

in respect to exogenous DNA matrices. The synthesis of 9—12 proteins with molecular weights ranging from 14,000 to 178,000 daltons was shown to occur in this system in the presence of the DNA of R6K plasmid. The use of the modification of Novick's method allowed to identify active β -lactamase coded by the amp-gene of R6K plasmid.

УДК 579.842.12.083.138

Г. П. Калина

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ЦЕЛЕВЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ НА ЭДВАРДСИЕЛЛЫ

Московский институт гигиены им. Эрисмана

В обзоре «*Edwardsiella tarda*» [2] показано, что если первый этап выделения эдвардсиелл — посев в среды накопления можно условно считать отработанным, то для последующих этапов — выделения чистых культур на плотных дифференциально-элективных средах (ДЭС) и упрощенной и ускоренной идентификации эффективных специализированных сред пока не существует. На агаровых универсальных средах, обычно применяемых для выделения и идентификации всех не разлагающих лактозу грамотрицательных микроорганизмов (среды Эндо, ЭМС, «Nectoen», «SS», дезоксихолатцитратная, висмутсульфитная), эдвардсиеллы развиваются скучно и медленно или образуют колонии, сходные с колониями многих лактозоотрицательных микробов. В связи со значительным преобладанием последних в окружающей среде выделение эдвардсиелл затрудняется, так как приходится снимать и идентифицировать много колоний, чтобы случайно обнаружить колонию эдвардсиелл.

Для сигнальной идентификации эдвардсиелл используют также универсальные среды, предназначенные для идентификации сальмонелл и шигелл — «TSI», Клиглера и им подобные, с последующей идентификацией по большому количеству тестов.

Цель работы заключалась в проверке некоторых уже предложенных сред и разработке специализированных для эдвардсиелл сред.

Материалы и методы. Из сред накопления, рекомендованных ранее, мы проверяли среду «E. E.» [10], предложенную для выделения эдвардсиелл [8], и модифицированную нами [3] магниевую среду. Была разработана также среда Эт-1, основанная на установленной нами в эксперименте относительной устойчивости эдвардсиелл к полимиксину.

Среда Эт-1: мясо-пептонного бульона 100,0 мл, глюкозы 0,2 г, полимиксина 2500 ед., 5% спиртового раствора розовой кислоты 0,2 мл.

Среда «E. E.»: воды 100,0 мл, пептона 1,0 г, глюкозы 0,5 г, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,8 г, KH_2PO_4 0,2 г, желчи 2,0 мл (последнюю мы заменили 0,3 г желчных солей по Олькеницкому [4]), 0,5% водного раствора бриллиантового зеленого 0,3 мл, все, кроме красителя, стерилизовали при 0,5 атм в течение 15 мин, прибавляли краситель и разливали в пробирки по 10 мл.

Магниевую среду готовили по прописи методических рекомендаций Министерства здравоохранения СССР (1973).

Во все среды засевали не более 1,0 мл жидкого материала или 10% взвеси плотного.

В основу специализированной плотной ДЭС был положен один из основных признаков эдвардсиелл — выработка сероводорода. Этим свойством, кроме эдвардсиелл, обладают лишь немногие грамотрицательные бактерии — сальмонеллы, цитробактер, протеи (*Pr. vulgaris* и *Pr. mirabilis*). Широкое распространение в окружающей среде цитробактера и протеев, а также частое сосуществование, особенно в кишечнике холоднокровных, эдвардсиелл с сальмонеллами ставит основной задачей устранение у этих микроорганизмов признака, общего с эдвардсиеллами, — образования колоний с черным центром.

Установлено [5], что изменение реакции в кислую зону за счет гидролиза углеводов и спиртов влияет на направление реакции между серово-

дородом и солями металлов. Процесс образования сероводорода не нарушается, и он может быть уловлен индикаторной бумажкой, но образования сернистого металла в среде не происходит. При введении в состав среды маннита, ферментируемого сальмонеллами и цитробактером, черные центры в колониях этих микробов должны отсутствовать.

