

**Материалы
V Национального конгресса
бактериологов**

Москва, 16–17 сентября 2019 г.

УДК 578(082)
ББК 28.4я43+36-1я43+51.2я43+52.64я43
М34

М34 **Материалы V Национального конгресса бактериологов, г. Москва, 16–17 сентября 2019 года** / Ассоц. «Нац. науч.-практ. о-во бактериологов». – Москва : Издательство «Династия», 2019. – 96 с.
ISBN 978-5-98125-110-8

Сборник содержит материалы V Национального конгресса бактериологов, проходившего в Москве 16–17 сентября 2019 г. Публикации российских и зарубежных ученых и специалистов представляют современное состояние и перспективы развития по широкому спектру, проблем, включая санитарную и клиническую микробиологию; инновационные технологии и вопросы импортозамещения; лабораторную диагностику особо опасных инфекций; совершенствование нормативно-правовой базы по санитарно-микробиологическому контролю объектов окружающей среды и пищевых продуктов а также государственного санитарно-эпидемиологического надзора и лабораторной диагностики инфекционных болезней; организацию деятельности бактериологических лабораторий системы Роспотребнадзора. Сборник предназначен для широкого круга ученых-бактериологов и практических работников в сфере здравоохранения, производства пищевых продуктов и др.

УДК 578(082)
ББК 28.4я43+36-1я43+51.2я43+52.64я43

Подписано в печать 29.08.2019. Формат 60x90/8. Усл. печ. л. 12. Тираж 500 экз. Заказ №224
ООО «Издательство «Династия». 115478, Москва, Каширское ш., д. 24, стр. 19
Типография ИП Бурлакова Ольга Львовна. 603105, Нижний Новгород, ул. Чачиной, д. 39а, офис 5

ISBN 978-5-98125-110-8

© Ассоциация «Национальное научно-практическое общество бактериологов», 2019
© Оформление. ООО «Издательство «Династия», 2019

Состав организационного комитета V Национального конгресса бактериологов

Москва, 16–17 сентября 2019 г.

Председатель

Попова Анна Юрьевна

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), д.м.н., профессор

Заместитель председателя

Дятлов Иван Алексеевич

Директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, академик РАН, д.м.н., профессор

Смоленский Вячеслав Юрьевич

Заместитель руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, к.м.н.

Члены оргкомитета

Акимкин Василий Геннадьевич

Директор ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, академик РАН, д.м.н., профессор

Алешкин Владимир Андрианович

Научный руководитель ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, д.б.н., профессор

Исаева Гузель Шавхатовна

Директор ФБУН «Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, д.м.н., профессор

Кутырев Владимир Викторович

Директор ФКУЗ Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, академик РАН, д. м. н., профессор

Рудаков Николай Викторович

Директор ФБУН «Омский НИИ природноочаговых инфекций» Роспотребнадзора, д.м.н., профессор

Шепелин Анатолий Прокопьевич

Заместитель директора по научно-производственной работе ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, д.б.н. академик РАМТН

Секретариат

Домотенко Любовь Викторовна

Ведущий научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, к.х.н.

Говорунов Игорь Геннадьевич

Ведущий научный сотрудник ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, к.б.н.

Организаторам и участникам V Национального конгресса бактериологов



Уважаемые коллеги!

От имени Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека приветствую организаторов, участников и гостей V Национального конгресса бактериологов!

Ваш Конгресс проходит в период начала реализации национальных и федеральных проектов, направленных на обеспечение прорывного научно-технологического и социально-экономического развития России. Роспотребнадзор и подведомственные ему организации активно участвуют в выполнении ряда мероприятий, в том числе национальных проектов «Наука», «Экология» и «Демография».

Специалисты в области бактериологии в настоящее время решают сложные задачи, связанные с предупреждением распространения инфекционных заболеваний, обеспечением санитарно-эпидемиологического благополучия населения и биологической безопасности государства.

За год, прошедший после проведения IV Национального конгресса бактериологов, была создана и начала успешно работать некоммерческая Ассоциация «Национальное научное общество бактериологов», основной целью которой является объединение организаций и специалистов, заинтересованных в развитии и совершенствовании в нашей стране бактериологических исследований, направленных на улучшение диагностики инфекционных болезней в сфере здравоохранения, ветеринарии и пищевой промышленности. Под эгидой Роспотребнадзора ежегодно проводится конгресс бактериологов России и выпускается специализированный журнал «Бактериология», учредителем которого является ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора. Эта триада – Национальное научно-практическое общество бактериологов, научно-практический журнал «Бактериология» и ежегодный Конгресс бактериологов – при-

звана способствовать решению проблем, накопившихся в этом направлении медицинской микробиологии.

В этой связи представляются важными усилия государства по поддержанию и развитию научных исследований в данной области в рамках Национального проекта «Наука» и Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы. Последняя предусматривает реализацию одного из ключевых направлений, связанных с биологической безопасностью и технологической независимостью государства.

Создание современных высокочувствительных систем выявления и идентификации патогенных микроорганизмов на основе использования методологии генетического редактирования позволит существенно расширить наши возможности в сфере индикации и определения происхождения возбудителей. На этой же основе предполагается создание новых иммунобиологических препаратов для специфической профилактики опасных инфекционных болезней и разработка инновационных биологических средств лечения, в том числе для преодоления лекарственной устойчивости патогенов.

На вашем научном форуме будет дана объективная оценка достигнутого уровня разработок в области создания средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней, вызываемых бактериями, будут определены наиболее важные направления исследований, которые могут стать прорывными для решения таких стратегических задач развития Российской Федерации, как увеличение численности населения страны, снижение уровня смертности, повышение продолжительности и улучшение качества жизни населения.

Уверена, что V Национальный конгресс бактериологов позволит специалистам обменяться накопленным опытом и выработать новые подходы к решению задач в области медицинской бактериологии и смежных дисциплин.

Желаю организаторам и участникам Конгресса плодотворной работы, полезных дискуссий и новых творческих успехов!

*Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека,
Главный государственный
санитарный врач Российской Федерации*



А.Ю.Попова

Материалы V Национального конгресса бактериологов

Москва, 16–17 сентября 2019 г.

Эпидемиологическая характеристика штаммов *Staphylococcus aureus* с точки зрения геномной структуры и токсинообразования

Абаев И.В., Скрыбин Ю.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Staphylococcus aureus относится к наиболее распространенным и актуальным бактериальным патогенам человека и вызывает широкий спектр инфекционных заболеваний: от поверхностных инфекций кожи до таких патологий, как пневмония, бактериемия, остеомиелит, эндокардит, токсический шок и др. Разнообразие клинических синдромов тесно коррелирует с большим числом различных экзопродуктов *S. aureus* с выраженными токсическими свойствами. Среди них выделяют группу суперантигенов – токсинов, проявляющих действие в отношении различных типов клеток организма хозяина. Из суперантигенов *S. aureus* наиболее актуальными с клинической точки зрения являются энтеротоксины и эксфолиативные токсины, этиологические агенты пищевой стафилококковой инфекции и эксфолиативного дерматита. Гены энтеротоксинов и эксфолиативных токсинов локализованы на конвертирующих мобильных генетических элементах (бактериофагах, плаزمиде и геномных островах), которые распространяются в определенных клональных линиях *S. aureus* и во многом определяют эпидемиологию пищевой стафилококковой инфекции и эксфолиативного дерматита.

Цель исследования. Сравнительный анализ штаммов *S. aureus*, возбудителей стафилококковых токсикоинфекций, изолированных в различных регионах РФ в 2012–2017 гг.

Штаммы *S. aureus* характеризовали различными методами, в том числе с использованием биоинформатических подходов к сравнению нуклеотидных последовательностей с помощью инструментов on-line. Получена информация о клональных линиях *S. aureus*, ассоциированных с данными инфекциями, включая филогенетический анализ полногеномных последовательностей штаммов и конвертирующих профагов *S. aureus*. Проведен сравнительный анализ нуклеотидной последовательности профагов и генов эксфолиативных токсинов и энтеротоксинов. Показаны особенности структуры конвертирующих бактериофагов в регионах

локализации генов, ответственных за интеграцию, эксцизию и вирулентность. Установлены специфические особенности эпидемиологии эксфолиативного дерматита и пищевой стафилококковой инфекции в России.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

База данных «Клинические штаммы *Staphylococcus aureus*, выделенные в центральном регионе России»

Абаев И.В., Скрыбин Ю.П., Говорунов И.Г.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Характеристики коллекционных штаммов возбудителей инфекционных заболеваний представляют собой относительно большие объемы как правило однородных данных. Современные информационные технологии позволяют организовать этот информационный пул в виде баз данных (БД). Немаловажным достоинством БД является наличие в них готовых приложений и шаблонов, доступных для использования для решения задач без опыта программирования.

В связи с этим была разработана и зарегистрирована БД «Клинические штаммы *Staphylococcus aureus*, выделенные в центральном регионе России» (рег. № 2019620329 от 27.02.2019), предназначенная для учета и хранения данных о штаммах *S. aureus*, возбудителях групповых стафилококковых инфекций, поступающих во ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии».

Источниками поступления штаммов *S. aureus* являются клинические образцы из лечебных учреждений, полученные при вспышках стафилококковых инфекций.

Данные о штаммах *S. aureus*, представленные в БД, получены в результате исследований, проводимых во ФБУН ГНЦ ПМБ в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

БД содержит сведения о штаммах *S. aureus*, начиная с 2006 г., всего более 215 записей. База данных включает в себя: форму ввода и одну основную таблицу.

Контент БД охватывает пять групп данных:

- Общая информация о штамме (содержит названия штамма и номера регистрации в отечественных и зарубежных коллекциях и интернет-ресурсах).

- Информация о происхождении штамма (содержит данные о дате месте и источнике выделения конкретного штамма).

- Данные о генотипе штамма (содержит информацию о геноме штамма в целом).

- Данные о наличии генов вирулентности (содержит информацию о наличии/отсутствии в геноме штамма детерминант отдельных факторов вирулентности).

- Библиографические ссылки на публикации.

Форма «Ввод данных» предназначена для ввода исходной информации в базу данных «Клинические штаммы *Staphylococcus aureus*, выделенные в Центральном регионе России». Поля для ввода информации разбиты на контентные блоки, фон которых для оптимального восприятия окрашен в различные цвета. Для удобства пользователей БД в некоторых полях использованы фиксированные наборы значений подстановок.

Созданная база данных «Клинические штаммы *Staphylococcus aureus*, выделенные в Центральном регионе России» позволяет учитывать, хранить и анализировать данные о штаммах *S. aureus*, исследуемых в Центре, и является дополнительным современным программным инструментом для фундаментальных и прикладных работ в области обеспечения биологической безопасности Российской Федерации.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Использование энтероцина E28 для элиминации *Listeria monocytogenes* из мясных полуфабрикатов

Абаимова А.А., Теймуразов М.Г., Светоч Э.А.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Одной из проблем безопасности полуфабрикатов из мяса птицы является их обсемененность бактериями *Listeria monocytogenes*, возбудителем пищевой инфекции у человека. Энтероцин E28 – катионный бактериоцин класса II-a с выраженной антилистериозной активностью, продуцируемый штаммом *Enterococcus mundtii* E28. Ранее была разработана одноэтапная схема очистки энтероцина E28 с выходом 65% и минимальной подавляющей концентрацией (МПК) против контрольного штамма *L. monocytogenes* ATCC 19111 равной 20 нг/мл.

Цель исследования – определить дозу энтероцина E28 и время воздействия, необходимые для элиминации *L. monocytogenes* из искусственно обсемененных полуфабрикатов мяса птицы.

Полуфабрикаты птицы (крылышки и бедра) были приобретены в розничном магазине. Из суточной культуры *L. monocytogenes* ATCC 19111 готовили суспензию на физиологическом растворе с концентрацией 2×10^7 КОЕ/мл. Куски мяса птицы весом 25 г помещали в стерильные колбы, содержащие суспензию *L. monocytogenes* ATCC 19111 в соотношении 1:9. Опыт проводили при двух темпе-

ратурных режимах: 4°C и 25°C. Через 40 мин обсемененные образцы переносили в колбы с 250 мл раствора энтероцина E28 в физиологическом растворе со следующими концентрациями – 40, 80 и 160 нг/мл (по колбе при 4°C и 25°C). Также две колбы (при 4°C и 25°C) оставались без добавления энтероцина в качестве положительного контроля. Через 10, 30, 60 мин, 24 и 72 ч отбирали аликвоты для определения концентрации *L. monocytogenes* ATCC 19111 в опытных и контрольных образцах методом десятикратного титрования с последующим высевом на чашки Петри с ПАЛ-агаром (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) в двух повторностях.

По результатам опытов установлено, что степень обсемененности *L. monocytogenes* ATCC 19111 уменьшилась с 2×10^7 КОЕ/мл до 90 КОЕ/мл при 4°C в течение 40 мин и оставалась на этом уровне в течении трех суток при концентрации энтероцина 40 нг/мл. В той же концентрации энтероцина, но при 25°C концентрация листерий уменьшилась с 2×10^7 до 740 КОЕ/мл. При концентрации 160 нг/мл наблюдалась полная элиминация *L. monocytogenes* ATCC 19111 из опытных образцов в течение 40 мин при обоих температурных режимах.

Полученные данные позволяют рассматривать энтероцин E28 в качестве пищевого консерванта для элиминации *L. monocytogenes* из продуктов птицеводства.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Генетические особенности метициллинрезистентных *Staphylococcus aureus*, выделенных от лиц, находящихся в пенитенциарном учреждении

Акушева Д.Н.¹, Хохлова О.Е.¹, Абарникова О.В.³, Корецкая Н.М.³, Перьянова О.В.^{1,2}, Белоусова Ю.Н.³, Саламатина О.В.³, Королькова Е.К.³, Кондрашева И.С.³, Лустов Ю.В.³, Поткина Н.К.², Петров А.М.³, Ямамото Т.⁴

¹ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. профессора В.Ф.Войно-Ясенецкого», Красноярск, Российская Федерация;

²Российско-Японский центр микробиологии, метагеномики и инфекционных заболеваний, Красноярск, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Медико-санитарная часть № 24 Федеральной службы исполнения наказаний» России, Красноярск, Российская Федерация;

⁴Международный медицинский образовательно-исследовательский центр (IMERC), Ниигата, Япония

Метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus* (MRSA) – актуальные возбудители заболеваний. Особую тревогу вызывают случаи выявления таких инфекций у ВИЧ-инфицированных лиц, находящихся в пенитенциарном учреждении, т.к. могут вызывать серьезные поражения органов и систем.

Цель исследования. Изучение генетических особенностей MRSA, выделенных от ВИЧ-инфицированных и лиц без ВИЧ, находящихся в пенитенциарном учреждении.

Материалы и методы. В 2016–2018 гг. обследованы 303 человека, находящиеся в пенитенциарном учреждении ФКУЗ МСЧ № 24 ФСИН России, г. Красноярск, из них 227 ВИЧ-инфицированных и 76 практически здоровых лиц. Для выявления частоты носительства *S. aureus*, MRSA использован бактериологический метод. Подтверждение принадлежности к MRSA – диск с цефокситином, ПЦР (*nuc*, *tesA*). Для генотипирования и определения генетических особенностей – ПЦР, М-ПЦР, секвенирование. МПК к антимикробным препаратам – Е-тест.

Результаты. У ВИЧ-инфицированных доля носителей MRSA – 2,64% (6 штаммов). У практически здоровых лиц MRSA не выделены. Изоляты MRSA принадлежат к клону ST8/spa1(t008)/SCCmecIV.3.1.1./coall/agr1, имеют *lukED*, адгезины, гемолизины; устойчивы к ципрофлоксацину, рифампицину, гентамицину, эритромицину. Штаммы MRSA мультирезистентны в 33,3% случаев и обладают устойчивостью к пенициллину в 64,4% случаев, к эритромицину в 15,6% случаев, к ципрофлоксацину и хлорамфениколу в 11,1% случаев, к тетрациклину и гентамицину в 6,7% случаев.

Вывод. Установлена более высокая частота колонизации MRSA у ВИЧ-положительных лиц; штаммы MRSA относятся к ST8/spa1(t008)/SCCmecIV.3.1.1./coall/agr1.

Заблеваемость сельскохозяйственных животных листериозом и обсемененность пищевых продуктов листериями в Российской Федерации в 2016–2018 гг.

Александрова Я.Р.¹, Фурсова Н.К.²

¹ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория» Россельхознадзора, Москва, Российская Федерация;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Листерии (лат. *Listerias* spp.) – грамположительные бактерии, широко распространенные в разных экологических нишах. Заболевание листериозом у человека и животных ассоциировано с высоким уровнем летальности при генерализованных формах инфекции (40–80%). Листерии зарегистрированы в 47 странах мира. Широко распространено бессимптомное листериозоносительство у сельскохозяйственных животных, что приводит к значительному экономическому ущербу и к увеличению затрат на профилактические мероприятия.

Цель исследования. Оценка современной эпизоотологической ситуации по листериозу на основании анализа заболеваемости крупного рогатого скота (КРС), мелкого рогатого скота (МРС), свиней, промышленной птицы и др. в РФ в 2016–2018 гг., а также оценка уровней обсемененности листериями продуктов животноводства.

