

## Сравнение среды CHROMagar Salmonella с ксилозо-лизино-дезоксихолатным и сальмонеллезно-шигеллезным агаром при выделении штаммов Salmonella из образцов кала

Susan Maddocks\*, Tom Olma, Sharon Chen

Центр Инфекционных заболеваний и микробиологической лабораторной диагностики, Институт клинической патологии и медицинских исследований, Клиника Westmeal, New South Wales, Австралия

Получено 2 января 2002/принято 1 февраля 2002

Проведено сравнение роста и внешнего вида колоний 115 изолятов Salmonella при культивировании на новой среде CHROMagar Salmonella и ксилозо-лизино-дезоксихолатным агаром (XLD), сальмонелло-шигеллезном агаре (SS), а также на агаре Hektoen enteric (HEA). Проведено проспективное сравнение среды CAS со средами XLD и SS на предмет выявления и предположительная идентификации штаммов Salmonella в 500 клинических образцах кала. Все изоляты Salmonella на среде CAS образовывали розово-фиолетовые колонии. Из клинических образцов было выделено 9 штаммов Salmonella. Чувствительность в отношении выявления сальмонелл при первичном посеве на среду CAS и комбинацию сред XLD и SS после обогащения составляла 100%. Специфичность в отношении выявления сальмонелл при первичном посеве на среду CAS (83%) достоверно превышала показатели ( $P < 0.0001$ ) при первичном посеве на комбинацию сред XLD и SS (55%) (28% разница; 95% ДИ 23.0 – 34%). 29 микроорганизмов, не относящихся к сальмонеллам, также образовывали розово-фиолетовые колонии на среде CAS – в том числе 17 *Candida* spp. (59%) и 8 *Pseudomonas* spp. (28%). Их было просто отличить от сальмонелл по морфологии колоний, микроскопическим показателям и результатам теста на оксидазу. Для дифференциации одного биохимически инертного изолята *Escherichia coli* потребовалось проведение дополнительных анализов. Доказан высокий уровень чувствительности и специфичности среды CAS, а уменьшение сроков идентификации позволяет сэкономить средства. Среду можно рекомендовать для проведения первичной изоляции Salmonella spp. из образцов кала. Прочие среды (например, XLD) необходимы для выявления Shigella spp.

---

Инфекции, вызванные представителями Salmonella, в том числе – Salmonella enterica серовара Typhi – продолжают быть основной проблемой для здравоохранения во всем мире. Возможно выявление изолятов Salmonella в кале напрямую, при помощи ПЦР – тем не менее, для большинства клинических лабораторий эта техника все еще не доступна (13). Наиболее надежным методом выявления остаётся выделение организма путем культивирования – этот метод позволяет идентификацию микроорганизмов, и проведение теста на чувствительность к противомикробным препаратам. Оба эти аспекта чрезвычайно важны для контроля заболевания. Существует ряд селективных сред для выявления Salmonella spp. в образцах кала, основанных на визуализации простых биохимических особенностей микроорганизмов – например, неспособности к ферментации лактозы, и

образованию сульфида водорода. Подобные среды отличаются невысокой трудоемкое дополнительное тестирование, позволяющее исключить колонии микроорганизмов с аналогичными биохимическими свойствами.

