1, 12].

Często spotykanymi substratami w podłożach komercyjnych są indoksylny i jego chloropochodne, które mogą być przekształcane w wiele barwnych związków. Spontaniczna dimeryzacja cząsteczek indoksylnego w obecności tlenu powoduje tworzenie barwnika indygo.

Tabela III a  
Wybrane podłoża wybiórczo-różnicujące dla bakterii Gram-ujemnych

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Czynniki różnicujące
<b>MacConkey agar</b>	<i>Enterobacteriaceae</i> laktozododatnie – kolonie różowe, laktozoujemne – kolonie bezbarwne	Sole żółciowe, fiolet krystaliczny	Laktoza, czerwień obojętna
<b>Podłoże HE</b> (ang. <i>Hektoen Enteric Agar</i> )	Bakterie nie fermentujące żadnego cukru ( <i>Shigella</i> , <i>Providencia</i> , <i>Morganella</i> ) – kolonie zielone, ale wytwarzające H <sub>2</sub> S ( <i>Salmonella</i> , <i>Proteus mirabilis</i> ) – zielone z czarnym środkiem, fermentujące przynajmniej jeden cukier ( <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Serratia</i> i <i>Shigella sonnei</i> ) – żółte z różową/pomarańczową strefą wokół, fermentujące cukry i wytwarzające H <sub>2</sub> S ( <i>Proteus vulgaris</i> ) – żółte z czarnym środkiem, ew. <i>Vibrio cholerae</i> – kolonie łososiowożółte	Sole żółciowe	Laktoza, sacharoza, salicyna, błękit tymolowy, fuksyna kwaśna
<b>Agar XLD</b> (ang. <i>Xylose Lysine Desoxycholate Agar</i> )	<i>Salmonella</i> spp. – kolonie czerwone z czarnym środkiem, <i>Shigella</i> spp. – kolonie czerwone, pozostałe <i>Enterobacteriaceae</i> – kolonie żółte, zażółcenie podłoża	Dezoksycholan sodu	Ksyloza, lizyna, czerwień obojętna
<b>Podłoże Wilsona-Blaira</b>	<i>Salmonella</i> Typhi – kolonie czarne z metalicznym połyskiem, czarne zabarwienie podłoża, <i>Salmonella</i> Enteritidis – kolonie czarne, bez połysku, czarne zabarwienie podłoża, pozostałe <i>Salmonella</i> – kolonie jasnozielone, brak zabarwienia podłoża, wzrost pozostałych pałeczek jelitowych silnie zahamowany, ew. drobne, brunatne kolonie	Zieleń brylantowa, siarczyn bizmutu	Siarczan żelaza, siarczyn bizmutu
<b>Bulion Schaedlera</b>	Bakterie beztlenowe o wysokich wymaganiach odżywczych, np. z rodzaju <i>Bacterioides</i> , <i>Prevotella</i> , <i>Porphyromonas</i> , <i>Fusobacterium</i> , fermentacja cukru – zmiana barwy purpury bromokrezolowej na żółtą	Filochinon (witamina K1), L-cystyna	1% dodatek wybranego cukru, purpura bromokrezolowa (nakraplana na wyrosłe kolonie)
<b>Podłoże EMB</b> (ang. <i>Eosine Methylene Blue</i> )	<i>Enterobacteriaceae</i> Bakterie fermentujące laktozę i sacharozę (np. <i>Escherichia</i> ) – kolonie zielonkawoczarne z metalicznym połyskiem, słabo fermentujące – kolonie fioletowe, laktozoujemne – bezbarwne lub o barwie podłoża	Barwniki anilinowe: eozyna, błękit metylenowy	Laktoza, sacharoza
<b>Podłoże TCBS</b> (ang. <i>Thiosulfate Citrate Bile Salts Sucrose Agar</i> )	Przecinkowce fermentujące sacharozę ( <i>V. cholerae</i> , <i>V. alginolyticus</i> ) – kolonie gładkie, żółte z przezroczystymi brzegami, niefermentujące sacharozę ( <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. vulnificus</i> ) – kolonie niebieskozielone	Wysokie pH, żółć, sole żółciowe	Sacharoza
<b>Agar CIN</b> (ang. <i>Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin Agar</i> )	<i>Yersinia enterocolitica</i> – kolonie z jasnoróżowym lub czerwonym środkiem i bezbarwnym brzegiem (tzw. „bycze oko”), <i>Plesiomonas shigelloides</i> – kolonie bezbarwne, ew. drobne kolonie <i>Serratia</i> spp., <i>Citrobacter</i> spp. i <i>Enterococcus</i> spp.	Cefsulodyna, irgasan, nowobiocyna	Mannitol, fiolet krystaliczny, czerwień obojętna
<b>Podłoże BBE</b> (ang. <i>Bacterioides Bile Esculin</i> )	<i>Bacterioides fragilis</i> – ciemne kolonie z czarnobrązową strefą zmętnienia (kompleks eskuletyny i żelaza)	Żółć, gentamycyna	Eskulina, cytrynian żelazowo-amonowy