Материалы и методы. Данные Государственного федерального статистического наблюдения (Форма отчета 4-Вет, согласно Приказа № 189 МСХ РФ от 20.04.2008) использовали для ретроспективного анализа заболеваемости листе-

риозом сельскохозяйственных животных и оценки уровней обсемененности листериями продуктов животноводства в РФ в 2016–2018 гг.

Результаты. За период 2016–2018 гг. было получено 3 321 602 образца биологического материала от сельскохозяйственных животных (лошади, КРС, МРС, свиньи, птица, пушные звери, прочие виды), проведено 89 062 бактериологических исследования на листериоз, положительный ответ получен в 41 (0,05%) исследовании. Листерии детектированы только в образцах, полученных от КРС (0,07%) и МРС (0,09%).

За тот же период времени в лаборатории РФ поступило 5 855 510 проб на санитарно-зоогигиенические исследования (конина, говядина, баранина, свинина, мясо птицы, мясо других животных, мясные продукты, рыба, рыбные продукты, икра, молочные продукты, жир животный, пресервы, другие продукты), по которым проведено 1 366 735 исследований на обсемененность листериями, получено 8423 положительных результата (0,06%). Наибольший процент положительных проб отмечен в прочих продуктах (плодоовощная продукция, кондитерские и хлебобулочные изделия, пищевая продукция общественного питания) – 10,39% от общего количества поступивших проб. Кроме того, относительно высокие показатели обсемененности листериями зафиксированы для образцов животного жира (4,51%) и мяса птицы (4,93%).

Выводы. Анализ данных, представленных в отчетах ветеринарных лабораторий РФ за 2016–2018 гг., показал, что возбудители листериоза в патологоанатомическом материале сельскохозяйственных животных детектировали достаточно редко (~0,08% образцов от КРС и МРС). Чаще листерии были определены в продуктах питания – мясе птицы, животном жире, плодоовощной продукции, кондитерских и хлебобулочных изделиях, пищевой продукции общественного питания (4,51–10,39% образцов). Полученные результаты указывают на непростую эпизоотологическую ситуацию по листериозу в России, которая требует дальнейшего изучения.

Исследование выполнено в рамках отраслевых программ Россельхознадзора и Роспотребнадзора.

Удельный вес условно-патогенных энтеробактерий, выделенных в Узбекистане при острых кишечных инфекциях за 10 лет

Алматов Б.И.¹, Абдуллаев А.О.², Ли Л.Т.¹

¹Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения Республики Узбекистан, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Ташкентский институт усовершенствования врачей, Ташкент, Республика Узбекистан

Внедрение генно-молекулярных методов диагностики выявило существенную роль возбудителей острых кишечных инфекций (ОКИ), не идентифицируемых ранее, – *Norovirus*, *Rotavirus*, *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Campylobacter* и др. Наряду с этим условно-патогенные энтеробактерии

остаются одним из важных этиологических факторов в развитии ОКИ, о чем свидетельствуют многочисленные публикации. Поскольку ОКИ и сейчас являются одними из самых распространенных инфекций, особенно у детей, актуальным является определение родового и видового спектра условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ) при ОКИ и основные тенденции частоты их выявления в многолетней динамике.

Материалы и методы. Были проанализированы данные бактериологических исследований по Республике Узбекистан за период 2008–2017 гг. Родовой и видовой состав УПЭ определялся территориальными бактериологическими лабораториями СЭС в соответствии с нормативными документами республики с дальнейшим подтверждением в баклабораториях областных и городских ЦГСЭН МЗ РУз. В отдельных случаях при выделении атипичных, трудно дифференцируемых культур идентификация проводилась на аппарате MALDI-TOF. Редко выделяемые роды были объединены в общую группу, которая состояла из *Serratia* spp. – 609 (1,14%), *Hafnia* spp. – 1246 (2,3%), *Edwardsiella* spp. – 217 (0,4%), *Providencia* spp. – 108 (0,2%), *Morganella* spp. – 157 (0,3%) и неидентифицированных энтеробактерий – 279 (0,55). Анализ проводили по родовой принадлежности, поскольку каждый из 4 рассматриваемых родов был представлен обычно одним, наиболее распространенным видом: *Proteus* – видом *P. mirabilis*, *Citrobacter* – видом *C. freundii*, *Enterobacter* – *E. cloacae*, *Klebsiella* – *K. pneumoniae*.

Результаты. За указанный период по Республике Узбекистан было выделено 53 050 культур УПЭ. Из них наибольший удельный вес заняли *Proteus* – 17 469 (32,9%), которые лидировали во все годы – от 33,0% в 2008 г. до 39% в 2017 г. Очень близкие показатели высеваемости были у *Citrobacter* – всего было выделено 14 073 (26,5%) культур; в 2008, 2010, 2011 и 2014 гг. они ненамного уступали протеем (31, 26, 29, 27% соответственно). Третьими по частоте высеваемости во все годы были *Enterobacter*, их было идентифицировано 10 302 (19,4%). Реже выявлялись *Klebsiella* – за наблюдаемый период было изолировано 8656 (16,3%) культур, которые только в 2014 г. высевались чаще, чем энтеробактерии (20 и 16% соответственно). Группа «другие» энтеробактерии высевалась от больных ОКИ редко и почти с одинаковой частотой – от 4 до 7% каждый год.

Вывод. Среди УПЭ доминирующими возбудителями ОКИ во все годы наблюдения были представители рода *Proteus* и рода *Citrobacter*. Резких изменений в спектре основных представителей энтеробактерий в многолетней динамике при ОКИ не наблюдалось.

Антимикробная активность водных и водно-этанольных экстрактов из растений *Monarda fistulosa*, культивируемых в Новосибирской области

Андреева И.С.¹, Высочина Г.И.²,
Лобанова И.Е.², Сароян Т.А.^{1,3}

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»», р.п. Кольцово, Российская Федерация;

²ФГБУН «Центральный сибирский ботанический сад» СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», Новосибирск, Российская Федерация

Всевозрастающая множественная резистентность патогенных микроорганизмов к антимикробным препаратам является одним из главных стимулов к поиску новых антибиотических соединений. В настоящей работе проведено определение антимикробной активности водных и водно-этанольных экстрактов (40%) из растений *Monarda fistulosa* с соотношением субстрата и экстрагента 1:20 и 1:50: 1) диффузионным методом «колодцев» при высеве микроорганизмов на агаризованные среды; 2) учетом титра жизнеспособных клеток в культуральных жидкостях (КЖ), полученных при совместном инкубировании исследуемых препаратов с клетками патогенных тест-штаммов в жидкой питательной среде.

Результаты опытов, полученные как диффузионным методом, так и с использованием титрования КЖ, выявили активные относительно патогенных тест-штаммов варианты препаратов с разной степенью проявления антимикробной активности. Показано, что водно-этанольные экстракты *M. fistulosa* с соотношением сырья и экстрагента 1:20 обладали наибольшим бактерицидным действием, проявляющимся относительно штаммов грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium smegmatis* и штаммов дрожжей рода *Candida*. Титры жизнеспособных клеток данных микроорганизмов в КЖ под воздействием экстрактов снижались в сравнении с контрольным вариантом в среднем на 2–4 порядка. Штаммы грамотрицательных бактерий, относящихся к видам *Salmonella typhimurium*, *S. abony*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, и штамм *Pseudomonas aeruginosa* были устойчивы к действию всех вариантов используемых препаратов.

Водно-этанольные экстракты *M. fistulosa* с соотношением сырья и экстрагента 1:20, проявившие высокую антимикробную активность против грамположительных бактерий и дрожжей рода *Candida*, можно рекомендовать для дальнейших разработок в качестве препаратов антибактериального и антикандидозного действия.

Работа выполнена в рамках ГЗ 14/18 и договора 02/2018 (ЦСБС СО РАН – ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»).

Ингибирование размножения вирусов гриппа А/Н5N1, А/Н3N2 и А/Н1N1 препаратами на основе штамма бактерии *Bacillus thuringiensis* Cb-527

Андреева И.С.¹, Мазуркова Н.А.¹, Пучкова Л.И.¹, Филиппова Е.И.¹, Закабунин А.И.², Сафатов А.С.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»», р.п. Кольцово, Российская Федерация;

²Институт химической биологии и функциональной медицины СО РАН, Новосибирск, Российская Федерация

Значительное распространение гриппа требует дальнейшего совершенствования методов его профилактики и лечения. В связи с этим особое внимание привлекают РНКазы микроорганизмов, способные подавлять репродукцию РНК-содержащих вирусов в инфицированных клетках. Для исследования противовирусной активности в работе использованы препараты на основе штамма *Bacillus thuringiensis* (Bt) Cb-257 из состава «Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора», выделенного при исследовании биогенной компоненты аэрозолей атмосферного воздуха. Препараты для тестирования на активность против вирусов гриппа A/chicken/Kurgan/05/2005(H5N1), A/Aichi/2/68(H3N2) и A/Bishkek/03/2009(H1N1)pdm09 были представлены образцами культуральной жидкости (КЖ) и белковыми фракциями КЖ штамма Bt Cb-257.

При исследовании выявлена зависимость токсичности, уровня нуклеазной и противовирусной активности образцов препаратов на основе КЖ штамма Bt от времени и температуры культивирования штамма. Изучена динамика накопления РНКаз в КЖ штамма Bt Cb-257 при разных условиях культивирования. С использованием метода зимографии показана многочисленность представительства ферментов пула РНКаз в КЖ и секреция большой группы ДНКаз. Оптимизированы условия культивирования, что позволило получить выход секретлируемых РНКаз в КЖ до 400 мкг/мл и определить варианты препаратов, более эффективно ингибирующие размножение вирусов гриппа А/Н5N1, А/Н3N2 и А/Н1N1 на культуре ткани MDCK. В экспериментах на мышах, инфицированных 10 ЛД₅₀ вируса гриппа штамма A/Bishkek/03/2009(H1N1)pdm09, в профилактической схеме показана возможность достижения коэффициента защиты с применением препаратов на основе КЖ штамма Bt Cb-257 до 40–60%, что было сравнимо с действием препарата Тамифлю (60%).

Полученные результаты позволяют рекомендовать штамм Bt Cb-257 для разработки антигриппозных препаратов профилактического и лечебного действия.

Исследование выполнено с частичным финансированием ГЗ 14/18.

Контроль эффективности дезинфекции эндоскопов

Анфилофьева Т.А., Волокитина Е.Н.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае», Барнаул, Российская Федерация

Дезинфекция высокого уровня (ДВУ) проводится с целью уничтожения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, всех вирусов и грибов.

Эндоскоп может стать фактором передачи возбудителя инфекции при неадекватной очистке и неэффективной ДВУ.

Контроль качества обработки эндоскопов проводится микробиологическим методом по МУ 3.5.1937-04 «Дезинфектология. Очистка, дезинфекция и стерилизация эндоскопов и инструментов к ним» и МУ 3.1.3420-17 «Обеспечение эпидемиологической безопасности нестерильных эндоскопических вмешательств на желудочно-кишечном тракте и дыхательных путях».

Критерием эффективности полного цикла обработки эндоскопа по СП 3.1.3263-15 «Профилактика инфекционных заболеваний при эндоскопических вмешательствах» является отсутствие роста бактерий группы кишечной палочки, золотистого стафилококка, синегнойной палочки, плесневых и дрожжевых грибов, а также других условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. При этом условия показателя общей микробной обсемененности биопсийного канала эндоскопа не должен превышать 100 КОЕ/мл.

Контролю подлежат: биопсийный канал, вводимая трубка, клапаны и гнезда каналов, а также смывы с наружной поверхности вводимой трубки и клапанов эндоскопа.

За период с января 2017 г. по май 2019 г. в бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центра гигиены и эпидемиологии в Алтайском крае» проведено 1414 исследований на эффективность ДВУ, из них в 2017 г. – 830 исследований, в 2018 г. – 442 исследования, за 5 месяцев 2019 г. – 142 исследования. Удельный вес нестандартных исследований за весь период составил 1,7%, из них: в 2017 г. – 0,3%, в 2018 г. – 3,4%; за 4 месяца 2019 г. – 4,9%.

По высеваемой микрофлоре преобладают такие микроорганизмы, как *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter calcoaceticus* var. Iwoffii. В единичных случаях были обнаружены плесневые грибы, *Staphylococcus aureus*. Все эти микроорганизмы являются возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Поэтому очень важно проводить контроль эффективности дезинфекции эндоскопов.

Таким образом, можно отметить, что дезинфекцию эндоскопического оборудования можно считать эффективной, т.к. процент нестандартных проб невелик. Если обработка признана неудовлетворительной, дезинфекцию эндоскопа повторяют для предупреждения возникновения ИСМП.

Совершенствование лабораторной диагностики бруцеллеза

Аракелян П.К.¹, Трегубов А.Н.¹, Руденко А.В.¹, Вергун А.А.¹, Ильин Е.Н.¹, Христенко Н.В.¹, Димова А.С.², Димов С.К.³, Янченко Т.А.⁴, Рудаков Н.В.⁵

¹Научно-производственная лаборатория диагностики и профилактики бруцеллеза Ставропольской краевой станции по борьбе с болезнями животных, Ставрополь, Российская Федерация;

²ФГБУ «Новосибирская межобластная ветеринарная лаборатория», Новосибирск, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Российская Федерация;

⁴ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», Омск, Российская Федерация;

⁵ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», Омск, Российская Федерация

Лабораторная диагностика бруцеллеза в ветеринарии и медицине функционально имеет много общего: она призвана объективно оценивать эпизоотический и эпидемический статус и подтверждать инфицирование организма на разных стадиях, выделять возбудителей бруцеллеза с оценкой их вирулентных свойств и видовой дифференциацией. Технологичность диагностических средств заключается в их специфичности, оптимальном числе, простоте и скорости применения, минимальных затратах на производство и др. Необходимость ее постоянного совершенствования сомнений не вызывает.

Нами разработан и запатентован ряд средств диагностики бруцеллеза животных с различными функциями и доказанной эффективностью.

О-полисахаридные (О-ПС) антигены из *B. melitensis* и *B. abortus* в РИД и ИФА (по специальной методике) позволяют оперативно оценивать активность эпизоотических очагов бруцеллеза и их эпидемическую значимость.

Получение по новым схемам бруцеллезных диагностических S- и R-сывороток (способных объективно оценивать антигенные свойства бруцелл на разных стадиях их изменчивости), антивидовых моноспецифических сывороток (позволяющих дифференцировать бруцеллы видов *melitensis* и *abortus*) на основе однократной подкожной гипериммунизации кроликов инактивированными культурами бруцелл соответствующих видов и антигенных характеристик в смеси с новым масляным адъювантом MONTANIDE™ ISA 61 VG позволяет не только повысить и длительно сохранить их диагностическую активность, но и снизить трудоемкость процесса, максимально повысить его противоэпидемическую безопасность и увеличить объемы получаемых сывороток.

С учетом вышеизложенного целесообразно провести совместно с медицинскими НИУ соответствующие испытания этих и некоторых других ветеринарных диагностических средств в медицине. Активные научные и практические контакты ветеринаров и медиков обеспечат эффективное проникновение медицинских новшеств в ветеринарию. Плодотворность и взаимовыгодность такого сотрудничества очевидны.

Молекулярно-генетические особенности штаммов *Listeria monocytogenes*, выделенных от людей и из продуктов питания

Асташкин Е.И.¹, Борзенков В.Н.¹, Фурсова Н.К.¹, Алексеева Е.А.², Светоч Э.А.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболонск, Московская область, Российская Федерация;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по Вологодской области» Роспотребнадзора, Вологда, Российская Федерация

Listeria monocytogenes вызывают тяжелое инфекционное заболевание животных и человека – листериоз.

Цель исследования. Характеристика молекулярно-генетических свойств изолятов *L. monocytogenes*, выделенных из пищевых продуктов и от людей в 2016–2018 гг.

Материалы и методы. Изоляты *L. monocytogenes* ($n = 32$) выделены из мясных и рыбных полуфабрикатов ($n = 14$) и от людей ($n = 18$). Образцы были получены из Вологды ($n = 19$), Ярославля ($n = 3$), Орла ($n = 3$), Белгорода ($n = 3$), Твери ($n = 2$), Москвы ($n = 1$) и Оболенска ($n = 1$) в 2016–2018 гг. Видовую идентификацию изолятов проводили бактериологическим методом, на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия). Серотипирование культур проводили в реакции агглютинации со специфической листериозной сывороткой на *L. monocytogenes* (Иркутск, Россия) и с помощью латексной тест-системы «*Listeria monocytogenes*» (Оболонск, Россия). Для родовой и видовой идентификации применяли экспериментальные тест-системы «*Listeria spp.*» и «*Listeria monocytogenes*» (Оболонск, Россия). Внутривидовое типирование проводили методом RAPD-PCR с использованием праймеров OPA 11 и Wil 2 (Zimmer et al., 2003). Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) осуществляли согласно протоколу базы данных института Пастера (http://bigsd.b.pasteur.fr/listeria/primers_used.html). Последовательности ДНК секвенировали в ООО SYNTOL (Москва, Россия) и анализировали с помощью программ Vector NTI (Invitrogen, США), Chromas (Technelysium, США) и BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

Результаты. Идентифицированы 8 сиквенс-типов *L. monocytogenes*: ST1 ($n = 1$), ST9 ($n = 3$), ST37 ($n = 1$), ST101 ($n = 1$), ST121 ($n = 5$), ST403 ($n = 1$), ST451 ($n = 3$), ST504 ($n = 6$). Все сиквенс-типы принадлежали к генетической линии листерий II, кроме одного сиквенс-типа (ST1). Методом RAPD-PCR идентифицировано 12 RAPD-генотипов: A ($n = 5$), B ($n = 3$), C ($n = 6$), D ($n = 1$), E ($n = 1$), F ($n = 1$), G ($n = 1$), H ($n = 1$), I ($n = 3$), J ($n = 3$), K ($n = 3$) и L ($n = 4$). Отмечена корреляция между идентифицированными сиквенс-типами и RAPD-генотипами: все изоляты ST121 принадлежали к RAPD-генотипу A; изоляты ST9 – к RAPD-генотипу B; изоляты ST504 – к RAPD-генотипу C; изоляты ST451 – к RAPD-генотипу I.