Недавно в практику была внедрена новая среда, позволяющая выявление *Salmonella* spp. за счет инкорпорации хромогенного субстрата (2, 8, 10). По сравнению с селективными средами, которые используются в настоящее время – например, агаром Hektoen enteric (HEA), хромогенные среды обладают большим уровнем специфичности, но меньшим уровнем чувствительности, и чаще дают ложноотрицательные результаты (2, 8, 11, 12). Например, хромогенная среда Рамбах агар высоко специфична в отношении сальмонелл, однако не позволяет выявлять *S. enterica* серовар Typhi (10). Таким образом, многие среды невозможно рекомендовать для первичного посева образцов кала в рамках скрининга на *Salmonella* spp. (2, 8, 11, 12). CHROMagar Salmonella (CAS) – новая селективная хромогенная среда, которая позволяет выявлять сальмонеллы – те образуют колонии розово фиолетового цвета после 18 – 24 часов инкубации; в то время как прочие представители семейства Enterobacteriaceae образуют синие либо бесцветные колонии (Информация о продукте – CHROMagar Salmonella; CHROMagar Microbiology, France). Чувствительность ранней версии среды CAS при выявлении сальмонелл соответствовала чувствительности среды HEA при первичном посеве после обогащения культуры на бульоне (O. Gaillot, C. maruejolis, P. Di Camillo, N. Fortineau, R. Courcot, C. Savage Abstr 98th Gen Meet Am Soc Microbiol abstr C-445, 205, 1998). Сообщалось о ложноположительных результатах при посеве *Pseudomonas aureginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Candida* spp. Процент ложноположительных результатов при посеве *P. aureginosa* значительно снижался при добавлении анти-бактериального вещества цефзолудина (4). Теперь доступна новая версия среды CAS, в которой эти недостатки в значительной степени исправлены. Опыт применения среды в рамках скрининга изолятов *Salmonella* ограничен, а целесообразность ее применения для рутинного исследования образцов стула не определена.

В рамках данного исследования мы сравнивали культуры *Salmonella*, *Shigella* и прочих кишечных микроорганизмов, а также *Candida* при культивировании на среде CAS, с колониями, пророщенными на сальмонеллезно-шигеллезном агаре (SS), ксилозо-лизино-дезоксихолатном агаре (XLD) и среде HEA (энтеральная среда, которая часто используется в Австралии). В рамках второй фазы исследования мы оценивали чувствительность и специфичность среды CAS на примере 500 клинических образцов кала, и сравнивали их с показателями стандартного протокола посевов на среды SS и XLD, с обогащением на селенитовом бульоне. Кроме того, мы сравнили трудоемкость и показатели стоимости/эффективности двух этих методов.

## **Материалы и Методы**

### **Среда культивирования**

Среда CAS была предоставлена Dutec Diagnostics, Croydon, New south Wales, Australia. Материал поставлялся в виде белого порошка в банках, объемом, достаточном для приготовления 250 мл среды. Приготовление проводилось в соответствии с инструкциями производителя. Порошок добавлялся в дистиллированную воду и растворялся путем медленного помешивания. После растворения порошка, смесь доводили до кипения, регулярно помешивая в течение 2-3 минут, вплоть до полного растворения зерен агара. Среда остывала до 48°C, после чего ее аккуратно размешивали для придания ей гомогенности, и разливали в стерильные чашки Петри диаметром 9 см, для высушивания. Чашки хранились в темном месте, при комнатной температуре, и далее использовались в течение недели. Среды SS, XLD, HEA готовились из коммерческой формы порошка SS (57 г/л воды, Oxoid, Australia, Heidelberg, Victoria, Australia), порошка XLD (53 г/л воды, Oxoid, Australia), порошка HEA (76 г/л воды, Oxoid, Australia). Перед использованием эти среды хранились при температуре 4°C. Селенитовый бульон приготавливался из коммерческой формы порошка (23 г/л воды, Difco, Becton-Dickinson, North Ryde, New South Wales, Australia).