Введение в состав среды минимального количества глюкозы помогло решить эту проблему в отношении протеев. Однако колонии эдвардиелл, тоже ферментирующих глюкозу, также утрачивали способность образовывать черные центры. Введение в состав среды лизина, продукты которого при декарбоксилировании эдвардиелл нейтрализуют кислую реакцию, обусловленную ферментацией глюкозы, позволило решить и эту задачу: колонии протеев, не декарбоксилирующих лизин, оставались в кислой зоне и не образовывали черных центров, а у колоний эдвардиелл такие центры сохранялись. Следовало лишь точно определить соотношение в среде глюкозы и лизина, а также исходную реакцию среды. В итоге комбинация маннита, глюкозы и лизина в среде, содержащей тиосульфат натрия и цитрат аммоний-железа, позволила получать элективный рост эдвардиелл в виде колоний с черным центром. При правильно приготовленной среде такие центры у колоний сальмонелл, цитробактеров и протеев должны отсутствовать.

Комбинация лизина с источником кислой реакции была положена в основу среды Тейлора (Taylor) [13], предназначеннной для выделения сальмонелл и шигелл. В качестве основного источника кислой реакции использовали лактозу и сахарозу, дополнительного — ксилозу в небольшом количестве. На этой среде сальмонеллы образуют черные центры. Автор упоминает, что эдвардиеллы также образуют колонии с черным центром. Других сообщений о возможности выделения на этой среде эдвардиелл в литературе нет. Использование среды затрудняется из-за наличия в ней импортных ингредиентов — дрожжевого экстракта и дезоксихолата натрия. Замена их отечественными реактивами пока не дала положительных результатов. Кроме того, присутствие колоний сальмонелл, симулирующих колонии эдвардиелл, снижает значение этой среды как специализированной для эдвардиелл.

Среда Эт-2 (среда 2-го этапа): воды 100,0 мл, агара 2,5 г, экстракта кормовых дрожжей (ЭКД) [1] 2,0 г, маннита 1,0 г, глюкозы 0,275 г, DL-лизина 1,0 г (L-лизина 0,5 г), 5% спиртового раствора розоловой кислоты 0,2 мл, желчных солей 0,25 г; после растворения всех ингредиентов в водяной бане при кипячении прибавить раствор: воды 2,0 мл, тиосульфата натрия 0,68 г, цитрата аммоний-железа 0,08 г. pH среды 6,9—7,1 (требует обычно 0,6—0,8 мл 10% водного раствора NaOH).

Среда Тейлора (ксилоза — лизин — дезоксихолат — агар): воды 100,0 мл; дрожжевого экстракта (мы применяли препарат японской фирмы «Bako Koeck») 0,3 г, L-лизина 0,5 г, лактозы и сахарозы по 0,75 г, ксилозы 0,375 г, NaCl 0,5 г, агара 1,5 г, 1,6% щелочного раствора фенолового красного 0,5 мл, дезоксихолата натрия (фирмы IGN Pharmaceuticale Inc. Life Sciences Group, Claveland, USA) 0,25 г. После автоклавирования при 0,5 атм в течение 15 мин прибавить 2,0 мл раствора тиосульфата натрия и цитрата аммоний-железа, рецепт которого приведен в прописи среды Эт-2.

При посеве на обе среды следует стремиться распределять материал с таким расчетом, чтобы рост был возможно более разреженным при большом количестве изолированных колоний. При густом росте и сливающихся колониях образование черных центров задерживается или они совсем отсутствуют. Среду Эт-2 инкубировать при 37 °C в течение 21—24 ч, среду Тейлора — 18—20 ч. Первые признаки черных центров у колоний эдвардиелл на среде Эт-2 могут быть обнаружены уже через 16—18 ч. Каждую новую серию среды следует проверить, засевая одну половину чашки чистой культурой эдвардиелл, другую — *Pr. mirabilis*. Роение протеев на среде Эт-2 отсутствует.