Samo chlorowcowanie indoksyłu także ma duży wpływ na powstałą barwę, np. 5-bromo-4-chloro-indoksył jest zielononiebieski, a 5-bromo-6-chloro-indoksył intensywnie różowy. Drugą grupą popularnych substratów chromogennych są chelatory metali, np. eskulina czy 8-hydroksychinon. Eskulina jest substratem dla β-glukozydazy i pod jej wpływem przekształcana jest do eskuletyny (6,7-dihydroksykumaryny). Zarówno

eskuletyna, jak i glikozydy 8-hydroksychinonu tworzą czarnobrązowe chelaty żelaza [12].

Podłoża chromogenne stosowane są do różnicowania, izolacji, identyfikacji wstępnej – w określonych przypadkach identyfikacja może być uznana za ostateczną, np. *S. agalactiae* na podłożu Granada – oraz wykrywania mechanizmów oporności w diagnostyce zakażeń i testach przesiewowych w nadzorze epi-

Tabela III b  
Wybrane podłoża wybiórczo-różnicujące dla bakterii Gram-dodatnich

Nazwa	Bakterie	Czynniki wybiórcze	Czynniki różnicujące
<b>Podłoże Chapmana</b>	<i>Staphylococcus</i> spp. – wytwarzanie pigmentu (zwłaszcza <i>S. aureus</i> ), nakropienie 0,004% błękitu bromotymolowego – zabarwienie podłoża wokół gronkowców rozkładających mannitol na żółto, nakropienie nasyconego roztworu siarczanu amonowego – zmętnienie podłoża, strefy przejśnienia wokół <i>S. aureus</i>	NaCl (7,5%), azydek sodu (65 mg/l)	Mannitol, kazeina
<b>Podłoże z mannitolem i NaCl</b>	<i>Staphylococcus</i> spp., kolonie rozkładające mannitol są żółte, podłoże zmienia barwę z lososioworóżowej na żółtą	NaCl (7,5%)	Mannitol, czerwień fenolowa
<b>Podłoże Baird-Parker</b>	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>S. aureus</i> – kolonie czarne (silna redukcja tellurynu), pozostałe gatunki – szare. Zmętnienie wokół kolonii (przy dodatku żółtka jaja najczęściej <i>S. aureus</i> , przy osoczu – gronkowce koagulazododatnie)	Chlorek litu, telluryn sodu (hamują wzrost innych bakterii), pirogronian i glicyna (stymulują wzrost gronkowców)	Żółtko jaja kurzego lub osocze królicze
<b>Podłoże z krwią i azydkiem</b>	<i>Streptococcus</i> spp. – kolonie szarawe, bardzo drobne, <i>Staphylococcus</i> spp. – kolonie białoszare, większe	Azydek sodu	Krew barania
<b>Podłoże Tinsdale'a</b>	<i>Corynebacterium</i> spp. – kolonie czarne lub szare, u <i>C. diphtheriae</i> , <i>C. ulcerans</i> i <i>C. pseudotuberculosis</i> – brązowe zabarwienie podłoża wokół kolonii	Telluryn potasowy	Telluryn sodowy, tiosiarczan sodowy

miologicznym. Zastosowanie podłoży chromogennych pozwala na szybsze podjęcie działań mających na celu ograniczenie rozprzestrzeniania się patogenu i rozpoczęcie leczenia pacjenta. Mimo, że same podłoża chromogenne są droższe od klasycznych, ich użycie przyczynia się do obniżenia całkowitych kosztów diagnostyki poprzez ułatwienie rozpoznawania patogenów w hodowlach mieszanych, zmniejszenie liczby niezbędnych podłoży i testów biochemicznych oraz ogólne uproszczenie i skrócenie procesu identyfikacji [1, 4, 18].