### **Изоляты**

В рамках начальной фазы исследования было задействовано 115 изолятов из банка Salmonella, представителей 8 сероваров, ранее изолированных из образцов кала человека. Образцы получены из коллекции культур Enteric Reference laboratory (ERL) (Таблица 1). Лаборатория входит в состав Центра инфекционных заболеваний и микробиологической лабораторной диагностики (CIDMLS) при Клинике West Mead, и является референтным центром диагностики для штата Новый Южный Уэльс. Серовары Salmonella, за исключением тех, что провоцируют кишечную лихорадку, репрезентативны в отношении эпидемиологии штата Новый Южный Уэльс. В состав 84 изолятов входят: Shigella sonnei (n = 9 изолятов), Shigella flexneri (n = 5), Yersinia enterocolitica (n = 3), Citrobacter freundii (n = 9), Hafnia alvei (n = 2), Plesiomonas shigelloides (n = 1), Aeromonas spp. (n = 2), Proteus spp. (n = 5), Providencia sp. (n = 1), Shewanella spp. (n = 2), Enterococcus spp. (n = 4), P. aeruginosa (n = 10), Escherichia coli (n = 6), Candida spp. (n = 15), Staphylococcus aureus (n = 10); кроме того, использовано 5 изолятов Staphylococcus aureus, резистентных к метициллину (MRSA). Все изоляты высевались на агар с лошадиной кровью, и инкубировались в течение ночи с доступом воздуха при температуре 37°C для обеспечения чистоты. Суспензия готовилась из свежепросохших колоний на основе стерильного физиологического раствора; конечная мутность суспензии – 0.5 по стандарту McFarland. По 500 мл суспензии высевалось на среды CAS, XLD, SS, HEA при помощи репликатора Steer. Среды инкубировались при 37°C, с доступом воздуха в течение ночи; анализ проводился наутро, а также спустя 48 часов инкубации.

### **Клинические образцы**

В рамках второй фазы исследования получено 500 образцов кала госпитализированных и не-госпитализированных пациентов с диареей. Образцы культивировались на плотных средах CAS, XLD и SS; определение проводилось после культивации в течение ночи, с

доступом воздуха, при температуре 37°C. После обогащения на селенитовом бульоне, в рамках рутинной лабораторной практики проводилась суб-культивация аликвот на средах SS и XLD в течение 18-24 часов. Все среды оценивались еще раз, спустя 24 часа при инкубации в условиях, описанных выше. При использовании среды CAS обогащение не производилось.

### **Предварительная идентификация**

В рамках первой части исследования тип использованных изолятов был известен. Учитывались цвет и внешний вид колоний различных видов *Salmonella*, выращенных на среде CAS, проводилось сравнение с показателями при выращивании на других средах. В рамках второй фазы исследования колонии, подозрительные на *Salmonella*, определялись следующим образом: при выращивании на среде CAS – розово-фиолетовые колонии, при выращивании на среде SS – прозрачные колонии с темным центром (либо без него); при выращивании на среде XLD – прозрачные колонии с темным центром (либо без него). Во всех случаях оценка особенностей колоний проводилась после 18-48 часов инкубации. Все среды оценивались одним исследователем (S.M.).

### **Подтверждающие тесты и окончательная идентификация**

Колонии, выращенные на средах SS и XLD и подозрительные на *Salmonella* обрабатывались следующим образом: первоначально для всех подозрительных колоний проводился оксидазный тест (непрямая процедура по Kovac) (7). Оксидазо-негативные изоляты высевались на среду с содержанием мочевины и инкубировались при температуре 37°C в течение 24 часов. Оксидазо- и уреазо- негативные изоляты тестировались с использованием панели биохимических анализов для выявления *Salmonella* и прочих кишечных патогенов. Эта панель сочетает ночную инкубацию или культивирование (с доступом воздуха) при 37°C на пептонной воде с содержанием 1% глюкозы, о-нитрофенил-β-D-галактопиранозидом, агаром с добавлением железа и лизина, железным агаром Kligler, агаром Sims, агаром macConkey. Образцы, подозрительные на *Salmonella* идентифицированные в рамках скрининговой программы (в условиях нашей лаборатории – также образцы *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*) направлялись в ERL на расширенное подтверждающее биохимическое и серологическое тестирование в соответствии со схемой Kauffman-White (6).

Обработка колоний, подозрительных на *Salmonella*, выращенных на среде CAS: для всех розово-лиловых колоний проводилась микроскопия влажного препарата и оксидазный тест (см. выше) – в целях исключения *Candida* и *Pseudomonas* spp., соответственно. Оксидазо-негативные изоляты и изоляты, негативные по данным микроскопии влажного препарата, оценивались с использованием идентификационной системы Vitek путем инокуляции на Грам-отрицательную идентификационную карту (Biomerieux, Baulkham Hills, New South Wales, Australia). Изоляты, идентифицированные как *Salmonella* spp. с помощью системы Vitek, а также не-идентифицированные изоляты направлялись в ERL для подтверждающего/дальнейшего тестирования.