В основу комплексной среды Эт-3 (среда 3-го этапа) для ускоренного и упрощенного видового определения эдвардиелл были положены приз-

ТАБЛИЦА 1. Поведение различных микроорганизмов в среде Эт-3

Микроорганизм	Цвет столби-ка среды	Образование газа	H_2S (черное кольцо)	Цвет скошенной поверхности	Образование индола
<i>Edwardsiella tarda</i> <i>Escherichia, Citrobacter, Enterobacter, Hafnia, Klebsiella, Serratia, Aeromonas hydrophila, Salmonella</i> (большинство сероваров) <i>Shigella</i> (кроме <i>Sh. dysenteriae</i>), <i>Salmonella</i> (безгазовые), <i>Vibrio Aeromonas anaerogenes, Pseudomonas, Yersinia enterocolitica</i>	Оранжевый Желтый »	+	+	Малиновый Желтый »	+
<i>S. dysenteriae, Alcaligenes, Acinetobacter</i>	Оранжевый	+++ (Разрывы)	-	Малиновый	-
<i>Providencia</i>	Желтый	-	-	»	-
<i>Pt. vulgaris</i>	Малиновый	-	+	»	+
<i>Pt. mirabilis</i>	»	-	+	»	-
<i>Pt. rettgeri</i>	»	-	-	Желтый	-
<i>Pt. morganii</i>	»	-	-	Малиновый	+

Примечание. Среду Эт-3 можно использовать для дифференциации эдвардсиелл от микроорганизмов, указанных в таблице. Идентификацию последних в этой среде проводить нельзя; исключение (частично) составляют протеи.

наки, совокупность которых стабильна и свойственна только эдвардсиеллам, отсутствуя у любых других грамотрицательных бактерий [7]: продукция индола, сероводорода и декарбоксилазы лизина, отсутствие ферментации маннита и ксилозы, а также уреазной активности, ферментация глюкозы с образованием кислоты и газа. Эти 7 признаков в одной двухслойной среде позволяют уже через 16—18 ч надежно идентифицировать эдвардсиеллы.

Среда Эт-3 двухслойная. Нижний слой: мясо-пептонного бульона 100,0 мл, агара 1,0 г, глюкозы 0,05 г, DL-лизина 1,0 г, (L-лизина 0,5 г), 1,6% щелочного раствора фенолового красного 0,5 мл, K_2HPO_4 0,1 г, KH_2PO_4 0,04 г, тиосульфата натрия 0,03 г. После стерилизации при 0,5 атм в течение 15 мин прибавить 2,0 мл 50% водного раствора мочевины (раствор самостерилизуется после инкубации в течение 1—2 сут при комнатной температуре), разлить асептично в пробирки по 3—4 мл и охладить в вертикальном положении. Верхний слой: 1,5% мясо-пептонного агара 100,0 мл, (сухая среда фабричного производства не годится), маннита и ксилозы по 1,0 г, сульфита аммоний-железа (соли Мора) 0,03 г, триптофана 0,05 г, 1,6% щелочного раствора фенолового красного 0,5 мл, 0,01% водного раствора кристаллического фиолетового 2,0 мл. Растворить при кипячении в водяной бане, разлить по 3—4 мл поверх нижнего слоя и скосить, оставив столбик высотой 0,5—1,0 см. Посев уколом в столбик и штрихом по поверхности. После посева между пробиркой и стенкой пробирки вставить реактивную бумажку на индол. Это можно сделать и после 18—20-часовой инкубации при 37 °C. В таком случае реакция на индол при посеве эдвардсиелл становится резко положительной уже через 30—60 мин дополнительной инкубации.

В некоторых случаях (необычность объекта, из которого выделены эдвардсиеллы, необходимость подтверждения клинического диагноза эдвардсиеллеза, арбитражный анализ) могут быть введены дополнительные тесты, подтверждающие принадлежность обнаруженного микроба к роду *Edwardsiella*.

ТАБЛИЦА 2. Оценка эффективности разных сред и их комбинаций

Комбинация сред	Всего проб	Число положительных проб	Всего колоний	Число колоний ёдвардсиелла
Прямой посев на среду Эт-2	124	12 (9,7)	75	35 (46,7)
Из среды «Е. Е.» на среду Эт-2	124	20 (16,1)	95	37 (38,9)
Прямой посев на среду Эт-2	73	7 (9,6)	56	21 (37,5)
» » Тейлора	73	8 (11,0)	98	16 (27,6)
Из среды «Е. Е.» на среду Эт-2	83	13 (15,6)	61	18 (29,6)
» » Тейлора	83	10 (12,0)	59	17 (28,8)
Из среды Эт-1 на среду Эт-2	73	10 (13,7)	35	13 (37,1)
» » «Е. Е.» » Эт-2	73	10 (13,7)	57	16 (28,1)
» » «Е. Е.» » Тейлора	73	8 (11,0)	56	15 (26,8)
» » магниевой » Тейлора	73	7 (9,6)	54	11 (20,4)
» » магниевой » висмут-сульфит	73	1 (1,4)	81	3 (3,7)
Суммарно (прямой и со сред накопления):				
на среду Эт-2	73	13 (17,8)	148	49 (33,1)
на среду Тейлора	73	10 (13,7)	175	42 (24,0)

П р и м е ч а н и е. В скобках—процент.