У одного изолята RAPD-генотипа D определен уникальный аллельный профиль, для которого нет аналога в базе данных института Пастера. Изоляты *L. monocytogenes*, выделенные от людей, принадлежали только к трем сиквенс-

типом: ST1, ST451 и ST504. Изоляты *L. monocytogenes*, выделенные из продуктов питания, относились к другим сиквенс-типам: ST9, ST37, ST101, ST121, ST403. Исключение составил сиквенс-тип ST504. Анализ представленности изолятов *L. monocytogenes*, выделенных в России, показал, что в базе данных института Пастера представлены только 6 изолятов сиквенс-типа ST1, а остальные сиквенс-типы, идентифицированные в данной работе, ранее исследователями из России не размещались.

Выводы. Штаммы *L. monocytogenes*, выделенные из продуктов питания и от людей, относятся, в основном, к разным сиквенс-типам. Выявлено большое разнообразие сиквенс-типов, к которым принадлежат изоляты, выделенные как от людей, так и из продуктов питания. Типирование листерий имеет большое значение для эпидемиологического анализа ситуации по листериозу.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Микробиота, выделенная у пациентов с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи

Бадамшина Г.Г., Гафарова Л.Ф., Зиатдинов В.Б.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан» Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация

Исследователи полагают, что эффективным инструментом контроля эпидемического процесса инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и предупреждения формирования госпитальных штаммов наряду с мероприятиями эпидемиологического надзора является качественный микробиологический мониторинг, который подразумевает определение возбудителей ИСМП, изучение их качественных характеристик и антибиотикорезистентности, изучение микробиоты эпителиальных пациентов и объектов окружающей среды.

Целью работы явилось изучение распространенности возбудителей ИСМП, зарегистрированных у населения г. Казани.

Проведен ретроспективный анализ структуры распространенности возбудителей ИСМП, зарегистрированных на территории г. Казани в течение 2016 г. на основе анализа экстренных извещений об инфекционном заболевании (форма № 58).

За 2016 г. в Казани было зарегистрировано 72 случая ИСМП. Анализ структуры возбудителей ИСМП показал, что лидирующими являются *Staphylococcus aureus* (26,5% случаев), *Staphylococcus epidermidis* (23,4%) и *Klebsiella pneumoniae* (18,5%), в меньшей степени другие микроорганизмы. Среди возбудителей гнойно-септических инфекций новорожденных бактериальной этиологии были обнаружены грамположительные кокки рода *Staphylococcus* (25 случаев; 12 из них приходилось на золотистый стафилококк, 8 – на эпидермальный и 5 – на другие виды стафилококков) и *Enterococcus* (один случай *E. faecalis*), грамотрицательные бактерии рода *Klebsiella* (12 случаев), преимущественно *K. pneumoniae* (66%). Среди возбудителей вирусной и гриб-

ковой этиологии встречались бокавирусы (1 случай), риновирусы (2), ротавирусы (3), вирус краснухи (1), а также дрожжеподобные грибы рода *Candida* (1). Охват микробиологическим обследованием пациентов с гнойно-септическими инфекциями составил 72,2%.

Таким образом, приоритетное место среди возбудителей ИСМП в г. Казани в 2016 г. принадлежало *S. aureus* (26,5% случаев), *S. epidermidis* (23,4%) и *K. pneumoniae* (18,5%). Микробиологический мониторинг за возникновением ИСМП является действенным инструментом для принятия управленческих решений и разработки алгоритма противоэпидемических мер по снижению риска заболеваний в отделениях и стационарах в целом.

Заболеемость инфекционными заболеваниями медицинским персоналом

Бадамшина Г.Г.^{1,2}, Зиатдинов В.Б.¹, Фатхутдинова Л.М.², Гафарова Л.Ф.¹, Севастьянова Т.И.³, Гилазиев А.Д.²

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация;

³ГАУЗ «Высокогорская центральная районная больница», Высокая Гора, Российская Федерация

В Российской Федерации обеспечение биологической безопасности в медицинских организациях является важнейшим направлением укрепления национальной безопасности. Медицинский персонал в условиях госпитальной среды подвержен заражению инфекционными заболеваниями, так как в воздух медицинской организации, по данным исследователей, от пациентов попадают микроорганизмы различных групп патогенности. Медицинский персонал также может быть источником возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

В связи с вышеуказанной целью данной работы явилось изучение заболеваемости медицинских работников инфекционными заболеваниями различных групп патогенности.

Для оценки заболеваемости медиков было проведено анкетирование медицинских работников медицинских учреждений Республики Татарстан. Анкета разработана на основе анкеты экспертов ВОЗ для европейской модели «Управление здоровьем, окружающей средой и безопасностью на рабочем месте». В анкетировании приняли участие 170 медицинских работников. Из общего числа опрошенных 87% составили женщины и 13% – мужчины.

Исследованиями установлено, что медицинские работники 1–2 раза в год переносят заболевания инфекционного генеза. Причем чаще медики болеют острыми респираторными и кишечными заболеваниями (79,5 ± 3,2% и 35,5 ± 3,7% опрошенных соответственно). В структуре заболеваемости респираторными заболеваниями лидирующие места занимают: ангина (25,4%), грипп (22,5%), риновирусная инфекция (17,7%), в меньшей степени парагрипп (12,0%) и респираторно-синтициальная инфекция (9,6%). Стафилококковая, аденовирусная и коронавирусная инфекция распространены у медицинского персонала в меньшей степени – 5,7; 4,8 и 2,4% соответственно.

В структуре заболеваемости бактериальными и вирусными кишечными заболеваниями у медицинских работников, по их мнению, преобладают ротавирусная (41,5%), норовирусная (15,1%) инфекции и инфекции, вызванные кишечной палочкой (15,1%). В меньшей степени встречаются энтеровирусная и астровирусная инфекции (по 11,3% случаев) и в единичных случаях – кампилобактериоз (3,8%) и бокавирусная инфекция (1,9%).

Таким образом, основную структуру заболеваемости вирусными и бактериальными респираторными заболеваниями, перенесенными медицинскими работниками в процессе трудовой деятельности, по данным анкетного опроса составили: ангина (25,4%), грипп (22,5%), риновирусная инфекция (17,7%); кишечными заболеваниями: ротавирусная (41,5%), норовирусная инфекция (15,1%) и инфекция, вызванной кишечной палочкой (15,1%).

SNP-типирование штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы

Балахонов С.В.¹, Гладких А.С.¹, Миронова Л.В.¹, Рождественский Е.Н.², Феранчук С.И.¹, Бочалгин Н.О.¹, Отгонбаяр Д.³

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, Горно-Алтайск, Российская Федерация;

³Национальный центр по изучению зоонозных инфекций, Улан-Батор, Монголия

Сайлюгемский природный очаг чумы располагается по обе стороны российско-монгольской границы на северной оконечности Центрально-Азиатской зоны природной очаговости чумы. Длительное время эпидпотенциал очага оценивался как невысокий: при микробиологическом мониторинге регистрировалось выделение штаммов чумного микроба алтайского, в редких случаях улэгейского подвидов. С 2012 г. на российской части Сайлюгемского очага обнаружены эпизоотии чумы, вызванные *Yersinia pestis* основного подвида. Распространение высоковирулентного варианта возбудителя вызвало обострение эпидемиологической ситуации по чуме в виде спорадических случаев заболевания людей в Кош-Агачском районе РФ.

Цель исследования – установить филогенетические связи штаммов чумного микроба, изолированных из полевого материала в ходе обследования монгольской части Сайлюгемского природного очага чумы, на основании данных полногеномного SNP-типирования.

Полногеномное секвенирование штаммов *Y. pestis* произведено на приборе Illumina MiSeq™. SNP-типирование проведено с применением авторского подхода, состоящего в картировании собранных *de novo* контигов на геном референсного штамма *Y. pestis* CO92 с помощью пакета *tinnter* и ряда авторских скриптов. Филогенетическая реконструкция выполнялась в программе RAxML.

Показано, что все исследуемые штаммы с монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы 2018 г. выделения, из Горно-Алтайского высокогорного природного очага чумы РФ (2012–2016 гг.), а также *Y. pestis*, изолированные на территории Монголии ранее, группируются в филогенетическую линию 4.ANT. Изоляты 2018 г. из Монголии и РФ демонстрируют внутригрупповую вариабельность с межштаммовыми различиями (0–20 SNP), позволяющими в составе филогенетической линии 4.ANT выделить группу I с клонально идентичными штаммами в основании, далее прослеживается ветвление дендрограммы с формированием двух кластеров IA и IB и ряда уникальных генотипов.

Таким образом, объединение в линию 4.ANT античного биовара исследованных штаммов чумного микроба *Y. pestis* subsp. *pestis*, выделенных на приграничной с РФ территории монгольской части Сайлюгемского природного очага на фоне обострения эпидемиологической ситуации на территории РФ, дает основание сделать заключение о генетическом сходстве указанных вариантов патогена. Выявленная незначительная вариабельность геномов штаммов чумного микроба на территории Сайлюгемского природного очага по данным SNP-типирования свидетельствует в пользу определенной гетерогенности возбудителя.

Характеристика штаммов чумного микроба, изолированных в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 году

Балахонов С.В.¹, Косилко С.А.¹, Отгонбаяр Д.³, Уржих Ч.⁴, Витязева С.А.¹, Ярыгина М.Б.¹, Рождественский Е.Н.², Токмакова Е.Г.¹, Корзун В.М.¹

¹ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Алтайская противочумная станция» Роспотребнадзора, Горно-Алтайск, Российская Федерация;

³Национальный центр по изучению зоонозных инфекций, Улаанбаатар, Монголия;

⁴Центр по изучению зоонозных инфекций Баян-Улгийского аймака, Улгий, Монголия

Обострение эпидемической ситуации по чуме в Кош-Агачском районе Республики Алтай РФ (2014, 2015 и 2016 гг.) и распространение возбудителя чумы основного подвида в российской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы (Горно-Алтайский природный очаг) вызвало необходимость возобновления с 2017 г. эпизоотологического мониторинга монгольской части очага. Исследование было продолжено в 2018 г., в результате чего от различных носителей и переносчиков чумы было изолировано 46 штаммов *Yersinia pestis* subsp. *pestis*.

Микробиологическая идентификация штаммов чумного микроба показала, что все они обладали свойствами, характерными для основного подвида возбудителя чумы: на агаре Хоттингера колонии в виде R-формы, возвышающиеся в центре, с плоским прозрачным фестончатым краем;

в бульоне – агглютинативный рост; неподвижные; в течение первых суток ферментировали глицерин, арабинозу, мальтозу, маннит, глюкозу и не ферментировали рамнозу; восстанавливали нитраты в нитриты; не обладали уреазной активностью; сорбировали гемин на среде Джексона–Берроуза; продуцировали капсульный антиген F1, обладали зависимостью роста от ионов Ca^{2+} при температуре 37°C; чувствительны к ципрофлоксацину, гентамицину, офлоксацину, цефтазидиму, стрептомицину. Штаммы лизируются бактериофагами: чумным Покровской, чумным Л-413, псевдотуберкулезным. По микробиологическим характеристикам изученные штаммы относятся к основному подвиду чумного микроба *Y. pestis* subsp. *pestis*.

При определении LD₅₀ установлено, что все штаммы высоковирулентны для лабораторных животных (LD₅₀ для белых мышей – 12,6 КОЕ, для морских свинок – 63,2 КОЕ). При вскрытии обнаружена патологоанатомическая картина септической формы чумы. Гибель животных наступила вследствие специфической инфекции, что подтверждено выделением чистой культуры возбудителя от всех павших животных.

Анализ плазмидного профиля показал наличие у штаммов четырех плазмид: pYP, pTP33, pYV, pYT. Дополнительная плазида pTP33 характерна для изолятов чумного микроба в Тувинском природном очаге и некоторых очагах Монгольского Алтая, а также у штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis*, выделенных в Горно-Алтайском природном очаге чумы (2012, 2014–2018 гг.).

Таким образом, идентификация и изучение штаммов показали, что они относятся к основному подвиду чумного микроба с характерными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, набором основных детерминант вирулентности и обладают высокой вирулентностью для лабораторных животных.

Особенности микробиома пародонта в норме и при патологии по данным методов метагеномики и метаболомики

Балмасова И.П.¹, Царёв В.Н.¹, Арутюнов С.Д.¹, Бабаев Э.А.¹, Олехнович Е.И.², Габибов А.Г.²

¹ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация;

²ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиком М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН», Москва, Российская Федерация

В настоящее время хронический генерализованный пародонтит все чаще рассматривают как фактор риска развития разнообразной соматической патологии. По всей видимости, именно микробиом пародонта служит основным резервуаром персистирующих инфекций человека, вызывает сбой метаболических и иммунных процессов, способствует нарушению триггерных механизмов гомеостаза и развитию коморбидной патологии.

Цель исследования. Изучение взаимосвязи таксономических групп микробиоты и метаболических профилей с раз-

витием пародонтита и коморбидной соматической патологии на примере сахарного диабета типа 2.

Материалы и методы. Проводили комплексное исследование материала биопленки пародонта у 52 человек в составе 3 групп: пародонтит, ассоциированный с сахарным диабетом (28 чел.), хронический генерализованный пародонтит (14 чел.), условно здоровые с интактным пародонтом (15 чел.). Возраст – от 40 до 65 лет. Проводили 16S-секвенирование с последующим биоинформационным анализом, используя платформу микробиома QIIME2 и базу данных SILVA. Выявление различий таксонов проводили путем дисперсионного анализа на основе PERMANOVA. Для оценки тенденций метаболического профиля применяли статистический анализ STAMP. Статистическая обработка данных, не входящих в метагеномный анализ, проводилась с использованием пакета программ SPSS, vers. 21.

Результаты. Анализ таксономических профилей микробиомов по частоте встречаемости отдельных категорий бактерий в разных группах исследования выявил значимые различия состава содержимого зубодесневой борозды при исследовании материала интактного или условно здорового пародонта, при пародонтите и при пародонтите, ассоциированном с сахарным диабетом типа 2. При статистическом сравнении выявлены различия по 5 таксонам, в частности, родам *Filifactor*, *Mycoplasma*, *Porphyromonas*, *Flavobacterium*, *Treponema*. При этом отмечено достоверное снижение представителей таких родов, как *Atopobium*, *Bordetella*, *Leptotrichia*, *Fusobacterium*, *Sfingobacterium*, *Veillonella*, которые, наряду со стрептококками, по-видимому, составляют основу нормального микробиома пародонта. По некоторым таксонам установлены значимые различия между группами с пародонтитом и пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2. В частности, отмечено преобладание *Filifactor* и *Treponema* в группе с пародонтитом, ассоциированным с сахарным диабетом типа 2. При оценке метаболического профиля были выявлены различия по нескольким основным метаболическим путям: метаболизм сфинголипидов, жирных кислот, пиримидина и метана, снижение которых было наиболее характерно для группы пародонтита, ассоциированного с сахарным диабетом. Активность метаболизма цистеина и метионина, напротив, увеличивалась. Для группы хронического пародонтита установлено снижение только метаболизма глицеролипидов. Не получено подтверждения значимости метаболического пути, связанного с развитием стафилококковой инфекции, ни в одной группе, что согласуется с известными данными ранее проведенных бактериологических исследований о низкой вероятности участия стафилококка в развитии патологии пародонта.

Заключение. Полученные результаты метагеномного/полногеномного секвенирования подтвердили значимость таких таксономических групп микробиоты полости рта, как *Porphyromonas*, *Flavobacterium*, *Treponema* в качестве носителей вероятных возбудителей пародонтита, а с другой стороны – *Leptotrichia*, *Fusobacterium*, *Sfingobacterium*, *Veillonella* в качестве важнейших компонентов нормальной микробиоты. Установлена более значимая роль представителей таксонов *Filifactor* и *Treponema* при развитии пародонтита на фоне сахарного диабета типа 2, чем пародонтита без

коморбидной патологии. Показано значение оценки метаболических профилей микробиома для изучения патогенеза пародонтита и прогнозирования развития патологии.