## Результаты

### Оценка внешнего вида колоний референтных изолятов *Salmonella* при культивировании на различных селективных средах.

Все (100%) коллекционных изолята *Salmonella*, в том числе и представители сероваров Typhi и Paratyphi A при инкубации на среде CAS в течение 24 часов образовывали розово-лиловые колонии. На средах XLD, SS, HEA все сальмонеллы, не относившиеся к сероварам Typhi и Paratyphi образовывали характерные черные колонии (по причине выработки H<sub>2</sub>S). *S. enterica* серовара Typhi на средах SS и HEA образовывали прозрачные колонии, а на среде XLD – прозрачные с желтым венчиком. Изоляты серовара Paratyphi A на средах XLD, SS, HEA образовывали прозрачные колонии. Грам-отрицательные изоляты, не относившиеся к *Salmonella* (*Y. enterocolitica*, *H. alvei*, *Shigella*, *Plesiomonas*, *Morganella*, *Providencia*, *Shewanella spp.*; *C. freundii*, *Proteus spp.* (только H<sub>2</sub>S); *Aeromonas spp.* (только среда SS); *P. aeruginosa* (только среда XLD)) на указанных средах образовывали прозрачные и/или черные колонии. *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* на средах SS и HEA образовывали прозрачные колонии.

Изоляты, не относившиеся к *Salmonella spp.* и образовывавшие розово-фиолетовые колонии на среде CAS: *Aeromonas*, *Morganella*, *Providencia*, *Candida*, а также 1 из 10 изолятов *P. aeruginosa*. Все протестированные изоляты *E. coli* образовывали колонии синего цвета.

### Выявление *Salmonella* в образцах кала

В рамках второй фазы исследования изучались возможности применения среды CAS для первичного посева в рамках рутинной лабораторной практики и проводилось сравнение со стандартным протоколом изоляции кишечных патогенов. 9 *Salmonella spp.* были выделены из 500 образцов кала в течение 3 месяцев (Рисунок 1). В Таблице 2 представлено распределение сероваров. Все 9 изолятов были выявлены на среде CAS после 48 часов инкубации без обогащения. 6 из 9 (67%) изолятов после 24 часов инкубации образовывали типичные розово-фиолетовые колонии; 3 (33%) изолята окрашивались в типичный розово-фиолетовый цвет после 48 часов инкубации – первоначально они выглядели бесцветными (изоляты принадлежали к сероварам Typhi, Typhimurium, Virchow). При комбинировании сред SS и XLD было выявлено 6 из 9 *Salmonella spp.* при первичном посеве; остальные 3 были выявлены после обогащения.

Общая чувствительность обоих методов (только среда CAS без обогащения, либо комбинация сред SS и XLD с обогащением) составляла 100% (Таблица 3). Специфичность среды CAS была значительно выше (83%) по сравнению с комбинацией сред SS и XLD (специфичность 55%) (Таблица 4).

169 изолятов (34%) были классифицированы как потенциальные патогенны – по результатам культивирования на средах SS и XLD, но не CAS. Для исключения наличия энтеральных патогенов во всех случаях требовалось дополнительное биохимическое и серологическое тестирование продолжительностью 24-72 часа. 29 изолятов (6%) были классифицированы как потенциальные патогенны по результатам культивирования на среде CAS, но не на средах SS и XLD. 17 из 29 (59%) изолятов отнесены к *Candida spp.*:

образовывались небольшие (диаметр менее 2 мм) розово-пурпурные колонии, значительно отличавшиеся от колоний *Salmonella* spp. по морфологическим показателям (Рисунок 1D). Кроме того, отличия от сальмонелл подтверждались при микроскопии влажного препарата. 8 из 29 изолятов были идентифицированы как *Pseudomonas* spp., 1 изолят идентифицирован как *Aeromonas* sp. (все изоляты образовывали розово-пурпурные колонии с мутными венчиками; просто дифференцировались от *Salmonella* spp. по результатам оксидазного теста, Рисунок 1E). 2 изолята идентифицированы как *Proteus* spp. (оба изолята образовывали розово-пурпурные колонии с прозрачным венчиком). Для сравнения, ни одна из колоний сальмонелл не образовывала венчика. Только для одного изолята потребовалось дополнительное биохимическое тестирование – образец идентифицирован как биохимически неактивный изолят *E. coli*.