Наиболее стабильными признаками, имеющими диагностическое значение (кроме использованных в среде Эт-3), могут служить отрицательные: отсутствие ферментации лактозы, рамнозы, дульциита, адонита, инозита, салицина, гидролиза малоната натрия, утилизации цитрата натрия в среде Козера, продукции ацетоина, дезаминирования фенилаланина. Из положительных признаков имеют значение ферментация мальтозы, тетратионат-редуктаза и реакция Кларка и Люббса с метиловым красным. Комплексирование этих 13 тестов в 5 пробирках позволяет без ущерба для точности результата сэкономить время оператора, посуду и место в термостате. Весь комплекс признаков может быть определен в течение 24 ч.

Среда Эт-4 двухслойная. Нижний слой: воды 100,0 мл, агара 0,6 г, NaCl 0,5 г, пептона 0,5 г, K₂HPO₄ 0,1 г, мальтозы 0,1 г, 1,6% щелочного раствора бромтимолового синего 0,2 мл. Растворить при кипячении, разлить в пробирки по 4—5 мл, стерилизовать при 0,5 атм в течение 15 мин, охладить в вертикальном положении. Верхний слой: воды 100,0 мл, пептона 0,5 г, NaCl 0,5 г, KН₂РО₄ 0,04 г, лактозы, дульциита, адонита, рамнозы, инозита, салицина по 1,0 г. Стерилизовать при 0,5 атм в течение 15 мин, разлить асептично поверх нижнего слоя по 5 мл, охладить в скошенном положении, оставив столбик высотой до 1 см. Посев уколом в столбик, затем штрихом по поверхности.

Среда Richard [11] (определение тетратионат-редуктазы): воды 100,0 мл пептона 0,5 г, NaCl 0,5 г, 1,6% щелочного раствора бромтимолового синего 0,3 мл, тетратионата калия 0,5 г. Стерилизовать фильтрованием через мембранный фильтр, разлить в пробирки по 4,0 мл, хранить при 4°C. Готовый препарат тетратионата калия готовит фирма (ФРГ). Имеется несложная методика лабораторного приготовления тетратионата калия [9].

Среда Shaw и Clarke [12] (определение гидролиза малоната натрия и дезаминирования фенилаланина): воды 100,0 мл, дрожжевого экстракта жидкого 10,0 мл (или ЭКД 2,0 г), (NH₄)₂SO₄ 0,2 г, KН₂РО₄ 0,04 г, малоната натрия 0,3 г, DL-фенилаланина 0,2 г, 1,6% щелочного раствора бромтимолового синего 0,2 мл. После растворения при нагревании в водяной бане разлить в пробирки по 5—6 мл, стерилизовать при 0,5 атм в течение 15 мин. Инкубация 24—48 ч при 37 °C. Положительная реакция на разложение малоната — синее окрашивание среды. Затем среду подкислить 0,1—0,2 мл 0,1 н. HCl и прибавить 0,2 мл 10% водного раствора FeCl₃. Положительная реакция на фенил-аланин-деаминазу — немедленно появляющееся и также быстро исчезающее зеленое окрашивание.

Среда Clark и Lubbs [6] (модифицированная): воды 100,0 мл, K₂HPO₄ 0,5 г, пептона 0,7 г, глюкозы 0,5 г, NaCl 0,5 г. После растворения при

нагревании в водяной бане разлить в узкие пробирки по 1,0 мл (не больше), стерилизовать при 0,5 атм в течение 15 мин. Засев массивной дозой агаровой культуры в логарифмической стадии развития позволяет учесть реакцию с метиловым красным через 24 ч инкубации при 37 °С. После реакции с метиловым красным определять продукцию ацетоина реагентом Баррита: к культуре прибавить 0,6 мл раствора α -нафтола, затем 0,2 мл 40% водного раствора KOH. Положительная реакция — красное окрашивание в виде кольца на поверхности.