Лабораторная диагностика листериоза в современных условиях

Баранова О.П., Герасимова Н.Ю., Даренская А.Н.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области», Омск, Российская Федерация

Листериоз – опасное природно-очаговое инфекционное заболевание человека и животных, представляющее актуальную медико-ветеринарную проблему. При листериозе поражается центральная нервная система, репродуктивные органы, инфекция протекает в тяжелой форме с высокой летальностью, вызывает менингит или менингоэнцефалит, крайне опасна для развития плода, приводит к мертворождению и преждевременным родам.

Листериоз широко распространен в мире, регистрируются как спорадические случаи заболеваемости, так и массовые вспышки пищевой инфекции в Российской Федерации и за рубежом.

Заболевание характеризуется множеством источников возбудителя инфекции и разнообразием путей и факторов передачи. Механизмы передачи возбудителя – фекально-оральный, контактный, аспирационный, трансплацентарный. Чаще заражение человека происходит алиментарным путем. Заболевание происходит при употреблении загрязненных продуктов и питьевой воды. Наибольшую опасность представляют молочные, мясные, рыбные продукты, сырые овощи.

Возбудитель заболевания *Listeria monocytogenes* достаточно устойчив во внешней среде, длительное время может сохранять свою жизнеспособность и даже размножаться в условиях холодильника при температуре 4–6°C. В замороженном мясе, при температуре минус 10–28°C, жизнеспособные листерии обнаруживаются до 10–14 месяцев и более. При варке колбас, при температуре 80°C, возбудитель листериоза погибает только через 75–90 минут. Все это создает возможность заражения людей.

В России заболевания животных регистрируют с 1956 г., а людей – с 1992 г. С этого времени отмечается ежегодный рост числа случаев заболеваний в различных возрастных группах. Увеличение числа случаев заболеваний связано с улучшением качества диагностики. Ежегодно в стране регистрируется от 80 до 100 случаев листериоза, причем большая часть заболевших – дети.

За период с 2009 г. по июль 2019 г. в Омске и Омской области зарегистрированы три случая заболевания листериозом – в 2009, 2015, 2017 гг. Все заболевшие взрослые, неработающие. В двух случаях был летальный исход, один завершился выздоровлением.

Лаборатория особо опасных и природноочаговых инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области» в целях своевременного выявления заболеваний среди контингентов повышенного риска работников эпидемиологически значимых по листериозу объектов проводит

исследования проб сыворотки крови от людей и материала от животных серологическим методом на наличие антител к *L. monocytogenes*.

За пять лет – с 2012 по 2016 г. – исследованы 1023 пробы сыворотки крови, при этом диагностический титр был обнаружен у 71 человека, что соответствует 6,9%. Показатель положительных проб колебался от 0 до 14%, максимальное количество пришлось на 2013 г. (2012 г. – 0%, 2013 г. – 14%, 2014 г. – 4%, 2015 г. – 1,5%, 2016 г. – 8,8%).

Также проводилось исследование материала от животных за период с 2012 по 2018 г. в целях выявления циркуляции микроорганизма во внешней среде. За семь лет количество исследований – 2704, из них с положительным результатом – 86, что составило 3,2%. Показатель положительных проб колебался от 0,3 до 9,4%; пик пришелся на 2012 г. (2012 г. – 9,4%, 2013 г. – 3,8%, 2014 г. – 1,4%, 2015 г. – 0,3%, 2016 г. – 1,5%; 2017 г. – 3,5%, 2018 г. – 1,6%).

Бактериологическая лаборатория ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области» проводит исследования проб пищевых продуктов и продовольственного сырья на показатель *L. monocytogenes* классическим бактериологическим методом, методом разделенного импеданса и иммуноферментным методом.

Для проведения исследований на современном уровне за последнее время внедрены в работу новые нормативно-методические документы: МУК 4.2.3262 «Обнаружение патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах и объектах окружающей среды методом фермент-связанного флуоресцентного анализа с применением автоматического анализатора» в 2015 г., ГОСТ 32031 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий *Listeria monocytogenes*» в 2014 г.

Бактериологическая лаборатория в рамках реализации Федеральной целевой программы обеспечена автоматическими микробиологическими анализаторами Mini Vidas и «БакТрак», что позволяет проводить исследования на более профессиональном уровне и выдавать результаты в более короткие сроки – на 2–3-и сутки.

С внедрением ГОСТ 32031 в лаборатории применяют хромогенный питательный агар *Listeria* по Оттавиани и Агости (ALOA) – это среда нового поколения, которая облегчает обнаружение микроорганизмов. Богатая основа среды обеспечивает оптимальные условия для роста листерий, при этом подавляется рост сопутствующих микроорганизмов. Также применение тест-систем «api Listeria» производства «БиоМерье» позволяет проводить точную идентификацию выделенных микроорганизмов.

Все это позволило улучшить качество работы и с 2012 г. получить высеваемость бактерий *L. monocytogenes* из пищевых продуктов. С 2012 по 2018 г. из продуктов выделено 34 культуры *L. monocytogenes*.

В течение 7 лет высеваемость *L. monocytogenes* из пищевых продуктов варьировала от 0,1 до 0,7% (2012 г. – 0,2%, 2013 г. – 0,1%, 2014 г. – 0%, 2015 г. – 0,4%, 2016 г. – 0,7%, 2017 г. – 0,7%, 2018 г. – 0,6%). Произошел рост количества выделенных культур с 2015 по 2018 г. В структуре проб продуктов, контаминированных *L. monocytogenes*, преобладали сырая продукция из птицы – 40%, мяса – 33%, рыбы – 9%. Также в структуре представлена готовая к употреблению

мясная продукция: колбаса и грудинка – 6%; филе рыбы слабосоленой – 12%, что вызывает особую настороженность.

Применение современных методов исследования, иммуноферментного и бактериологического анализаторов, хромогенных питательных сред и диагностических тест-систем позволило улучшить качество работы микробиологических лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области», увеличить высеваемость бактерий *L. monocytogenes*.

Выделение *L. monocytogenes* из пищевых продуктов и антител из сыворотки от людей и животных свидетельствует о циркуляции патогенного агента во внешней среде, что может стать причиной заболевания листериозом людей.

В связи с этим необходимо выполнять комплекс ветеринарно-санитарных и санитарно-гигиенических мероприятий по профилактике листериоза: микробиологический контроль пищевой продукции на предприятиях пищевой промышленности, выявление очагов инфекции и повышение санитарной грамотности населения.

Разработка алгоритма оценки вирулентности штаммов *Bacillus anthracis* на перевиваемой линии мышинных макрофагов *in vitro*

Бахтеева И.В., Гончарова Ю.О., Титарева Г.М., Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Высокий эпидемиологический потенциал сибиреязвенного микроба обусловлен его высокой вирулентностью и способностью сохранять жизнеспособность в споровой форме в течение длительного времени. Одним из ключевых факторов, определяющих вирулентность штаммов, является способность спор преодолевать фагоцитарный барьер макрофагов. В зависимости от агрессивности штамма *Bacillus anthracis* результат взаимоотношений *in vitro* спора vs макрофаг будет варьировать от размножения и функциональной активности сибиреязвенного микроба и гибели макрофагов до гибели самих бацилл. Работа изолированной системы «спора–макрофаг» зависит от множества генов, прямо или косвенно влияющих на патогенные свойства штамма. Главными из них являются токсин и капсула, синтез которых детерминирован плазмидами рХО1 и рХО2. Кроме того, при прочих равных условиях значительное преимущество в противостоянии с макрофагами имеют штаммы *B. anthracis* с высокой скоростью размножения и нарастания биомассы.

В своей работе мы изучали роль каждого из этих факторов в успешной инвазии организма спорами *B. anthracis*, используя систему мышинных макрофагов J744A.1. Мы сравнили прорастание и размножение в макрофагах спор двухплазмидного штамма *B. anthracis* 71/12 (рХО1+рХО2+), одноплазмидного штамма *B. anthracis* СТИ-1 (рХО1+ рХО2–) и их смеси (10:1 соответственно). Соотношение спора/макрофаг в лунке менялось от 10⁵:1 до 10^{–3}:1. С помощью колориметрического теста МТТ определяли, при какой concentra-

ции спор наблюдается их размножение. Полученные данные показали, что фагоцитированные споры штаммов 71/12 и СТИ-1 размножались внутри макрофагов при соотношениях спора/макрофаг 10³:1 и выше, в то время как споры смеси штаммов размножались внутри макрофагов уже в соотношении 10:1.

Таким образом, при использовании модели мышинных макрофагов J774A.1 выявлено потенцирование процесса внутриклеточного размножения спор в присутствии смешанной споровой культуры, содержащей споры двухплазмидного (рХО1+рХО2+) и одноплазмидного (рХО1+ рХО2–) штаммов *B. anthracis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Изучение профиля антибиотикоустойчивости назофарингеальных штаммов пневмококков при бактерионосительстве

Баязитова Л.Т.^{1,2}, Зарипова А.З.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}

¹ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Казань, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет», Казань, Российская Федерация

Пневмококковые инфекции – одна из сложных проблем современного здравоохранения. Они особенно актуальны у детей с повторными респираторными инфекциями. Широкое распространение среди населения антибактериальных препаратов приводит к росту антибиотикорезистентности клинических изолятов *Streptococcus pneumoniae*.

Цель исследования. Оценить чувствительность к антимикробным препаратам назофарингеальных штаммов пневмококков, выделенных у детей-носителей *S. pneumoniae* с повторными респираторными заболеваниями.

Материалы и методы. В исследование включены 511 штаммов *S. pneumoniae*, выделенные от детей в возрасте от 6 месяцев до 7 лет с повторными респираторными заболеваниями в период 2009–2016 гг. Фенотипическую идентификацию *S. pneumoniae* проводили на основании морфологических и культуральных свойств. Анализ антибиотикорезистентности проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2 – 2015 г.).

Результаты. В микробиоценозе носоглотки обследованных детей *S. pneumoniae* высевался в 32,9% случаев, причем у 58,4% детей – в виде монокультуры; степень колонизации – 10⁴–10⁶ КОЕ/мл. Пенициллинчувствительными по результатам скрининга с диском с 1 мкг оксациллина оказались 88,2–84,9% изолятов в зависимости от периода исследования. Анализ чувствительности к бензилпенициллину с помощью E-тестов выявил штаммы с промежуточной чувствительностью (МПК 0,12–1 мг/л). В период с 2009 по 2016 г. доля чувствительных к амоксициллину штаммов уменьшилась с 96,1% (2009 г.) до 85,1% (2016 г.).

Прослеживается тенденция увеличения количества изолятов, резистентных к азитромицину и кларитромицину. В 2009–2011 гг. выявлено 90,7% азитромицинчувствительных и 93,4% кларитромицинчувствительных пневмококков; в 2016 г. – 78,6% и 85,1% чувствительных штаммов соответственно. Распределение чувствительности к фторхинолонам: в период с 2009 по 2011 г. выявлено 78,9% ципрофлоксацинчувствительных штаммов; в 2016 г. – 72,6%. Отмечена высокая антипневмококковая активность клиндамицина: выявлено 94,7–91,8% чувствительных штаммов в зависимости от периода исследования. Но начиная с 2015 г. отмечается статистически значимый рост количества линкозамидоустойчивых штаммов.

Заключение. Учитывая рост уровня антибиотикорезистентности циркулирующих у детей-бактерионосителей пневмококков, нельзя недооценивать роль назофарингеального носительства *S. pneumoniae* в детской популяции.

Циркуляция *Staphylococcus epidermidis* среди новорожденных в детском стационаре

Беляева Е.В., Борискина Е.В., Ермолина Г.Б., Шкуркина И.С.

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Российская Федерация

Проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, актуальна для здравоохранения всего мира в связи с высоким уровнем заболеваемости и летальности, а также причиняемым социально-экономическим ущербом. В последнее время среди внутрибольничных стафилококковых инфекций отмечается рост роли коагулазонегативных стафилококков (CoNS), особенно у новорожденных с низкой массой тела и пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). В связи с этим важна не только ранняя и достоверная диагностика инфекционных осложнений, ассоциированных с CoNS, но и разработка методов видовой и внутривидовой дифференциации, позволяющих выявить источники и пути распространения возбудителя в стационаре, определять случаи эндогенного и экзогенного инфицирования.

Цель исследования. Поиск идентичных культур *Staphylococcus epidermidis*, циркулирующих в детском стационаре, типизируемых по спектрам их внеклеточных белков.

Были исследованы 90 штаммов *S. epidermidis*, выделенные в течение 6 месяцев в трех отделениях: патологии новорожденных и недоношенных детей с признаками гнойно-воспалительной инфекции (№ 7), патологии новорожденных и недоношенных детей без признаков инфекции (№ 8), ОРИТ детского стационара (г. Нижний Новгород). Внеклеточные продукты штаммов получали при выращивании стафилококков в чашках Петри на ГРМ-агаре, покрытом стерильным целлофановым диском, для отделения белков питательной среды. Типирование культур по спектрам внеклеточных белков проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле.

В результате сравнения спектров внеклеточных белков были сформированы 5 групп штаммов, идентичных по электрофореграммам. В первую и вторую группы были объединены пять штаммов, выделенных от разных пациентов внутри одного отделения (№ 8) в течение нескольких дней. В третью группу вошли три штамма, выделенные в ОРИТ и в отделении № 8. В четвертую группу вошли четыре штамма, выделенные в отделении № 8 от разных пациентов в течение месяца, отличающиеся полирезистентностью к антибиотикам. В пятую группу вошли штаммы, выделенные от пациентов отделений № 7 и № 8 с интервалом в полгода.

Полученные результаты свидетельствуют о небольшом проценте экзогенного инфицирования пациентов детского стационара, однако в случае полирезистентных культур возможна широкая циркуляция экovarов *S. epidermidis*.

Эффективность антиретровирусной и иммунокорректирующей терапии у больных ВИЧ/СПИД в Узбекистане

Бердиева З.И.¹, Игнатов П.Е.², Маматкулов И.Х.³

¹НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Благотворительный фонд IDEА, США;

³СП ООО «VIBINOR», Республика Узбекистан

Был проведен анализ изменений в клиническом состоянии у больных ВИЧ/СПИД (III–IV стадия) под влиянием антиретровирусной (АРВ) и иммунокорректирующей терапии. Шестьдесят больных в течении 6 месяцев получали АРВ-терапию в комплексе с препаратом Иммуно-5 (30 человек – I группа) и монотерапию только одним препаратом Иммуно-5 (30 человек – II группа). Третья группа (30 человек) служила контролем и принимала только АРВТ. При анализе результатов через 6 месяцев оказалось, что если вирусная нагрузка в первой группе упала в 171,1 раза, то во второй – только в 12,9 раза ($p < 0,001$). При этом количество CD4-клеток в первой группе возросло только на 157,8%, а во второй – на 190,1% ($p < 0,005$). Колебания этих показателей в контрольной группе не выходили за пределы достоверности. Через 6 месяцев после начала лечения проводили контроль изменений клинического состояния у больных. Было отмечено, что у всех больных (т.е. у всех 100%) в опытных группах (I и II) полностью исчезли такие клинические симптомы, как слабость, потеря аппетита, сыпь на коже, головные боли, головокружения, которые присутствовали на момент начала лечения. В контрольной (III группе) каких-либо выраженных изменений в клиническом состоянии больных отмечено не было (у 2 пациентов исчезли головные боли, но у 5 развилась потеря аппетита и у одного появилась сыпь).

Таким образом, лечение больных с использованием препарата Иммуно-5 демонстрирует замечательный терапевтический эффект и работа в этом направлении будет продолжена.

Возможности улучшения эффективности антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных больных

Бердиева З.И., Игнатов П.Е.,
Маматкулов И.Х., Джурабаева Н.Б.

Республиканский Центр по борьбе со СПИД Министерства
Здравоохранения Республики Узбекистан, Ташкент,
Республика Узбекистан;
Американский благотворительный фонд IDEA, США;
ООО «VIBINOR», Республика Узбекистан;
НИИ эпидемиологии, микробиологии и инфекционных
заболеваний, Ташкент, Республика Узбекистан

Проблема ВИЧ/СПИД приобретает все большую актуальность во всем мире из-за отсутствия обнадеживающих методов терапии больных. Отсутствие эффективных методов лечения, как известно, приводит к увеличению источников инфекции, распространяющих эту болезнь. Согласно канонам госпитальной эпидемиологии, возбудители внутрибольничных инфекций (ВБИ), как правило, имеют биологическую резистентность к противомикробным препаратам или быстро ее приобретают в процессе долгого лечения, что требует разработки и поиска новых противовирусных препаратов. Данное свойство возбудителей ВБИ натолкнуло нас на мысль использования биологически активных веществ, не вызывающих резистентность микроорганизмов к химиопрепаратам, в сочетании с антиретровирусной терапией (АРВТ). При этом мы подобрали идеальную композицию соотношений наиболее часто используемых пищевых продуктов, которая обладает свойством снятия хронической анергии клеток иммунной системы (картофельный крахмал, аскорбиновая кислота, мятный ментол и тканевый гидролизат). Действующим веществом был тканевый гидролизат, впервые полученный в России в виде водной вытяжки из печени и селезенки крупного рогатого скота по специальной технологии. Препарат в виде пищевой добавки был зарегистрирован в США под названием Иммуно-4, затем в Узбекистане под названием Иммуно-5 (2001) и в России – Иммуно (2003). Исследования проводились согласно Клиническому протоколу «Изучение профилактической эффективности препарата Иммуно-5 (капсулы для приема внутрь, производства СП ООО Vibinor, Узбекистан)», утвержденному Министерством здравоохранения Республики Узбекистан 02.02.2017. Для исследования были выбраны четыре группы больных: 1-я группа ($n = 30$) получала АРВТ + Иммуно-5 в течение 6 месяцев; 2-я группа ($n = 30$) – только препарат Иммуно-5 в течение 6 месяцев; 3-я группа ($n = 30$) – только АРВТ в течение 6 месяцев; 4-я группа ($n = 30$) не получала ни АРВТ, ни Иммуно-5. В результате проведенного исследования установлено, что в 1-й группе уровень вирусной нагрузки (ВН) уменьшился в 171,1 раза при медленном увеличении количества СД4-клеток в 1,58 раза, когда как во 2-й группе уровень ВН снизился в 12,9 раза при увеличении СД4-клеток до 1,90 раза. В 3-й группе отмечено снижение ВН в 4,6 раза и увеличение СД4-клеток в 1,42 раза. В 4-й группе картина имела обратный характер: ВН увеличивалась, а количество СД4-клеток уменьшалось.