Большинство из 57 изолятов, идентифицированных как потенциально патогенные по данным культивирования на среде CAS и на комбинированной среде SS/XLD, удалось исключить из разряда энтеральных патогенов при помощи ряда простых биохимических тестов, микроскопии влажного препарата и оксидазного/уреазного тестов. 18 изолятов, образовывавших розовато-пурпурные колонии на среде CAS и прозрачные колонии либо колонии с темным центром на средах SS и XLD не удалось определить при помощи простых биохимических тестов – в данном случае они были идентифицированы как сальмонеллы при помощи системы Vitek, но в некоторых случаях такая идентификация была не вполне исчерпывающей. В отношении этих 18 изолятов было предпринято дополнительное биохимическое тестирование в целях точной идентификации. 9 из них оказались сальмонеллами, еще 9 относились к биохимически неактивным изолятам *E. coli* (Рисунок 1C). 1 изолят образовывал прозрачные колонии на среде SS, тем не менее, при помощи рутинного тестирования удалось опровергнуть его принадлежность к сальмонеллам. При культивировании на среде CAS изолят образовывал ярко-пурпурные колонии и был идентифицирован как *Serratia marcescens* (Рисунок 1 F).

Использование простых биохимических тестов, описанных выше при анализе всех изолятов, образовывавших розово-пурпурные колонии при культивации на среде CAS улучшает показатели специфичности до 96%, и уменьшает срок необходимый для идентификации с 48-72 часов (в настоящее время продолжительность рутинной идентификации составляет до 96 часов).

Таблица 1. Распределение сероваров в изоляте *S. enterica* полученном из банка культур

Серогруппа	Серовар	Кол-во изолятов
A	Paratyphi A	4
B	Typhimurium	64
B	Birkenhead	8
C1	Virchow	9
C1	Infantis	5
C2	Bovis morbificans	7
D	Enteritidis	3
D	Typhi	15