Среда Козера (Koser) в обычной прописи, но с прибавлением 0,2 мл на 100,0 мл среды 1,6% щелочного раствора бромтиолового синего.

Результаты и обсуждение. Среды проверяли посевом чистых культур эдвардиелл (эталонный штамм и 23 свежевыделенных) и других энтеробактерий (36 штаммов сальмонелл разных сероваров, цитробактеров, протеев, а также смесей различных продуцирующих H_2S и не-продуцирующих видов). На среде Эт-2, кроме 24 штаммов эдвардиелл, изучали поведение бактерий, продуцирующих H_2S — 13 штаммов сальмонелл разных групп и сероваров, 6 — цитробактеров, 1 — *P. vulgaris*, 4 — *Pr. mirabilis*, а также H_2S -отрицательных — по 1 штамму *P. morganii*, *Pr. rettgeri*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella aerogenes*. Сальмонеллы и цитробактеры росли в виде желтых колоний без черных центров, протеи могли продуцировать черные центры при повышении щелочности среды, а также в густых участках газона в виде черных вкраплений. В отличие от колоний эдвардиелл центры колоний протеев не имели чистого аспидно-черного цвета, были мутновато-серыми и занимали большую часть колонии, оставляя иногда лишь узкий светлый ободок. В колониях эдвардиелл к 21—24 ч инкубации при 37 °С намечался четкий черный центр в виде кратерообразного углубления, большей частью небольшой; сами колонии были гомогенные с ровными краями, выпуклые, блестящие. Как и на других средах, на которых определяется продукция сероводорода, черные центры появлялись преимущественно в изолированных колониях. В густых участках они, как правило, отсутствовали.

Среда Эт-3 при посеве чистых культур в большом ассортименте (табл. 1) и при многочисленном использовании в натурных исследованиях полностью себя оправдала. Характерные для эдвардиелл изменения среды подтверждались при последующей широкой проверке дополнительными тестами.

Через среды Эт-4, Ришара, Шой и Клерка, Кларка и Люббса проводили все вновь выделяемые штаммы. Была установлена неизменная стойкость всех 13 признаков, за исключением ферментации мальтозы, отсутствовавшей у нескольких штаммов, выделенных из одной пробы.

В натурных условиях исследовали 124 пробы экскрементов основных хозяев эдвардиелл рептилий Московского зоопарка. Разные среды накопления и ДЭС проверяли не во всех пробах. Сравнительная оценка высе-
зов на среду Эт-2 — прямого посева и высе-ва из среды «Е. Е.» дана по всем 124 пробам, высе-зов из среды «Е. Е.», Э-2 и Тейлора — по 83 пробам. Наибольший интерес представляло сравнение 7 разных комбинаций прямых посевов и высе-зов из разных сред накопления по 73 пробам. О качестве сред судили по проценту колоний, оказавшихся колониями эдвардиелл, и по количеству положительных проб. Оба критерия представлены в таблице 2.

По эффективности (процент колоний эдвардиелл) разные среды и их комбинации, за исключением высе-ва с магниевой среды на висмут-сульфит-агар, были более или менее сходны и различия между ними статистически недостоверны. Практически можно выделить некоторое преимущество среды Эт-2. Отстают высе-зы из среды «Е. Е.» на среды Эт-2 и Тейлора, а высе-зы на последнюю из магниевой среды дают еще более скромные результаты. Следует подчеркнуть, однако, что на среде Тейлора в больших количествах были выделены сальмонеллы, что не удивительно, поскольку данная среда предназначена для выделения этих микробов. Относительное снижение количества колоний эдвардиелл при высе-вах из среды «Е. Е.»

сравнительно с прямым посевом взвеси экскрементов объясняется, видимо, малой ингибиторностью этой среды для сопутствующей микрофлоры, развитие которой в этой среде опережает развитие эдвардиелл.