Таким образом, можно сделать вывод о появлении возможности увеличения эффективности АРВ-препаратов, которые в значительной степени могут нейтрализовать источники инфекции при ВИЧ/СПИД, что имеет первостепенное значение в выполнении программ его элиминации. Исследования продолжаются.

Эффективность бактериофага Pm3 при лечении летальной инфекции у мышей, обусловленной *Proteus mirabilis*

Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И.,
Верёвкин В.В., Красильникова В.М., Воложанцев Н.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной
микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактерии рода *Proteus* представляют большой интерес для микробиологов и инфекционистов, так как в последнее время они часто становятся причиной заболеваний у человека. Что касается внутрибольничных инфекций, то наиболее часто протеи обнаруживаются в гное из послеоперационных ран урологических больных и больных с трофическими язвами. Клинически значимыми штаммами протей являются *P. mirabilis*, *P. rettgeri* и *P. morganii*. Реже из биологических материалов выделяют *P. vulgaris*. Несмотря на чувствительность *P. mirabilis* к антибиотикам, описаны случаи вспышек инфекции, вызываемой штаммами, устойчивыми одновременно к нескольким препаратам. В случае неэффективности антибиотикотерапии литические протейные бактериофаги могут служить препаратами выбора для лечения протейной инфекции у человека.

Цель исследования. Сравнительная оценка эффективности бактериофага Pm3 на примере лечения летального сепсиса у мышей, обусловленного штаммом *P. mirabilis* M32.

Материалы и методы. Острый протейный сепсис моделировали на аутбредных мышах SHK с индуцированным иммунодефицитом. Затем животных инфицировали внутрибрюшинно культурой *P. mirabilis* M32 в дозе 10 ЛД₅₀. Одной группе животных с целью профилактики инфекции внутрибрюшинно вводили Pm3 (5×10^8 БОЕ за час до заражения). Вторую группу мышей начинали лечить бактериофагом через 1,5 часа после инфицирования и продолжали дважды в день на протяжении пяти суток. Животным из третьей группы вводили антибиотик ципрофлоксацин в дозе 100 мг/кг дважды в сутки в течение пяти дней. Контрольная группа мышей лечения не получала. Используемые для терапии бактериофаг и антибиотик *in vitro* были активны против штамма *P. mirabilis* M32.

Результаты. Установлено, что бактериофаг Pm3 в режиме профилактики защищал от гибели 80% мышей, инфицированных штаммом *P. mirabilis* M32. Фаготерапия в режиме лечения была более эффективной: выживаемость составила 90% среди экспериментальных животных. Все мыши, выжившие после заражения протеем и последующей фаготерапии, были свободны от патогена на 14-е сутки наблюдения. В то же время 90% животных из контрольной (без лечения) группы погибали в течение суток после заражения.

Лечение экспериментальной протейной инфекции у мышей ципрофлоксацином приводило к выживанию и полной санации 80% животных.

Выводы. Бактериофаг Pm3 обладает высокой активностью *in vivo* против *P. mirabilis* M32. Лечебная эффективность фага Pm3 сопоставима с антибиотиком ципрофлоксацином.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Состояние лабораторной диагностики дифтерийной инфекции в Российской Федерации

Борисова О.Ю.¹, Гадуа Н.Т.¹, Пименова А.С.¹, Чагина И.А.¹, Кафарская Л.И.²

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова», Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить состояние лабораторной диагностики дифтерийной инфекции в Российской Федерации за последние пять лет.

Материалы и методы. Проанализированы аналитические материалы, присланные из всех субъектов Российской Федерации в Референс-центр по мониторингу за возбудителями кори, краснухи, эпидемического паротита, коклюша и дифтерии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора.

Результаты. В 2017 г. в Российской Федерации не было зарегистрировано ни одного случая заболевания дифтерией и выявлены 2 бактерионосителя (Самарская, Челябинская обл.); в 2018 г. – 4 случая заболевания (ХМАО, Новосибирская обл., Северная Осетия) и 3 бактерионосителя (ХМАО). За последние пять лет отмечается снижение в 1,18 раза количества проведенных бактериологических исследований на дифтерийную инфекцию, из которых большинство (76,44%) проведено в ЛПО Минздрава России. Большинство исследований проводится в Центральном (29,83%), Приволжском (19,25%) и Сибирском (14,38%) федеральных округах. В ЦФО большинство (42,64%) исследований на дифтерию проводится в г. Москве, Московской и Воронежской обл., что составляет 16,6% от всех территорий округа; в ПФО 77,8% исследований проводится в 7 субъектах: республика Башкортостан, Нижегородская, Оренбургская, Пензенская, Самарская и Саратовская обл., Пермский край, что составляет 50% от всех территорий округа. В СФО 69,13% исследований проводится в 5 субъектах округа: республика Бурятия, Алтайский край, Иркутская, Кемеровская и Новосибирская обл., что составляет 41,67% от всех территорий округа. 15,47% территорий используют для взя-

тия патологического материала на дифтерию коммерческие тампоны с транспортной средой, что противоречит действующей нормативно-методической документации (НМД) и может приводить к потере патологического материала. На ряде территорий не проводится контроль качества питательных сред для первичного посева патологического материала, используется лошадиная сыворотка для постановки пробы на токсигенность, не контролируется уреазная и нитратредуктазная активности, что не соответствует НМД.

Заключение. Для сохранения эпидемиологического благополучия по дифтерии на территории РФ необходимо обеспечить поддержание уровня бактериологической диагностики в соответствии с действующими НМД, повышение квалификации специалистов, проводящих исследования, на тематических усовершенствованиях с практическим курсом 1 раз в три года, а также прохождение внешнего контроля качества с идентификацией контрольных задач.

Эпидемии холеры в Гвинейской Республике: эпидемиология, меры борьбы и профилактики

Буаро М.И.¹, Константинов О.К.¹, Бумбали С.¹, Лама Н.Е.²

¹Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика;

²Министерство здравоохранения и гигиены Гвинеи, Конакри, Гвинейская Республика

Приведены результаты эпидемиологических и бактериологических исследований в период вспышек холеры в Гвинее за период с 1970 по 2014 г. и анализ предпринятых мер борьбы. Число заболевших за этот период составило 94 302 человека, из которых умерло 3495 (летальность – 3,7%). Из испражнений больных неоднократно выделяли возбудителя холеры *Vibrio cholerae* O1, биотип Эль Тор, серовар Огава. Молекулярно-биологический анализ показал, что выделенные штаммы относились к генотипу 2А. До 1994 г. периодичность вспышек составляла около 8 лет. Вспышки наблюдались в литоральной зоне Атлантического побережья страны и в столице, г. Конакри. В более поздний период вспышки холеры отмечались и в континентальной части страны, вследствие более активной миграции населения, а также в приграничных территориях со Сьерра-Леоне и Либерией, вследствие миграции беженцев из этих стран из-за военных конфликтов. В период эпидемий предпринимались следующие меры борьбы и профилактики: были организованы центры лечения холеры, проводились своевременная парентеральная дегидратация, в том числе пероральная, дезинфекция источников воды, пропаганда общей гигиены, мобилизация местной администрации и медицинское просвещение населения.

Необходим строгий эпиднадзор над диарейными заболеваниями с диарейным синдромом как во время вспышки, так и в межэпидемический период спорадических заболеваний.

Изучение резистентности патогенных бактерий к антибиотикам в лечебных учреждениях Гвинейской Республики

Буаро М.И.¹, Константинов О.К.¹, Бумбали С.¹, Лама Н.², Диалло Д.М.²

¹Исследовательский институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика;

²Университет Гамаля Абдель Насера, Конакри, Гвинейская Республика

Повсеместное возникновение устойчивости бактерий – возбудителей опасных заболеваний к антибиотикам вызывает озабоченность органов здравоохранения развивающихся стран. В Гвинейской Республике этот вопрос слабо изучен, что и явилось темой наших исследований.

Изучено 875 бактериальных штаммов, имеющих медицинское значение, из лечебных учреждений Гвинеи. Для каждого штамма выполняли антибиограмму методом преципитации в агаре. Установлено, что исследованные бактерии приобрели устойчивость ко многим антибиотикам. Сохранена чувствительность: шигелл – к налидиксовой кислоте, ципрофлоксацину и др., *Proteus mirabilis* – к амикацину и цефалоспорином 3-го поколения, *Staphylococcus aureus* – к метициллину, гентамицину и римфапицину, *Streptococcus β-hemolyticus* остаются чувствительными к большинству испытанных антибиотиков, кроме тетрациклина и хлорамфеникола, штаммы рода *Salmonella* сохраняют чувствительность ко многим антибиотикам. Изучены причины возникновения резистентности, обусловленные социально-экономическими условиями жизни населения. Предложены меры для контроля чувствительности патогенных бактерий к антибиотикам.

Структура патогенных микроорганизмов у пациентов отделения гнойной хирургии

Будаев Г.Е., Провадо А.И., Росеева К.В., Серов Н.С., Черных Д.А.

ОГБУЗ «Городская клиническая больница №1», Иркутск, Российская Федерация

Проведен анализ бактериологических посевов, полученных от пациентов, лечившихся в отделении гнойной хирургии в 2018 г. За этот период получено 1541 положительный бакпосев из образцов, полученных из ран, брюшной полости и дренажей.

Основным патогенным микроорганизмом был *Staphylococcus aureus* (32,4%). Этот вид бактерий был представлен в основном MRSA-образцами с высокой чувствительностью к ванкомицину и линезолиду. *Enterococcus faecalis* и *S. epidermidis*, чувствительные к пенициллинам, цефалоспорином, ванкомицину и в меньшей мере к макролидам и фторхинолонам, выявлены в 8,6 и 9,9% бакпосевов соответственно.

Из грамотрицательной флоры наиболее часто встречалась *Escherichia coli* (14,4% от общего числа положительных бакпосевов), чувствительная к действию карбапенемов и

амикацина. К гентамицину и к цефалоспорином III–IV поколений *E. coli* в более чем 50% случаев была устойчива. Среди фторхинолонов наибольшую антибактериальную активность показывал левофлоксацин. Подобная резистентность к антибиотикам наблюдалась у *Pseudomonas aeruginosa* (11,5% от общего числа положительных бакпосевов), клебсиелл (*Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*), протеев (*Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*) и *Citrobacter freundii* (8,9; 5,4 и 2,6% от общего числа положительных бакпосевов соответственно). В небольшом числе случаев эти микробы были чувствительны только к пиперациллину/тазобактаму. Единичные штаммы были устойчивы ко всем тестируемым антибиотикам. *Acinetobacter baumannii* был выделен в 1,5% образцов и характеризовался высокой устойчивостью к основным антибиотикам. Бактерии *Pantoea agglomerans* обнаружены в 2,4% образцов и были более чувствительны к имипенему, чем к меропенему. Грибы рода *Candida* высевались из брюшной полости и ран в 3,5% случаев (53 посева) и были чувствительны к амфотерицину и нистатину. Несколько меньшая чувствительность была к флуконазолу.

Особенностью патогенной флоры у пациентов отделения гнойной хирургии является наличие микробных ассоциаций. Из одного образца биологического материала может высеваться два и более патогена. Грамположительная флора дополняется грамотрицательной. Частым компонентом становятся грибы. Такое сочетание микробов распространено у тяжелых пациентов, длительно находящихся в стационаре. Основываясь на этих данных, можно определять наиболее эффективные стратегии антибиотикотерапии.

Позиционное IS100-типирование как метод внутривидовой дифференциации возбудителя чумы

Вагайская А.С., Гапельченкова Т.В., Красильникова Е.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

В геноме *Yersinia pestis* присутствуют четыре типа IS-элементов (IS100, IS1541, IS285, IS1661), различия в числе и расположении которых используют для генотипирования штаммов чумного микроба. Метод генотипирования IS-RFLP, где в качестве зонда используют последовательность IS-элемента, обладает достаточной дискриминирующей силой, но трудоемок в исполнении. Позиционное IS-типирование является более современным подходом, основанным на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР), мишенью которой являются известные сайты встройки IS в геноме.

В данном исследовании для определения локализации IS100-элементов в геномах 152 штаммов *Y. pestis* (subsp. *pestis*: 69 – bv. *medievalis*, 9 – bv. *antiqua*; subsp. *microti*: 49 – bv. *caucasica*, 4 – bv. *hissarica*, 13 – bv. *altaica*, 1 – bv. *talassica* и 6 – bv. *ulegeica*), выделенных в различных природных очагах России, стран СНГ и Монголии, был выбран метод ПЦР с использованием 27 локус-специфичных праймеров. В ка-

честве референтного использовали штамм *Y. pestis* subsp. *pestis* bv. *orientalis* EV НИИЭГ, тестирование остальной части коллекции проводили в сравнении с полученным фингер-принтом, который полностью совпадал с опубликованным ранее для генетически гомогенных штаммов bv. *orientalis* типа O1. Во всех случаях наблюдали корреляцию между IS100-генотипом и биоварной принадлежностью штаммов чумного микроба. Подтверждено, что IS100-типирование можно применять для идентификации и внутривидового деления штаммов возбудителя чумы при проведении эпидемиологического надзора за природными очагами инфекции, причем праймеры vlm33rev и ISfor1754 можно использовать для четкой видовой идентификации изолятов не только подвида *pestis*, но и подвида *microti*. Установлено, что на территории природных очагов чумы стран СНГ и Монголии циркулирует не менее 56 IS100-типов чумного микроба. Выявлено 54 новых IS100-типа представителей вида *Y. pestis*.

Использованный метод генотипирования можно применять для проведения молекулярно-эпидемиологического надзора за чумой, в том числе установления связи штаммов с эпидемиологическими и эпизоотологическими проявлениями.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Создание штаммов *Francisella tularensis* 15 НИИЭГ с флуоресцирующими белками в желтой и красной областях спектра: YFP и NirFP

Вахрамеева Г.М., Павлов В.М., Мокриевич А.Н.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

В молекулярно-биологических и иммунологических исследованиях широко используются белки, флуоресцирующие в разных частях спектра видимого света: группа белков GFP – в зеленой части спектра, белок YFP – в желтой части спектра и белок NirFP – в красной части. Использование флуоресцирующих белков представляет несомненную пользу для всестороннего изучения иммуногенеза и патогенеза туляремийного микроба. Ранее в нашем Центре был создан стабильный плазмидный вектор pPMC1 для экспрессии генов, кодирующих как гомологичные, так и гетерологичные белки в клетках *Francisella tularensis*. Бактерии *F. tularensis*, несущие рекомбинантные плазмиды на основе вектора pPMC1, стабильны из-за наличия системы phd-doc в плазмиде. Такая система приводит к гибели мутантных бесплазмидных клеток в бактериальной популяции.

Рекомбинантные опероны со структурными частями генов *yfp-c* и *eqFP670* были сконструированы с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим объединением ампликонов, содержащих промоторную область оперона GroE *F. tularensis*, и генов *yfp-c* и *eqFP670* соответственно по сайту узнавания рестриктазы NdeI. В качестве матриц для ПЦР использовали ДНК плазмид pPMC1, pTurboYFP и pNirFP-C («Евроген»).

Гибридные опероны были встроены в вектор pPMC1 между сайтами рестрикции XhoI и BamHI. Перенос рекомбинантных плазмид в клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ осуществляли методом электропорации. Отбор цветных клонов с фенотипом CmR проводили на среде с хлорамфениколом (3 мкг/мл). В результате селективного отбора были получены штаммы *F. tularensis*: FTY-15 с плазмидой pGVY-13, содержащей ген *yfp-c*, и FTR-15 с плазмидой pGVR-4, содержащей ген *eqFP670*. Размер этих плазмид составлял 5,0 т.п.н. Экспрессия клонированных генов была подтверждена флуоресценцией бактерий под воздействием ультрафиолетового облучения. Данный признак штаммов сохранялся при отрицательных температурах в криозащитной среде и в популяции бактерий, полученных в результате выращивания культур на плотных и в жидких питательных средах.