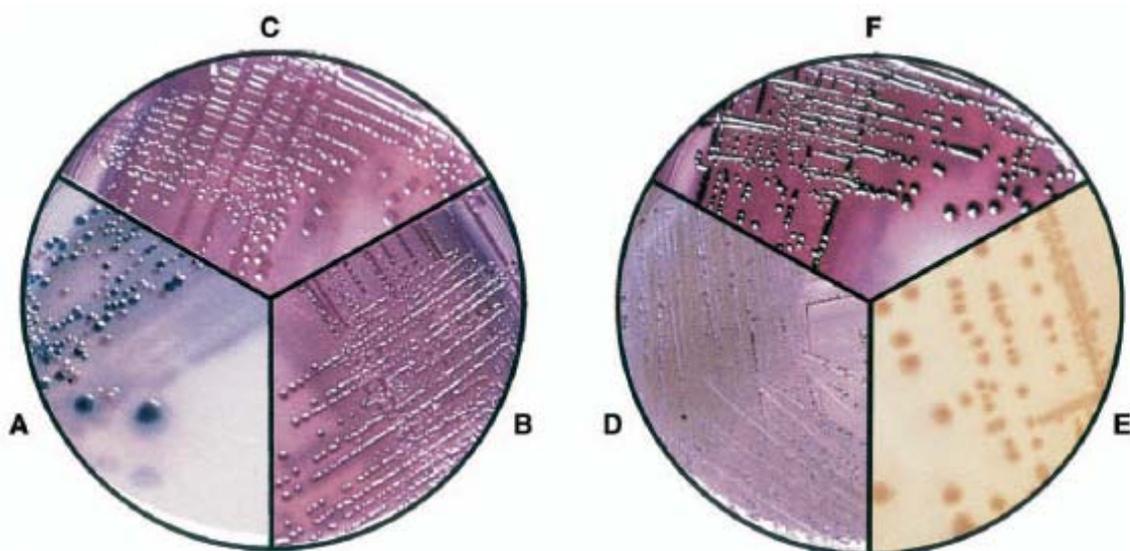


Рисунок 1

A – культивирование клинического образца кала на среде CAS – *Salmonella* spp. образуют розово-фиолетовые колонии, прочие кишечные бактерии образуют синие либо прозрачные колонии

B – Чистая культура *S. enterica*, серовар Typhi – культивирование на среде CAS

C – Чистая культура неактивного изолята *E. coli*, культивирование на среде CAS

D – Чистая культура *Candida* spp. – культивирование на среде CAS

E – Чистая культура *Pseudomonas* spp. - культивирование на среде CAS

F – Чистая культура *S. marcescens* - культивирование на среде CAS

Таблица 2. Распределение сероваров *S. enterica* выделенных из клинических образцов

Серогруппа	Серовар	Кол-во изолятов
B	Typhimurium	4
B	Reading	1
C1	Virchow	1
D	Typhi	3

Таблица 3. Чувствительность среды CAS – сравнение со средами SS и XLD – первичный посев и обогащение

Среда	Кол-во изолятов с ложноположительным результатом	Кол-во изолятов с ложноотрицательным результатом	Чувствительность (%)
CAS (48 часов)	9	0	100
SS + XLD первичный посев	6	3	67
SS + XLD С обогащением	9	0	100

Таблица 4. Специфичность среды CAS – сравнение с комбинацией сред SS и XLD

Среда	Кол-во изолятов с истинно-отрицательным результатом	Кол-во изолятов с ложно-положительным результатом	Специфичность (%)
CAS	414	77	83
SS и XLD	274	217	55

## Обсуждение

Результаты исследования свидетельствуют о целесообразности использования среды CAS как надежного и экономичного метода выявления и предварительной идентификации *Salmonella* spp. в клинических образцах кала. Это – первое исследование с применением новой формы CAS в указанных целях. Следует отметить простоту идентификации колоний *Salmonella* spp., которые окрашиваются в розово-лиловый цвет, в то время как колонии прочих представителей кишечной флоры остаются бесцветными либо окрашиваются в синий цвет. Методику просто внедрить в рутинную лабораторную практику. Нами зарегистрировано меньше ложноположительных случаев при использовании среды CAS, чем при использовании сред SS и XLD. Большинство изолятов удалось идентифицировать как *Salmonella* spp. с использованием недорогих тестов без значительных временных затрат.

Количество штаммов *Salmonella* выделенных из 500 образцов кала было сравнительно небольшим (1.8%). Эти показатели соответствуют уровню распространенности сальмонеллезных инфекций в Австралии (9).

В ходе первой фазы исследования нами доказано, что значительное число сальмонелл, выделенных у человека, способны к росту на агаре CAS; все сальмонеллы, в том числе – серовары Typhi и Paratyphi A можно определить по типичному розово-фиолетовому цвету колоний. Эти результаты отличаются от данных, полученных в исследованиях с использованием других специфичных хромогенных сред – например, Рамбах агара (3, 5, 11), модифицированной полу-плотной среды Rapoport-Vassiliadis (1, 12), а также среды с добавлением новобиоцина-бриллиантовой зелени – глицерола- лактозы (3, 11). Ранее сообщалось, что все указанные среды непригодны для выявления сероваров Typhi и Paratyphi A. Этот аспект важен как для клиницистов, так и для микробиологов, с учетом уровня заболеваемости и значимости этих возбудителей кишечной лихорадки для здравоохранения.