Poszczególne rodzaje podłoży chromogennych dedykowane są określonym gatunkom lub grupom drobnoustrojów, np. do wykrywania *E. coli* używane jest m.in. podłoże TBX (Tryptone Bile X-Glucuronide Agar), na którym pod wpływem działania  $\beta$ -glukuronidazy jej kolonie przyjmują barwę zielono-niebieską lub podłoże Rainbow Agar O157 dedykowane *E. coli* O157:H7. Przykładowe podłoża chromogenne dla *Salmonella* spp. to Rambach agar, SM-ID (ang. *Salmonella* Detection and Identification Medium), podłoże ABC ( $\alpha$ - $\beta$  chromogenic medium) i BBL CHROM-agar *Salmonella* [12, 22].

Podłożem do szybkiej izolacji i wstępnej identyfikacji większości patogenów układu moczowego jest np. HiCrome UTI agar. Różowa lub czerwona barwa kolonii na tym podłożu świadczy o obecności bakterii wytwarzających  $\beta$ -galaktozydazę (*E. coli*), niebieska –  $\beta$ -glukozydazę (bakterie z rodzajów *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Enterobacter* i *Serratia*), natomiast brązowa, z barwnikiem dyfundującym do podłoża – deami-

nazę tryptofanu (*Proteus* spp.). Białe kolonie tworzone są przez *S. saprophyticus*, a bezbarwne przez *Pseudomonas* spp. [1].

Do izolacji *S. aureus* używane są m.in. CHROMagar *S. aureus*, na którym gronkowiec złocisty tworzy kolonie różowe lub fioletowe, a pozostałe gronkowce – białe lub niebieskie i *S. aureus* ID, na którym wytwarzający  $\alpha$ -glukozydazę *S. aureus* barwi się na zielono, podczas gdy inne gronkowce – wytwarzające  $\beta$ -glukozydazę – wyrastają w postaci białych lub różowych kolonii. Osobną grupę stanowią podłoża dla szczepów metacylioopornych, np. ORSAB (ang. Oxacillin Resistance Screening Agar), CHROMagar MRSA, MRSA ID i MRSA Select [12].

Niektóre podłoża chromogenne, np. CHROMagar *Yersinia* (CAY), pozwalają odróżnić szczepy patogene od niepatogenych. W tym przypadku kolonie szczepów patogenych *Yersinia enterocolitica* mają barwę jasnofioletową, a niepatogenych – niebieską z metalicznym połyskiem, podobnie jak kolonie pozostałych *Enterobacteriaceae*, których wzrost nie został zahamowany. Reakcje chromogenne nakierowane są na kilka enzymów, m.in.  $\beta$ -glukozydazę [8, 16].

#### 7) Podłoża do badania lekowrażliwości

Ważnym etapem diagnostyki bakteriologicznej jest oznaczanie lekowrażliwości bakterii. Można ją oceniać metodą dyfuzyjno-krążkową na podstawie pomiaru wielkości strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z antybiotykiem, metodą pasków z gradientem stężeń