Созданные плазмиды позволяют модифицировать различные штаммы *F. tularensis* для детального изучения взаимодействия бактерий и эукариотических клеток.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Особенности переноса плазмид в бактерии вакцинного штамма *Francisella tularensis*

Вахрамеева Г.М., Шишкова Н.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Для иммунопрофилактики туляремии в Российской Федерации используется живая туляремийная вакцина, созданная на основе штамма *F. tularensis* 15 НИИЭГ. Генетические методы, наряду с молекулярно-биологическими и иммунологическими, являются ключевыми для изучения иммуногенности данного штамма.

Бактерии рода *Francisella* отличаются от других грамотрицательных родов бактерий по способности поддерживать автономную репликацию плазмид, обычно используемых для генно-инженерных работ с энтеробактериями (*Escherichia* spp., *Yersinia* spp. и пр.). В бактериях рода *Francisella* способны реплицироваться плазмиды, подобные pFNL10, pC194, pTV24, pSa. Группы плазмид, имеющие области репликации, сходные с репликационными плазмид pFNL10, pC194 и pTV24, способны трансформировать клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ с помощью методов криотрансформации и электропорации. Перенос плазмиды pSa в клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ, кроме этих двух методов, можно осуществлять также методом межвидового скрещивания из клеток *E. coli* в клетки *F. tularensis* 15 НИИЭГ.

Вне зависимости от вида плазмид их перенос из клеток штамма *E. coli* S17, несущего встроенный в хромосому *tra*-оперон плазмиды RP4, возможно осуществить, если в исследуемую плазмиду встроить фрагмент ДНК с *mob*-областью плазмиды RP4. Проведенный анализ свойств плазмид, способных реплицироваться в клетках *F. tularensis*,

позволяет целенаправленно создавать молекулярные инструменты для всестороннего изучения вакцинного штамма *F. tularensis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Активность бактериофага ECD4 на биопленке, формируемой бактериями *Escherichia coli* серотипа O104:H4

Верёвкин В.В., Красильникова В.М., Мякинина В.П., Денисенко Е.А., Воложанцев Н.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактериальные биопленки имеют решающее значение в патогенезе многих клинически важных инфекций. Биопленки трудно поддаются разрушению, они более устойчивы к противомикробным препаратам и компонентам иммунной системы макроорганизма по сравнению с планктонными культурами. В составе биопленок бактерии выживают в присутствии антибиотиков в концентрациях, в 1000 раз превосходящих минимальную подавляющую концентрацию препарата для планктонных бактериальных культур. Одним из способов разрушения бактериальных биопленок являются бактериофаги, использующие собственные ферменты – деполимеразы – для деградации основного компонента биопленок, бактериальных полисахаридов. Известно, что многие вирусы бактерий могут инфицировать и размножаться в бактериальных биопленках, в том числе биопленках, формируемых *Escherichia coli*.

Цель исследования. Изучение активности бактериофага ECD4 на биопленках бактерий *E. coli* одного из наиболее патогенных для человека серотипов O104:H4.

Эксперименты проводили на биопленках *E. coli* O104:H4, сформированных в течение ночи в иммунологическом планшете. Биопленки отмывали от свободных бактерий и обрабатывали суспензией фаговых частиц в концентрации 10^6 БОЕ/мл (опытные лунки) или тем же количеством LB-бульона (контрольные лунки). Планшет инкубировали без аэрации при температуре 37°C. Результаты учитывали через 3 и 24 часа инкубации, определяя количество живых бактерий в ячейке после разрушения биопленки 10-кратным пипетированием через наконечник на 300 мл и высева на плотную питательную среду, а также фотоколориметрическим методом, определяя оптическую плотность суспензии при длине волны 405 нм.

Проведенные эксперименты показали, что обработка биопленок суспензией бактериофага приводит к существенному снижению количества живых бактерий *E. coli* O104:H4. Средние значения концентрации бактерий в пробах, обработанных фагом в течение 3 часов, составляли $8,2 \times 10^7$ КОЕ/мл, в течение 24 час – $3,0 \times 10^7$ КОЕ/мл. В контрольных пробах, необработанных фагом, соответствующие значения достигли величин $1,16 \times 10^9$ и $1,25 \times 10^9$ КОЕ/мл. Оптическая плотность в опытных ячейках (0,338 и 0,189) была также меньше, чем в контрольных (0,562 и 1,003 соответственно).

Полученные данные указывают на эффективность бактериофага ECD4, способного не только проникать через биопленку, но и вызывать гибель бактерий *E. coli* серотипа O104:H4 в составе биопленки.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Выделение и идентификация биопленкообразующих микробов в атеросклеротических бляшках

Витович М.В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Атеросклероз – медленно-прогрессирующее поражение артерий, в результате которого липидные отложения частично или полностью блокируют ток крови. Для индукции и прогрессирования атеросклероза, а также развития острых, подчас катастрофических, сосудистых событий несомненной стала роль хронического воспалительного ответа с системным повреждением эндотелия и развитием его дисфункции. Результаты многочисленных исследований однозначно свидетельствуют об участии различных микробных агентов в поддержании хронического воспаления. Метагеномные исследования свидетельствуют о наличии в атеросклеротических бляшках генетических маркеров возбудителей воспалительных заболеваний полости рта и других клинически важных инфекций, в том числе кишечной и мочеполовой систем [Mitra S. et al., 2015]. Но живых микробов выделяли только в экспериментальных моделях животных [Kozarov E., 2012].

Цель исследования. Выделение и идентификация жизнеспособных микробов в материале из атеросклеротических бляшек.

Материалы и методы. Проведено культивирование в системе текучих сред и анаэробных условиях [Ипполитов Е.В., 2015] фрагментов атеросклеротических бляшек, выделенных от 12 больных ишемической болезнью сердца при аортокоронарном шунтировании. Дизайн микробиологических исследований на первом этапе включал посев на жидкие питательные среды, пересев на плотные питательные среды и ПЦР-диагностику. На втором этапе проводили учет результатов культивирования в жидкой питательной среде (оценка оптической плотности, визуальный и микроскопический метод) с последующим повторным высевом на плотные питательные среды и анализом результатов; проведение вторичной ПЦР-диагностики из образцов жидкой питательной среды (после культивирования в них исследуемых образцов). Первичный посев для выделения потенциальной микробиоты проводили на питательные среды производства HiMedia Laboratories Pvt. Limited (Индия): M863 – анаэробный бульон по Вилкинсу–Чалгрону, с добавлением обогатительной добавки для селективного выделения неспорных анаэробов (FD001). Также использовали плотные питательные среды M521 (стафилококковый агар N110), M832 (анаэробный агар по Вилкинсу–Чалгрону, с обогатительной добавкой для селективного выделения неспорных анаэробов (FD001)

В геномах клебсиеллезных бактериофагов выявлены и клонированы гены, кодирующие белки с полисахарид-деполимеризующей активностью. Получены рекомбинантные деполимеразы, обладающие строгой специфичностью к капсульным полисахаридам *K. pneumoniae* K1, K2 и K57 типов, являющихся наиболее вирулентными для человека патогенами. Специфичность деполимераз продемонстрирована на коллекции клинических штаммов *K. pneumoniae* разных капсульных типов.

Воздействие ампициллина на клетки *Escherichia coli*: динамика изменений электрооптических и морфометрических параметров суспензии микроорганизмов

Волошин А.Г., Слукин П.В., Тедиков В.М., Игнатов С.Г., Фурсова Н.К.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Проблема антибиотикоустойчивости патогенных микроорганизмов, с одной стороны, и связанное с этим появление все новых антибиотиков, с другой стороны, делают актуальным вопрос о методах оперативной оценки чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. Однако при выборе такого метода важно знать, какие именно изменения в морфологии и электрофизических параметрах микробной клетки вызывает действие данного антибиотика. Электрооптический анализ как раз и позволяет исследовать одновременно электрофизические и морфометрические параметры суспензии бактерий.

Электрооптический метод анализа суспензий основан на способности частиц поляризоваться под действием переменного электромагнитного поля. В результате изменяется ориентация частиц в суспензии и, как следствие, изменяются оптические свойства самой суспензии. Анализ формы единичного электрооптического сигнала, особенно его релаксационной составляющей, позволяет судить о форме и размерах суспендированных частиц. Зависимость стационарной фазы электрооптического сигнала от частоты прикладываемого поля – электрооптический спектр, или частотная дисперсия анизотропии поляризуемости (ЧДАП) – отражает электрофизические свойства частиц и их структур.

Целью работы было проследить динамику изменений электрооптических и морфометрических параметров бактериальных клеток при воздействии на них ампициллина.

В работе использовали чувствительный к ампициллину штамм *Escherichia coli*.

Электрооптические измерения проводили с использованием установки «ELBIC», разработанной в ГНЦ ПМБ. Это устройство позволяет регистрировать ЧДАП в диапазоне частот электрического поля от 10 кГц до 30 МГц, при напряжениях от 2 до 15 в/см и временах импульса от 1 до 120 сек. Источником света является светодиод ($\lambda = 660$). В наших экспериментах использовался весь диапазон частот при напряженности поля 10 в/см и длительности импульса 2 сек.

В качестве дополнительной информации о морфометрических характеристиках исследуемых клеток использовали

фотографии фиксированных и окрашенных мазков исследуемых бактерий.

Выявлена характерная динамика изменения ЧДАП суспензии микроорганизмов под воздействием ампициллина. Показано отсутствие корреляции между изменениями ЧДАП и морфометрическими параметрами исследуемых бактерий. Это говорит о том, что изменения ЧДАП связаны непосредственно с изменениями поляризационных, а значит, и физико-химических свойств клеточных структур под воздействием ампициллина.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Результаты профилактических исследований на носительство *Staphylococcus aureus* в г. Воронеже за 2015–2017 гг.

Галушкин А.В., Холодова Л.А., Макашов П.И., Стёпкин Ю.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области», Воронеж, Российская Федерация

В соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России от 12.04.2011 № 302н «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда» обследование на носительство патогенного стафилококка является необходимым для лиц, работающих в организациях пищевой промышленности, общественного питания, торговли и лечебно-профилактических учреждениях.

Цель исследования. Проведение анализа уровня носительства золотистого стафилококка у работников соответствующих организаций, проходивших профилактические осмотры в г. Воронеже за период 2015–2017 гг.

Материалы и методы. В качестве материала для исследования использовали мазки из полости носа и зева, взятые сухими ватными тампонами. Выделение и идентификацию *Staphylococcus aureus* осуществляли классическим бактериологическим методом по Приказу № 535 от 22 апреля 1985 г. с посевом на питательную среду Желточно-солевой агар, приготовленный из ГРМ-агара (Оболensk).

Для ориентировочной оценки количественного роста микроорганизмов использовали следующие критерии: I степень (очень скудный рост) – рост единичных колоний (до 10); II степень (скудный рост) – рост 10–25 колоний; III степень (умеренный рост) – рост множества колоний (не менее 50); IV степень (обильный рост) – сплошной рост колоний. III и IV степени роста обычно свидетельствуют об этиологической роли данного микроорганизма, I и II степени – о носительстве или контаминации.

Результаты. Всего в 2015 г. проведено 7224 исследования. Штаммы *S. aureus* выделены у 526 (7,1%) человек, при-

чем I степень роста обнаружена у 59 (0,8%); II степень – у 216 (2,9%); III степень – у 177 (2,4%), III степень – у 74 (1%).

В 2016 г. проведено 8517 исследований и выделены штаммы *S. aureus* у 921 (10,7%) человека, в том числе с I степенью роста – у 180 (2,1%); со II степенью – у 380 (4,4%); с III степенью – у 248 (2,9%), с IV степенью – у 113 (1,3%).

В 2017 г. количество исследований составило 2837. Штаммы *S. aureus* обнаружены у 260 (9,1%) человек: с I степенью роста – у 64 (2,2%); со II степенью – у 93 (3,3%); с III степенью – у 63 (2,2%) и с IV степенью – у 40 (1,4%).

За 2015–2017 гг. общее количество исследований составило 18 578. Выделены культуры *S. aureus* у 1707 (9,18%) человек: с I степенью роста – у 303 (1,6%); со II степенью – у 689 (3,7%); с III степенью – у 488 (2,6%) и с IV степенью – у 227 (1,2%).

Выводы. Почти у 10% обследованных работников, проходивших профилактические осмотры в г. Воронеже за период 2015–2017 гг., верхние дыхательные пути обсеменены *S. aureus*. В исследованных мазках преобладающей регистрировалась II и III степень роста. Практически 3,8% от общего количества обследованных в соответствии с классификацией Приказа № 535 можно отнести к выделителям во внешнюю среду.

Для выяснения необходимости санации обследованных лиц желательным является проведение молекулярно-генетических исследований каждого выделенного штамма с целью определения его патогенности и клинической значимости.

Практический опыт выделения *Francisella tularensis* из полевого материала природного очага туляремии степного типа в условиях локальных и разлитых эпизоотий

Гнусарева О.А., Зайцев А.А., Агапитов Д.С., Царева Н.С., Остапович В.В., Дубянский В.М.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Цель исследования. Выработка практических предложений по оптимизации лабораторной диагностики при проведении эпизоотологического мониторинга в природном очаге степного типа в условиях локальных и разлитых эпизоотий.

С 2003 по 2016 г. на территории природного очага Ставропольского края (СК) периодически регистрировали случаи заболевания людей туляремией и выделения культур возбудителя из иксодовых клещей (ИК), мелких млекопитающих (ММ) и воды местных водопроводов. В этот период антиген возбудителя туляремии обнаружен в 1,47% от всего объема исследованных погадок хищных птиц (ПХП), помета хищных млекопитающих (ПХМ), что указывает на локальный характер протекавших эпизоотий.

Проведенные в 2003–2016 гг. на территории СК бактериологические исследования позволили выявить эпизоотическую активность на обследуемой территории природного очага туляремии. Из 7 ММ, что составляет 0,15% от общего количества исследованных проб данного вида полевого ма-

териала, 17 пулов ИК (0,03%) и 5 проб воды (4,59%) изолированы культуры *Francisella tularensis holarctica*, biovar II.

Сравнительный анализ источников выделения культур туляремийного микроба в СК за период 2003–2016 гг. позволяет констатировать, что первое по значимости место занимали ИК (58,7%), второе – ММ (24,1%) и третье – вода из местных водопроводов (17,2%).

В I квартале 2017 г. в природном очаге степного типа СК имел место подъем эпидемической (42 больных) и эпизоотической активности. В этот период антиген возбудителя туляремии обнаружен в 46 ПХП, ПХМ (27,21%), что соответствует разлитому характеру протекавших эпизоотий. Проведенное исследование позволило выявить наиболее высокую результативность выделения возбудителя туляремии при исследовании воды местных водопроводов (68,2%) и ММ (31,8%).

Результаты эпизоотологического и эпизоотического мониторинга II квартала 2017 г. – 2018 г. указали на снижение эпидемической и эпизоотической активности в очаге до среднегодовых значений локальных эпизоотий 2003–2016 гг.

Суммарный анализ выделенных культур возбудителя за 2003–2016 гг. и II квартал 2017 г. – 2018 г. показал, что из ИК изолировано 56,7%, ММ – 26,7% и воды местных водоемов – 16,6%.

Таким образом, в период локальных эпизоотий высокая результативность выделения возбудителя туляремии при исследовании ИК. Объяснением этого служат два фактора. Во-первых, это могло быть обусловлено тем, что на лабораторное исследование поступило ИК в 12,6 раза больше, чем ММ. Общеизвестно, что численность грызунов может значительно колебаться в природном очаге, а численность ИК менее подвержена этому. Во-вторых, в зимнее время с 2003 г. перестали исследовать скирды ввиду их фактического отсутствия в связи с изменением технологии заготовки сена.

Использование ПЦР и иммунологических реакций (РНГА-РНАт, ИХ-тест) для проведения первичного анализа суспензий ИК позволит выявить пулы ИК, из которых наиболее вероятно выделить возбудителя туляремии, и сократить объем постановки биологических проб за счет максимального объединения пулов в пробу.

Выявление и антибиотикорезистентность редко встречающихся видов коагулазонегативных стафилококков у кардиохирургических пациентов

Граничная Н.В.^{1,2}, Зайцева Е.А.²

¹ФГБУ «Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии», Хабаровск, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Российская Федерация

В настоящее время ведущая роль в возникновении инфекционных осложнений в кардиохирургии принадлежит коагулазонегативным стафилококкам (КНС), из них лидирует *Staphylococcus epidermidis* (более 60%). Однако и другие виды КНС (*S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. warneri*)

отмечены в литературе как возбудители инфекций в кардиохирургии.

Цель исследования. Определить спектр и антибиотико-резистентность коагулазонегативных стафилококков редких видов, выделенных из клинического материала пациентов кардиохирургического профиля.

Материалы и методы. В исследование включены изоляты КНС ($n = 170$), выделенные от 152 пациентов, находившихся на лечении в кардиохирургическом стационаре в период 2014–2018 гг. Идентификацию культур и определение чувствительности к антимикробным препаратам проводили с помощью микробиологического анализатора «Vitek 2 compact» фирмы «Биомерье».