Сниженная чувствительность комбинированной среды SS и XLD (без обогащения) при первичном посеве кала была вполне прогнозируемой, поскольку известно, что при использовании традиционных техник обогащение способствует выявлению сальмонелл. Это особенно актуально для выявления носительства серовара Typhi *S. enterica* (в рамках этого исследования данный клинический аспект не изучался). При использовании среды CAS обогащение не проводилось, тем не менее, ее чувствительность составляла 100%, таким образом, в обогащении, возможно, нет необходимости. Количество *Salmonella* spp., выделенных из образцов кала, было небольшим. По данным более раннего исследования, обогащение улучшает чувствительность первой версии среды CAS, а также среды HEA, в

случае, если они используются для первичных посевов (4). Для уточнения необходимости в обогащении при использовании среды CAS необходимо проведение исследований с большим количеством клинических образцов кала.

В рамках настоящего исследования доказан более высокий уровень специфичности среды CAS по сравнению с комбинацией сред SS и XLD (с обогащением) несмотря на наличие ложно-положительных колоний (в том числе – *P. aureginosa*, *Candida albicans*, *Aeromonas* spp.). Нам удалось исключить большинство указанных изолятов из разряда подозрительных на патогенность используя оксидазный тест, микроскопию влажного препарата, а также уреазный тест. Опыт дифференциации: розово-фиолетовые колонии – *Salmonella*, пурпурные – *Serratia* spp., мелкие колонии – *Candida* spp., и морфология колоний (крупные прозрачные либо мутные колонии с розово-фиолетовым центром) – кишечные микроорганизмы, не относящиеся к *Salmonella* - может быть наработан лаборантами, что будет способствовать увеличению специфичности среды CAS в качестве среды для первичного посева. Что интересно, биохимически неактивные штаммы *E. coli* из образцов кала также образовывали розово-фиолетовые колонии при культивировании на среде CAS – этот феномен не регистрировался в первой фазе исследования и не отмечался другими исследователями.

Производители среды полагают, что инкубация продолжительностью 18 часов достаточна для выявления *Salmonella* spp. Для 3 из 9 изолятов *Salmonella*, выделенных из кала, для развития типичного розово-лилового окрашивания колоний потребовалось более 24 часов. Эти колонии могут быть пропущены как непатогенные, если чашки были утилизированы и/или не проанализированы повторно после 18 ч. инкубации. Таким образом, мы рекомендуем инкубировать образцы кала на среде CAS в течение 48 часов, и проводить исследование на первый и второй день после инокуляции.

Применение среды CAS уменьшает продолжительность идентификации изолятов *Salmonella* до 24-48 часов. Инкорпорация хромогенных субстратов в селективные среды значительно увеличивает затраты (среда CAS - \$A 1.04 [\$A = US\$ 0.56 - 2002] на 1 среду; среды SS и XLD \$A 0.63 на 1 среду), тем не менее, по нашему мнению они компенсируются снижением временных затрат и уменьшением потребности в материалах, необходимых для выявления и идентификации *Salmonella* spp. на обычных агарах. По нашим подсчетам, общее снижение затрат составит 26% (\$A 1.746.50/месяц для сред SS и XLD по сравнению с \$A 1.297.15/месяц для среды CAS), а также освободит половину ставки лаборанта.

Таким образом, высокая чувствительность и специфичность среды CAS позволяет считать ее ценным и надежным дополнением к набору сред для выделения *Salmonella* spp. Среда может быть рекомендована для первичной изоляции *Salmonella* spp. из клинических образцов кала. К числу ее преимуществ относится уменьшение временных затрат на идентификацию возбудителя. Для определения особенностей роста других сероваров *Salmonella* на среде CAS и необходимости в применении техник обогащения требуется проведение дополнительных исследований. Другие среды (например, XLD)необходимы для выявления *Shigella* spp.

## **Благодарности**

Агар CAS был предоставлен безвозмездно Dutec Diagnostics в целях проведения настоящего исследования.

Благодарим Robert Chiew из ERL при Институте Клинической патологии и медицинских исследований за предоставленные изоляты *Salmonella* и проведение точной биохимической идентификации в случае необходимости.