(oznaczanie wartości MIC [mg/l]), metodą rozcieńczeniową w bulionie lub agarze, czy przy użyciu komercyjnych systemów automatycznych (oznaczanie wartości MIC w zakresie punktów odcięcia). Do badania lekowrażliwości bakterii tlenowych stosuje się Mueller-Hinton agar, w którego skład wchodzi m.in. wyciąg wołowy, hydrolizat kazeiny i skrobia. W przypadku badania lekowrażliwości wymagających bakterii tlenowych wykorzystywany jest Mueller-Hinton agar z 5% dodatkiem krwi końskiej i  $\beta$ -NAD (20 mg/l). Lekowrażliwość wymagających bakterii beztlenowych najczęściej badana jest na agarze Brucella, zawierającym enzymatyczny hydrolizat kazeiny i tkanek zwierzęcych, odwłóknioną krew końską (10%), witaminę K i heminę. W niektórych laboratoriach stosowane jest w tym celu także podłoże Wilkins-Chalgren. W jego składzie obecne są wyciągi z mięsa i drożdży oraz menadion (witamina K3) i hemina (czynnik X) [4, 17, 18].

## 5. Podsumowanie

Podłoża bakteriologiczne można podzielić ze względu na skład chemiczny, konsystencję czy zawartość substancji odżywczych, jednak ze względów praktycznych najczęściej wykorzystywany w diagnostyce mikrobiologicznej jest podział podłoży pod kątem ich zastosowania. Istnieje szereg podłoży bakteriologicznych, które dedykowane są danym grupom bakterii, a także przeznaczonych do posiewu odpowiednich materiałów klinicznych. Na szczególną uwagę zasługują podłoża chromogenne, które upraszczają i przyspieszają proces identyfikacji bakterii, dzięki tworzeniu barwnych produktów hydrolizy – charakterystycznych dla określonych grup bakterii.

Przy planowaniu badań w laboratorium należy uwzględnić wszystkie rodzaje podłoży. Ich dobór powinien być adekwatny do zakresu prowadzonych badań, by przy możliwie najmniejszej liczbie podłoży uzyskiwać wszystkie niezbędne informacje. Zwykle jest to kwestia indywidualna, związana z charakterem działalności danego laboratorium, jednak w niektórych gałęziach przemysłu, np. w przemyśle farmaceutycznym czy spożywczym, obowiązujące normy i przepisy ściśle określają wymagany asortyment podłoży.

Niezmiernie istotne są także zagadnienia związane z prawidłowym przygotowaniem i przechowywaniem podłoży. Mają one wpływ na jakość pożywek, a co za tym idzie, na ich przydatność do użycia i wiarygodność przeprowadzanych badań. Dlatego właśnie tak ważna jest kontrola jakości podłoży zarówno na etapie ich produkcji, jak i przed użyciem danej partii. Mimo ciągłego opracowywania nowych metod diagnostycznych, wyhodowanie bakterii z badanego materiału pozostaje „złotym standardem” w diagnostyce bakteriologicznej.