Результаты. Среди коагулазонегативных стафилококков, выделенных от пациентов кардиохирургического стационара, изолированы *S. epidermidis* (82,9%), *S. haemolyticus* (8,2%), *S. hominis* (5,3%), *S. lugdunensis* (1,2%), *S. capitis* (1,2%), *S. warneri* (0,6%), *S. saprophyticus* (0,6%), *S. lentus* (0,6%). Редкие виды КНС выделялись из различных локусов: из смывов трахеобронхиального дерева (ТБД), послеоперационных ран и крови – *S. haemolyticus* (46,6%); из операционных, послеоперационных ран – *S. hominis* (23,3%), *S. lugdunensis* (6,6%) и *S. lentus* (3,3%), *S. hominis* также изолирован из сосудистого катетера и из носоглотки (по одному штамму). *S. capitis* обнаружен в плевральной жидкости и в отделяемом ложа электрокардиовертера (по одной культуре соответственно). *S. warneri* – из крови (3,3%); *S. saprophyticus* – из мочи (3,3%).

Выявлена множественная резистентность почти ко всем группам антибиотиков (бета-лактамам, аминогликозидам, макролидам, линкозамидам и фторхинолонам) среди культур *S. haemolyticus* (из смывов ТБД и отделяемого послеоперационных ран), *S. hominis* (из раневого отделяемого) и *S. saprophyticus* (из мочи). *S. lugdunensis*, выделенный из послеоперационной раны грудины, показал резистентность к пенициллинам, оксациллину, линкозамидам и эритромицину. *S. capitis* (из плевральной жидкости и отделяемого ложа электрокардиостимулятора) и *S. lentus* (из послеоперационной раны) были чувствительны практически ко всем группам тестируемых антибиотиков. Метициллинорезистентных культур среди редких видов КНС – 83,3%. К ванкомицину, линезолиду, тигециклину и даптомицину устойчивости не обнаружено. Заслуживает особого внимания изолят *S. warneri* из крови, резистентный ко всем группам антибиотиков, в том числе к ванкомицину и линезолиду, за исключением даптомицина и тигециклина.

Заключение. Редко встречающиеся виды коагулазонегативных стафилококков показывают высокую резистентность практически ко всем группам антибиотиков, что необходимо учитывать при назначении антибактериальной терапии.

Опыт участия в межлабораторных сравнительных испытаниях бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области» в 2011–2018 гг.

Дегтярева И.М., Коцкая Е.Н., Стёпкин Ю.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области», Воронеж, Российская Федерация

Цель исследования. Анализ полноты выполнения п. 5.9 ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009 по пункту b (участие в межлабораторных сравнительных испытаниях).

Материалы и методы. В области аккредитации ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области» заявлено 29 санитарно-микробиологических показателей в 23 объектах окружающей среды. Биоматериал не включен в область аккредитации, но участие в межлабораторных сравнительных испытаниях (МСИ) по данному разделу необходимо, потому что выполняются исследования по договорам с лечебно-профилактическим объединением (ЛПО). Рекомендуются участие в МСИ по всем показателям и матрицам, заявленным в области аккредитации, для подтверждения достоверности и качества исследований, проводимых лабораторией.

Поиск задач по конкретным микробиологическим показателям и матрицам – это достаточно трудоемкий процесс, так как провайдеров немного и предлагаемые показатели не охватывают весь перечень.

Порядок работы по закрытию позиций из области аккредитации состоит в следующем:

- найти провайдера, предлагающего необходимый показатель и матрицу,
- заключить договор с провайдером,
- оплатить его и получить задачу,
- решить задачу, отправить ответ в определенный временной интервал,
- получить сертификат или удостоверение.

Бактериологическая лаборатория ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области» работает с провайдерами FAPAS в рамках программ FEPAS, LEAP, GeMMA, ФБУЗ «ФЦГиЭ» Роспотребнадзора, НП «Центр внешнего контроля качества клинических лабораторных исследований» в рамках программы Федеральной системы внешней оценки качества клинических лабораторных исследований (ФСВОК).

Результаты. Проанализировано участие в МСИ по годам. В 2011 г. решено 10 задач, в 2011 г. – 21, 2012 г. – 12, 2013 г. – 16, 2014 г. – 18, 2015 г. – 9, 2016 г. – 11, 2018 г. – 10 по 20 микробиологическим показателям, в том числе и количественным, и 11 матрицам. Всего за 8 лет решено 107 задач, т.е. в среднем 1 задача в месяц. Из них в 5 пробах биоматериала неправильно определен вид микроорганизма, несовпадение результатов составило 4,6%. Во всех случаях несовпадения результатов выявлялись причины несоответствия и разрабатывался комплекс корректирующих мероприятий, в перечень которых обязательно включалось повторное участие в МСИ. Совпадение результатов исследова-

ния говорит о качественной работе лаборатории, в частности, о подтверждении достоверности выдаваемых результатов.

Вывод. 1. Участие в МСИ является необходимым разделом работы аккредитованной лаборатории. 2. Удовлетворительные результаты участия в МСИ придают уверенность сотрудникам в качестве своей работы.

Исследование антибактериальной активности дезсредств различных классов на штаммы *Staphylococcus aureus*, возбудителя стафилококковых инфекций

Детушева Е.В., Колчанова А.Д.,
Абаев И.В., Фурсова Н.К.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Staphylococcus aureus относится к числу важных госпитальных патогенов, характеризующихся множественной устойчивостью к применяемым антимикробным препаратам. Поэтому изучение устойчивости стафилококков к дезинфектантам является одним из важнейших направлений эпидемиологического надзора за инфекциями в медицинских учреждениях.

Цель исследования. Изучение чувствительности *S. aureus* к дезсредствам различных функциональных классов, а также их композиций.

Материалы и методы. В работе использованы дезсредства различных функциональных классов, а также их композиций: неполимерный гуанидин; алкил-диметил-бензил-аммоний хлорид + перекись водорода + дидецилдиметиламмоний хлорид; четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) + глутаровый альдегид + глиоксал; бензалконий хлорид + додецил-бис-пропилен-триамин; ЧАС + N,N-бис(3)-амино-пропил-додециламмоний + полигексаметилен-гуанидин гидрохлорид; лимонная кислота + метасиликат натрия + перкарбонат натрия + тетраацетил-этилен-диамин (ТАЭД) + поверхностно-активные вещества (ПАВ); лимонная кислота + хлорит натрия, а также клинические штаммы *S. aureus* ($n = 6$), принадлежащие к различным генетическим группам, выделенные при расследовании инфекционных вспышек в 2013–2015 гг.

Минимальную подавляющую концентрацию и минимальную бактерицидную концентрацию бактерий к дезсредствам определяли методом серийных разведений в бульоне.

Результаты. Выявлено, что степень чувствительности штаммов *S. aureus* различных генетических групп к препаратам дезинфектантов разных функциональных классов различается. Один из шести исследуемых штаммов *S. aureus* был устойчив к дезсредству на основе хлоргексидина, два из шести проявили устойчивость к дезсредству на основе ЧАС. Кроме того, дезсредство на основе композиции лимонной кислоты, метасиликата натрия, перкарбоната натрия, ТАЭД и ПАВ оказалось неэффективно в отношении всех изученных штаммов *S. aureus*.

Выводы. Проведенные исследования показали, что клинические штаммы *S. aureus* могут проявлять устойчивость

к применяемым в медицинской практике дезинфектантам на основе различных действующих агентов. В связи с этим необходимо проводить регулярное тестирование применяемых дезинфектантов с использованием актуальных клинических штаммов *S. aureus*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Антибактериальная активность препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против возбудителей ЛОР-инфекций

Детушева Е.В.¹, Фурсова Н.К.¹, Коровкин С.А.²

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;
²ЗАО «ФИРН М», Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Оценка чувствительности клинических штаммов бактерий к антисептикам представляет большой интерес для микробиологов, так как в последние годы все чаще отмечается устойчивость возбудителей инфекций человека не только к антибиотикам, но и к биоцидам. Диоксидин – антисептик класса производных хиноксалина, который применяется при инфекциях, вызванных вульгарным протеом, клебсиеллой, синегнойной палочкой, стафилококками, стрептококками и др. Он действует на штаммы бактерий, устойчивые к другим химиопрепаратам, включая антибиотики.

Цель исследования. Анализ антибактериальной активности комплексного препарата «Носолин-ультра, капли назальные» и его компонента диоксида против планктонных и биопленочных культур возбудителей ЛОР-инфекций; оценка скорости формирования устойчивых к диоксидину форм бактерий.

Материалы и методы. В качестве тест-штаммов использовали 20 бактериальных культур грамотрицательных (*Acinetobacter pittii*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *P. mirabilis*) и грамположительных бактерий (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae*, *S. pyogenes*). Чувствительность планктонных культур к препаратам определяли методами серийных разведений в бульоне и агаре. Чувствительность биопленок определяли методом аппликаторов, моделирующим бактериальную биопленку на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения исследуемого препарата. Устойчивые к препарату «Носолин-ультра, капли назальные» штаммы получали путем пересева исходной тест-культуры на питательный бульон по возрастающему градиенту концентраций препарата. Уровень устойчивости культур оценивали по показателю МБК (минимальная бактерицидная концентрация), который определяли стандартным методом серийных разведений.

Результаты. Создана коллекция штаммов-возбудителей ЛОР-инфекций верхних дыхательных путей ($n = 20$). Показано, что комплексный препарат «Носолин-ультра, капли назальные» *in vitro* проявлял высокий уровень активности

против грамотрицательных бактерий *M. catarrhalis*, *H. influenzae*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis*. Меньшая активность препарата отмечена для штаммов грамположительных бактерий видов *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, грамотрицательных бактерий *A. pittii* и дрожжеподобных грибов *Candida albicans*. При изучении активности основного действующего вещества диоксида, входящего в состав комплексного препарата, показано, что клетки всех использованных в работе штаммов микроорганизмов в планктонном состоянии были чувствительны к этому веществу, кроме штамма *S. pyogenes* SN345. Кроме того, в ходе исследования было отмечено, что диоксидин обладает способностью подавлять рост сформированной биопленки, при этом МБК диоксида для всех изученных штаммов микроорганизмов в составе биопленок были ниже, чем для планктонных клеток, или на том же уровне. Анализ динамики формирования устойчивости к препарату «Носолин-ультра, капли назальные» показал, что наиболее выраженный процесс адаптации наблюдался у штамма *S. aureus* ATCC25923, который сформировал высокоустойчивый вариант в течение 34 дней (8 пассажей). Штаммы *P. aeruginosa* ATCC10145, *K. pneumoniae* ATCC13883 и *C. albicans* ATCC10231 не сформировали вариантов, устойчивых к рабочей концентрации диоксида в препарате «Носолин-ультра, капли назальные».

Выводы. Полученные данные указывают на то, что препарат «Носолин-ультра, капли назальные» может быть эффективно использован против большинства возбудителей ЛОР-инфекций. Стоит отметить, что при длительном использовании препарата для некоторых видов ЛОР-патогенов в перспективе может быть отмечено незначительное снижение эффективности.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Особенности лабораторной диагностики возбудителя сибирской язвы во время вспышки в Республике Тыва в 2018 году

Дугаржапова З.Ф., Кравец Е.В.,
Иванова Т.А., Чеснокова М.В.

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

В азиатской части РФ одной из территорий с выраженным эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием по сибирской язве является Республика Тыва, ввиду чего нами ежегодно прогнозировались проявления сибирской язвы в летний период. Во второй половине июля 2018 г. в Барун-Хемчикском кожууне в частном хозяйстве местности Кудук урочища Эдегей заболел бычок. Мужчины произвели его вынужденный убой без ветеринарного освидетельствования, заболели и были госпитализированы. В одном из эпидемических очагов изъяты субпродукты бычка. Через шесть-семь дней заболели и пали две коровы в разных эпизоотических очагах.

Во время вспышки исследованы 236 проб клинического (35) и биологического (5) материалов, объектов окружающей среды (196). В четырех пробах клинического материала больных обнаружена ДНК *Bacillus anthracis*.

В результате лабораторного исследования почвы (82) в трех пробах эпизоотических очагов сибирской язвы, отобранных в местностях Кудук (2) и Даг-Эдээ (1), обнаружена специфическая ДНК *B. anthracis*. При этом в первом эпизоотическом очаге достоверно установлено место вынужденного убоя бычка с остатками кишечной массы животного, подтвержденное положительными результатами ПЦР в пробах почвы с установленной GPS-координатой.

В пробе легкого бычка обнаружена ДНК и выделена чистая культура *B. anthracis*, в пробе сердца – только ДНК. При исследовании ушей двух коров также детектирована ДНК и выделена культура *B. anthracis*. Антиген (АГ) сибиреязвенного микроба обнаружен в четырех пробах (легкие и сердце крупного рогатого скота (КРС) из местности Ак-Довурак, уши КРС из Даг-Эдээ и Хонделен). Во время вспышки выделены три культуры возбудителя сибирской язвы от КРС. Выделенная в пробе почвы пастбища местности Даг-Эдээ подозрительная на наличие сибиреязвенного микроба культура в дальнейшем не была подтверждена бактериологически.

Известно, что чистую культуру *B. anthracis* у больных людей удается выделить в только в 5% случаев. Соответственно, лабораторное подтверждение диагноза сибирской язвы при исследовании материала от павших животных значительно выше, как и во время этой вспышки. Три выделенных штамма обладали типичными свойствами, высоковирулентны для лабораторных животных (LD_{50} – 49–158 КОЕ для белых мышей, 50–316 КОЕ для морских свинок).

Выделенные во время вспышки сибирской язвы штаммы являются типичными с характерными культурально-морфологическими и биохимическими свойствами, набором основных детерминант вирулентности, обладают высокой вирулентностью для лабораторных животных.

Эффективность антимикробной субстанции штамма *Pseudomonas chlororaphis* VSK-26A3 против листериоза у мышей

Дунайцев И.А., Сомов А.Н., Клыкова М.В.,
Жиглецова С.К., Борзилов А.И., Кондрашенко Т.Н.,
Буданова Н.Ю., Жумакаев Р.Х.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Внимание исследователей сегодня привлечено к проблеме борьбы с опасными кишечными заболеваниями человека и животных, вызванными, в частности, патогенными листериями, контаминирующими продукты питания или корма. При выборе лечебных средств предпочтение отдается использованию природных соединений.

Исследование бактерицидных свойств антимикробной субстанции (АМС) почвенной бактерии *Pseudomonas chlororaphis* Vsk-26a3 *in vitro* показало ее высокую ингиби-

рующую активность в отношении штаммов листерии: *Listeria innocua* B6434, *L. monocytogenes* ББ1, *L. monocytogenes* NCTC 11994 и *L. monocytogenes* 766. С целью выделения и очистки активного вещества (веществ) АМС *P. chlororaphis* Vsk-26a3 подвергали эксклюзионной хроматографии на сорбенте Sephacryl S-200HR (GE Healthcare Life Sciences) и, используя 0,1%-й водный раствор NaCl в качестве элюента, получили фракцию с максимальной активностью в отношении листерий *in vitro*. По данным спектрофотометрического и ТСХ-анализа, активная фракция содержит от 4 до 6 различных химических соединений. Концентрирование этой фракции на ротационном испарителе в 5–10 раз позволило использовать ее для терапии экспериментальных животных.

Оценку лечебной эффективности активной фракции *in vivo* проводили с использованием нелетальной инвазивной модели листериоза у мышей, вызываемого культурой штамма *L. monocytogenes* ББ1. Листериозную инфекцию воспроизводили на аутбредных мышках (самцы/самки, массой 17–19 г). Животных заражали внутрижелудочно в дозе 1×10^6 КОЕ (по 0,5 мл) ночной агаровой культурой штамма *L. monocytogenes* ББ1. Мышей из опытной группы начинали лечить подкожно или внутрижелудочно препаратом активной фракции через час после заражения путем однократного введения 1 мл препарата. Животных, зараженных штаммом *L. monocytogenes* ББ1, эвтаназировали через сутки после заражения.

Полученные результаты показали, что из органов всех контрольных мышей, зараженных культурой *L. monocytogenes* ББ1, высеивалась культура возбудителя. Однократное подкожное введение лечебного препарата приводило к санированию 60% животных, а внутрижелудочное введение – к санированию 40% зараженных мышей.

Таким образом, активная фракция АМС штамма Vsk26a3 показала свою эффективность при лечении экспериментального листериоза у аутбредных мышей, вызванного внутрижелудочным введением штамма *L. monocytogenes* ББ1. Лечебная эффективность препарата активной фракции более выражена при подкожном введении, чем при внутрижелудочном, что указывает на перспективность использования инкапсулированной формы препарата при внутрижелудочном введении. В дальнейших исследованиях необходимо определить эффективную лечебную дозу препарата, форму и схему его применения.