Картина несколько меняется при анализе соотношений положительных проб. Высев из среды «Е. Е.» дал в 1,7 раза больше положительных результатов, чем прямой посев (20 положительных проб против 12). Наибольшее количество положительных проб выявлено после посева из сред накопления «Е. Е.» и Эт-1 на среду Эт-2, хотя посев на среду Тейлора и высев на эту среду из среды «Е. Е.» отстают незначительно. Суммарное сравнение эффективности этих двух сред дает приблизительно одинаковые результаты с незначительным преимуществом среды Эт-2. Однако преимущество последней заключается в возможности использования отечественных ингредиентов, а применение в среде Тейлора импортных реагентов снижает ее ценность.

Анализ распределения проб, давших положительные результаты, показал следующее: 1) при прямых посевах на среду Эт-2 и высевах на эту среду из среды «Е. Е.» (21 положительная проба из 124) эдвардиеллы были выделены из 11 проб, только при прямом высеве — из 1 пробы, только после накопления в среде «Е. Е.» — из 9 проб; 2) при высевах из среды «Е. Е.» на среды Эт-2 и Тейлора (15 положительных проб из 83) эдвардиеллы выделены из 8 проб, только на среде Эт-2 — из 5 проб, только на среде Тейлора — из 2 проб; 3) в группе, в которой было исследовано 7 различных комбинаций сред накопления и ДЭС (14 положительных проб из 73), наибольшее преимущество имеют высевы на среду Эт-2; прямой и из сред Эт-1 и «Е. Е.» — 13 и 14 положительных проб, а высевы на среду Тейлора — прямой и из сред «Е. Е.» и магниевой: 10 из 14. Привлекают внимание 7 положительных проб из 14 при применении магниевой среды. По литературным данным [8], в магниевой среде в оригинальной прописи (с малахитовым зеленым) эдвардиеллы не развиваются, а только сохраняются. Более мягко действующая модификация среды допускает развитие эдвардиелл, хотя эффективность ее несколько меньше, чем у сред Эт-1 и «Е. Е.». Перспективны, видимо, дальнейшие попытки усовершенствования этой среды специально для выделения эдвардиелл.

Выводы

1. Разработаны питательные среды для целевых исследований на эдвардиеллы: среда накопления 1-го этапа, дифференциально-элективная среда 1-го этапа и комплексные среды для упрощенной и для расширенной идентификации эдвардиелл.
2. В натуралистических исследованиях экскрементов рептилий дана сравнительная оценка вновь предложенных сред с уже известными.
3. Выявлено преимущество предварительного обогащения материала в средах накопления («Е. Е.» и Эт-1) с последующим высевом на среду Эт-2.
4. Перспективным следует считать дальнейшее усовершенствование магниевой среды применительно к выделению эдвардиелл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бендаш Л. Г., Раскин Б. М., Баранова А. К. — Лабор. дело, 1974, № 1, с. 43—45.
2. Калина Г. П. — Ж. микробиол., 1980, № 5, с. 25—33.
3. Калина Г. П., Шиганова В. Л.— Лабор. дело, 1972, № 4, с. 240—243.
4. Олькеницкий И. С.— Там же, 1957, № 5, с. 33—34.
5. Bulmash J., Mac Donald F.— J. Bact., 1964, v. 88, p. 1813.
6. Clark W., Lubbs H.— J. infect. Dis., 1915, v. 17, p. 160.
7. Edwards P., Ewing W. Identification of Enterobacteriaceae. Minneapolis, 1974.
8. Iveson J.— J. Hyg. (Lond), 1971, v. 69, p. 323—330.
9. Le Minor L., Pichinoty F.— Ann. Inst. Pasteur, 1963, v. 104, p. 384—393.
10. Mossel D., Visser M., Cornelissen A.— J. appl. Bact., 1963, v. 26, p. 444—454.
11. Richard C.— Bull. Inst. Pasteur, 1977, v. 75, p. 369—382.
12. Shaw G., Clarke P.— J. gen. Microbiol., 1955, v. 13, p. 155.
13. Taylor W.— Am. J. clin. Path., 1965, v. 44, p. 471—475.

Поступила 6/III 1980 г.

CULTURE MEDIA FOR SPECIAL TESTS FOR DETECTION OF *EDWARD SIELLA*

G. P. Kalina

Culture media intended for use in special tests for detection and identification of *Edwardsiella* have been developed. In field studies on reptiles in the zoo the proposed media were found to have advantages in comparison with the known media. Satisfactory results were also obtained with Taylor's medium (xylose-lysine-desoxycholate-agar).