## Piśmiennictwo

1. Akter L., Haque R., Salam M.A.: Comparative evaluation of chromogenic agar medium and conventional culture system for isolation and presumptive identification of uropathogens. *Pak. J. Med. Sci.* **5**, 1033–1038 (2014)
2. Bulanda M., Zawilińska B. i wsp.: Bakteriologia szczegółowa (w) Mikrobiologia lekarska, red. P.B. Heczko, M. Wróblewska, A. Pietrzyk, PZWL, Warszawa, 2014, s. 100–236
3. Campbell L.A., Kuo C.C.: Cultivation and laboratory maintenance of *Chlamydia pneumoniae*. *Curr. Protoc. Microbiol.* doi: 10.1002/9780471729259.mc11b01s12 (2009)
4. De la Maza L.M., Pezzlo M.T., Shigei J.T., Tan G.L., Peterson E.M.: Color Atlas of Medical Bacteriology, 2nd Edition, ASM Press, USA, 2013
5. Fol M., Olek J., Kowalewicz-Kulbat M., Druszczyńska M., Rudnicka W.: Prątki niegruźlicze: *M. marinum*, *M. ulcerans*, *M. xenopi* – krótka charakterystyka drobnoustrojów i zmian klinicznych przez nie wywoływanych. *Postępy Hig. Med. Dośw.* **65**, 574–583 (2011)
6. Green L.H.: Practical Handbook of Microbiology, (w) Culturing and Preserving Microorganisms, 2nd Edition, red. E. Goldman, L.H. Green, CRC Press, USA, 2009, s. 31–35
7. Jarvis B., Druggan P. i wsp.: Handbook of Culture Media for Food and Water Microbiology, 3rd Edition, red. J.E.L. Corry, G.D.W. Curtis, R.M. Baird, Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2011
8. Karhukorpi J., Paivanurmi M.: Differentiation of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A from pathogenic *Yersinia enterocolitica* biotypes by detection of  $\beta$ -glucosidase activity: comparison of two chromogenic culture media and Vitek2. *J. Med. Microbiol.* **63**, 34–37 (2014)
9. M22-A3:2004, Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard – Third Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute
10. Parija S.C.: General Microbiology (w) Textbook of Microbiology & Immunology, red. S. Nasim, Elsevier, India, 2009, s. 3–88
11. Park S.H., Ryu S., Kang D.H.: Development of an Improved Selective and Differential Medium for Isolation of *Salmonella* spp. *J. Clin. Microbiol.* **10**, 3222–3226 (2012)
12. Perry J.D., Freydiere A.M.: The application of chromogenic media in clinical microbiology. *J. Appl. Microbiol.* **30** (5), 2046–2055 (2007)
13. PN-EN 12322:2005, Wyroby medyczne do diagnostyki *in vitro*. Pożywki mikrobiologiczne – kryteria oceny działania pożywek mikrobiologicznych, Polski Komitet Normalizacyjny
14. PN-EN ISO 15189:2013-05, Laboratoria medyczne – wymagania dotyczące jakości i kompetencji, Polski Komitet Normalizacyjny
15. PN-EN ISO 17025:2005/Ap1:2007, Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących, Polski Komitet Normalizacyjny
16. Renaud N., Lecci L., Courcol R.J., Simonet M., Gaillot O.: CHROMagar *Yersinia*, a New Chromogenic Agar for Screening of Potentially Pathogenic *Yersinia enterocolitica* Isolates in Stools. *J. Clin. Microbiol.* **4**, 1184–1187 (2013)
17. Szewczyk E.M., Dudkiewicz B., Kwaszewska A., Lisiecki P., Różalska M., Sobiś-Glinkowska M., Szarapińska-Kwaszawska J., Szemraj J., Szemraj M., Wysocki P.: Podłoża, próby i metody diagnostyczne, Schematy diagnostyczne (w) Diagnostyka mikrobiologiczna, red. E.M. Szewczyk, PWN, Warszawa, 2013, s. 404–459
18. Stefaniuk E.: Medyczne laboratorium diagnostyczne. Metodyka i aparatura (w) Metody stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej

- logicznej, red. B. Solnica, K. Sztefko, PZWL, Warszawa, 2015, s. 305–333
19. Strzyż M., Wendt U.: Zapewnienie jakości i kontrola jakości pożywek mikrobiologicznych w laboratorium medycznym. *Diagn. Lab.* **2**, 187–197 (2012)
20. Vandepitte J., Verhaegen J., Engbaek K., Rohner P., Piot P., Heuck C.C.: Zapewnienie jakości badań bakteriologicznych (w) Podstawowe procedury laboratoryjne w bakteriologii klinicznej, red. A. Przondo-Mordarska, PZWL, Warszawa, 2005, s. 12–28
21. Vandepitte J., Verhaegen J., Engbaek K., Rohner P., Piot P., Heuck C.C.: Najważniejsze podłoża i odczynniki (w) Podstawowe procedury laboratoryjne w bakteriologii klinicznej, red. A. Przondo-Mordarska, PZWL, Warszawa, 2005, s. 157–170
22. Verhaegen B., Reu K.D., Heyndrickx, De Zutter L.: Comparison of Six Chromogenic Agar Media for the Isolation of a Broad Variety of Non-O157 Shigatoxin-Producing *Escherichia coli* (STEC) Serogroups. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **12**, 6965–6978 (2015)
23. Winn Jr. W., Allen S., Janda W., Koneman E.W., Procop G., Schreckenberger, Woods G.: Charts (w) Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6<sup>th</sup> Edition, red. E.W. Koneman, Lippincott Williams & Wilkins, USA, 2006, s. 1442–1461