Влияние бактерий кожи на экспрессию белков теплового шока в клетках крови больных атопическим дерматитом

Елистратова И.В.^{1,2}, Морозов С.Г.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войсковой национальной гвардии Российской Федерации», Балашиха, Московская область, Российская Федерация

Стресс является составной частью патогенеза атопического дерматита (АД). Белки теплового шока (HSP) определяют молекулярные события стресса на уровне клетки. Все

HSP подразделяются на семейства согласно молекулярной массе. Ранее нашими работами показано, что при обострении АД изменяется экспрессия белков семейства HSP40 и HSP70. Семейство белков HSP60 непосредственно связывает ответ на бактериальную контаминацию организма со стрессом. Растворимая форма рецептора HSP60 считается индикатором уровня бактерий и иммунного ответа на них. Секретируемая форма рецептора HSP60 предшествует его накоплению в экзоцитозных гранулах, сопряженных с плазматической мембраной клеток, что позволяет измерить уровень экспрессии HSP60 на выделенных и фиксированных клетках крови.

Цель исследования. Определение уровня экспрессии рецепторов HSP60 на нейтрофилах периферической крови больных АД в стадии обострения.

Материалы и методы. 86 больных АД и 22 донора (мужчины 18–34 лет) подписывали форму информированного согласия на анонимное участие в исследовании. Кровь брали натощак из локтевой вены в пробирки с ЭДТА, эритроциты лизировали буфером, суспензию отмывали, клетки фиксировали 4%-м параформальдегидом на фосфатном буфере, отмывали, окрашивали моноклональными антителами к рецепторам HSP60 (Abcam) и анализировали на проточном цитометре FACSCalibur. Экспрессию рецепторов измеряли в гейте нейтрофилов на канале FL-1A, определяли процент антиген-положительных клеток и интенсивность флуоресценции, отражающей относительную плотность рецепторов на клетках (в условных единицах (у.е.)). Бактериальную контаминацию кожи больных АД определяли с помощью смывов по стандартной методике и далее методом ПЦР в реальном времени с праймерами, соответствующими искомым бактериальным антигенам. Результаты статистически обрабатывали по программе ANOVA, данные представлены как $M \pm m$. Достоверные различия между группами даны как $p < 0,05$.

Результаты. Все больные АД разделены на группы согласно тяжести течения заболевания по индексу SCORAD (<20 единиц – легкое течение ($n = 28$), 30–40 единиц – средней тяжести ($n = 36$), 40–60 – тяжелое течение ($n = 22$)). Бактериальная контаминация кожи установлена в 82% случаев АД, у остальных пациентов верификация бактерий не подтверждена. У больных АД, контаминированных золотистым стафилококком, экспрессия рецептора HSP60 на нейтрофилах периферической крови была достоверно выше по сравнению с больными АД без стафилококков. При наличии микст-инфекции бактерий и микроскопических грибов экспрессия рецептора HSP60 была достоверно выше, чем у больных АД с моноинфекцией. Тяжесть течения АД и уровень экспрессии рецептора HSP60 в нейтрофилах крови не коррелировали между собой, возможно, вследствие малой выборки. Положительная корреляция регистрировалась между степенью бактериальной контаминации кожи и тяжестью течения АД.

Выводы. Экспрессия рецептора HSP60 в нейтрофилах крови больных АД повышается на фоне бактериальной контаминации кожи.

Дифференцированный подход к диагностике и лечению у детей инфекции мочевыводящих путей, ассоциированной с *Enterococcus faecalis*

Зайцева Е.А.¹, Мельникова Е.А.^{1,2}, Коменкова Т.С.¹

¹ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Российская Федерация;

²ГБУЗ «Краевая детская клиническая больница № 1», Владивосток, Российская Федерация

В последние годы отмечаются изменение структуры и свойств возбудителей инфекции мочевой системы (ИМС) у детей, в том числе развитие устойчивости уропатогенов к часто применяемым антибактериальным препаратам. Многие ученые обращают свое внимание на этиологическое значение *Enterococcus faecalis*, удельный вес которого в структуре ИМС составляет 5–75%, занимая второе место после кишечной палочки (Horsley H., 2013, Леженко Г.О., 2016, Вялкова А.А., 2017). Несмотря на частую встречаемость *E. faecalis* среди возбудителей ИМС у детей, его свойства как уропатогена остаются недостаточно изучены.

Цель исследования. Оценить обсемененность *E. faecalis*, определить фенотипические особенности его биологических свойств и клиническую картину инфекции мочевыводящих путей у детей, ассоциированной с *E. faecalis*.

Материалы и методы. В работе исследованы культуры *E. faecalis* ($n = 60$), полученные из мочи детей при инфекции мочевыводящих путей, проведена эпидемиологическая оценка обсемененности *E. faecalis* и клинические проявления инфекции мочевой системы у детей, вызванных данным уропатогеном.

Результаты. В результате мониторинга этиологической структуры ИМС у детей в многопрофильной больнице за 9 лет выявлено, что вторым по значимости уропатогеном у детей после кишечной палочки является фекальный энтерококк. У новорожденных он имеет первостепенное значение в развитии ИМС. По данным результатов посевов влагалищного секрета у женщин детородного возраста, получающих лечение в многопрофильной больнице, установлено, что фекальный энтерококк является вторым по значимости этиологическим фактором воспалительных заболеваний. Он также достаточно часто является причиной лактационных маститов у женщин – реже, чем кишечная палочка, но превышая этиологическое значение стафилококков.

У штаммов фекального энтерококка, выделенных из мочи детей с ИМС, выявлен целый комплекс факторов патогенности, обладающих цитолитическим и гистоповреждающим действием. Отмечается вариабельность патогенных факторов в зависимости от возраста пациентов. Установлено, что *E. faecalis* чаще всего выделялся из мочи новорожденных и детей первого года жизни.

Уропатогенные *E. faecalis* в большей степени резистентны к 3 и более антимикробным препаратам, 71,4% изученных *E. faecalis* обладали резистентностью к 4 и более препаратам. Установлена связь наличия у уропатогенных *E. faecalis*

резистентности к пенициллинам и фторхинолонам 2–3-го поколения с данными перинатального анамнеза новорожденных и детей 1-го года жизни (перенесенная внутриутробная пневмония ($r = 0,35–0,41$, $p = 0,02–0,04$), инфекционно-воспалительные заболевания матери во время беременности ($r = 0,34–0,43$, $p = 0,01–0,04$)); устойчивости к ампициллину – с имеющимся в анамнезе стационарным лечением ($r = 0,43$, $p = 0,01$).

Заключение. Полученные данные диктуют необходимость комплексного подхода к назначению стартовой антибактериальной терапии с учетом анамнестических факторов, клинических симптомов и лабораторных данных.

Авидность специфических *igg* как дополнительный критерий для лабораторного подтверждения диагноза лихорадки Западного Нила

Замарина Т.В., Пименова Е.В., Тетерятникова Н.Н.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Цель исследования. Изучение диагностической значимости величины индекса авидности (ИА) специфических IgG к вирусу Западного Нила (ВЗН).

Материалы и методы. Объектами исследования явились образцы сывороток крови, поступившие в референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила в 2018 г. Для серологического исследования применяли следующие иммуноферментные тест-системы: «Anti-West Nile Virus ELISA (IgM)», «Anti-West Nile Virus ELISA (IgG)», «Avidity Anti-West Nile Virus (IgG) ELISA» («Euroimmun AG», Германия).

Результаты. Во всех сыворотках крови были определены антитела к ВЗН двух классов (IgM и IgG), сыворотки, содержащие иммуноглобулины класса G, были оценены на ИА.

Всего индексы авидности IgG против ВЗН были определены в 16 пробах. В сыворотках, в которых детектировали IgM одновременно с IgG к ВЗН, авидность преимущественно имела низкие значения (до 40%), в части сывороток – пограничные (от 40 до 60%). В образцах, содержащих IgG без присутствия IgM, ИА в большинстве случаев был высоким (более 60%) или же пограничным. Таким образом, низкие ИА специфических IgG к вирусу ЛЗН свидетельствуют о раннем периоде заболевания. Полученные результаты подтверждают данные Tabain I. et al. о том, что величина индекса авидности специфических антител класса G к ВЗН позволяет дифференцировать острую стадию инфекции, вызванную ВЗН, от более поздней стадии болезни.

Выводы. Полученные результаты показали, что величина авидности специфических IgG к вирусу Западного Нила имеет не только высокую прогностическую ценность в подтверждении диагноза, но и позволяет получить информацию о давности заболевания.

Молекулярно-генетическая детекция фрагментов ДНК островка генотоксичности (*pkS*)

Зигангирова Н.Н.^{1,2}, Закирова Г.Н.¹, Мавзютов А.Р.¹, Исламова А.А.²

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Российская Федерация;

²Бирский филиал ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Бирск, Российская Федерация

Колоректальный рак (КРР) является одной из главных проблем общественного здравоохранения в мире (Siegel et al., 2014). В его развитии огромную роль играет микрофлора кишечника. В частности, установлено, что онкогенные мутации, связанные с разрывами нитей двухспиральной ДНК, могут быть вызваны колибактином. Продукция колибактина описана у многих представителей *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* и *Citrobacter koseri* и др.) (Putze et al., 2009) и детерминирована генами геномного кластера, или «островка генотоксичности», размером 54 килобазы (*pkS*) (Nougayrede, Homburg, 2006). Указанное определяет научно-практическое значение исследований (*pkS*) как для понимания механизмов развития колоректального рака, так и в качестве маркера онкогенности выявляемых в составе микробиоты кишечника микроорганизмов.

Цель исследования. Выявление частоты встречаемости *pkS*-фрагментов генов «островков генотоксичности» у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника.

Материалы и методы. Исследовано 60 образцов кала пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Тотальную ДНК выделяли, используя стандартные наборы «ДНК-сорб-В» (Интерлабсервис, Россия). Амплификацию *pkS*-фрагментов участков ДНК осуществляли методом полимеразной цепной реакции на амплификаторе Терцик МС2 («ДНК-Технология», Россия) и использованием синтезированных (Евроген, Россия) праймерных последовательностей (Eaton et al., 2015) с электрофоретической детекцией результатов.

Результаты. Фрагменты гена *pkS* были выявлены в 15% исследованных образцов пациентов с лабораторно верифицированным дисбактериозом кишечника.

Выявление *Legionella pneumophila* в искусственных водных объектах г. Ташкента и Ташкентской области

Исхакова Х.И.¹, Эшназаров С.Э.²

¹Ташкентский институт усовершенствования врачей, Ташкент, Республика Узбекистан;

²Управление санитарно-эпидемиологического надзора Главного медицинского управления при Администрации Президента, Ташкент, Республика Узбекистан

Проблеме легионеллеза в Узбекистане посвящены единичные публикации предыдущих лет. Имеются лишь отдельные сообщения о распространенности этого возбудителя

в объектах окружающей среды, не проводятся простые диагностические тесты (ИФА, уротесты и др.) у больных с атипичными пневмониями, поэтому сведения о вспышках или спорадических случаях болезни легионеров (ЛД) отсутствуют. В то же время из-за жаркого климата у нас в стране все более широко используются многочисленные искусственные водные системы, которые потенциально представляют высокий эпидемиологический риск возникновения случаев легионеллеза. Актуальность проблемы также в том, что в последние годы страну посещает все большее количество туристов – это стимулирует строительство и реконструкцию гостиниц, отелей и др., с созданием новых искусственных водных ниш для легионелл.

Цель исследования. Определить частоту обнаружения *Legionella pneumophila* в различных искусственных водных объектах г. Ташкента и Ташкентской области.

Методы исследования. Работа выполнялась в течение 2010–2016 гг. в Управлении санитарно-эпидемиологического надзора Главного медицинского управления при Администрации Президента, часть исследований была проведена на базе лаборатории в НИИЭМ им. Н.Ф.Гамалеи РАМН, в Центре легионеллезов России. Исследованы административные здания и сооружения г. Ташкента и Ташкентской области. Объектами изучения являлась вода: кондиционеров (из систем кондиционирования, камер орошения, конденсаты, смывы из сливных труб); душевых кабинок; из систем отопления; из бассейнов закрытого и открытого типа; из фонтанов; из танков хранения воды и из градирен (охладительных башен). Отбор проб воды, специальная подготовка к посеву и культивирование выделенных культур проводились в соответствии с научно-технической документацией (НТД) РФ. Для выделения легионелл использовали стандартную среду (производитель LAB M, Великобритания) – буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, В.С.У.Е.) с ростовой (L-цистеин и пирофосфат железа) и селективной (полимиксин В, ванкомицин и циклогексимид) добавками. В качестве контрольной среды, не поддерживающей рост легионелл, использовали среду БУДРАГ без добавления селективной и ростовой добавок. Все выделенные на среде БУДРАГ культуры легионелл подтверждали ПЦР в реальном времени с набором реагентов производства ЗАО «Синтол». Набор «АмплиЛег-РВ» – для одновременного выявления в образцах специфического фрагмента ДНК гена *16S rDNA* (имеют все виды *Legionella* spp.) а также для обнаружения и количественного определения специфического фрагмента ДНК гена *tip* *L. pneumophila*.

Результаты. За указанный период было исследовано 302 образца воды, в 29 (9,6%) был обнаружен рост *L. pneumophila* (1×10^2 КОЕ/мл и выше), подтвержденный определением гена *tip*. При этом из 29 положительных проб больше половины (62,1%) определялись в воде кондиционеров, 20,7% – из воды систем отопления, 13,8% – из градирен и всего один образец (3,4%) – из воды фонтана. Максимальные концентрации легионелл были обнаружены в 2012 г. из системы кондиционирования – 1×10^3 КОЕ/мл; в 2016 г. в градирне – 7×10^2 КОЕ/мл и в 2015 г. в уличном фонтане – $5,6 \times 10^2$ КОЕ/мл. Во всех других водных образцах концентрация легионелл составляла от 1×10^2 до 5×10^2 КОЕ/мл. Согласно НТД, указанные количества легионелл в исследо-

ванных образцах воды допустимы, они свидетельствуют о колонизации, не представляют эпидемической опасности, не требуют проведения на этих объектах профилактических мер и ежемесячного микробиологического контроля. Ни на одном из водных объектов при повторных микробиологических исследованиях после проведения дезинфекционных процедур положительных результатов на *L. pneumophila* не обнаружено.

Выводы:

1. В искусственных водных системах административных зданий и сооружений г. Ташкента и Ташкентской области колонизация легионеллами составила 9,5%.

2. Наиболее часто легионеллы колонизировали воду из систем кондиционирования (62,1%) и отопления (20,7%).

Использование масс-спектрометрии для выявления видовой разнообразия почвенных бацилл

Калинин А.В., Котенева Е.А.,
Цыганкова О.И., Абрамович А.В.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ставрополь Российская Федерация

К представителям рода *Bacillus*, помимо сапрофитов, относится *Bacillus anthracis* – возбудитель опасного инфекционного заболевания людей и животных. Необходимость проводить индикацию данного возбудителя не только в материале от больных людей и животных, но и в объектах окружающей среды, содержащих огромное количество бактерий этого рода, требует апробации специфичности применяемых методов, тест-систем и диагностических препаратов на представительном наборе штаммов близкородственных сапрофитов.

Цель исследования. Выделение почвенных представителей рода *Bacillus*, их видовая идентификация методом MALDI-TOF MS.

Материалы и методы. Исследовано 68 проб почвы из различных районов Ставропольского края и близлежащих республик. Пробы почв отбирали на территории степных участков, пастбищ, населенных пунктов, животноводческих хозяйств. После перевода в жидкую суспензию делали посева среды Crome™ *Bacillus* Agar (HIMEDIA), с поверхности которой на следующий день отбирали колонии, отличающиеся друг от друга морфологией и характером изменения среды, и пересевали на LB-агар. Пробы готовили лизисом 18-часовой вегетативной культуры в 80%-й трифтороуксусной кислоте (ТФУ) с последующей ультрамикрочентрифужной фильтрацией. Идентификация культур проводилась методом MALDI TOF MS на платформе прибора Microflex LRF Bruker, с использованием следующего программного обеспечения: FlexControl V 3.3, FlexAnalysis V 3.3, Biotyper RTC V 3.1, Biotyper V 3.1. Для идентификации использовалась коммерческая база данных компании Bruker (версия Bruker Taxonomy V 7.0.0.0_6903-7311) и лабораторная база данных масс-спектров.

По результатам видовой идентификации на основе масс-спектрометрии было выделено и идентифицировано

243 штамма бацилл, относящихся к 20 видам: *B. anthracis* (2), *B. asahii* (1), *B. cereus* (57), *B. firmus* (1), *B. halotolerans* (21), *B. horneckiae* (1), *B. idriensis* (1), *B. licheniformis* (13), *B. marisflavi* (2), *B. megaterium* (29), *B. pseudomycoloides* (19), *B. pumilis* (27), *B. siamensis* (7), *B. simplex* (11), *Bacillus* sp. (38), *B. sporothermodurans* (1), *B. subtilis* (7), *Lysinobacillus boronitolerans* (1), *Lysinobacillus fusiformis* (1), *Lysinobacillus sphaericus* (1), *Viridibacillus neidei* (2).

Полученные результаты масс-спектрометрии могут быть оформлены в виде базы данных и использованы при дифференциации *B. anthracis* от других представителей этого рода, а выделенные идентифицированные культуры могут использоваться при тестировании на специфичность тест-систем и препаратов, предназначенных для диагностики сибирской язвы.

Роль иммунных клеток в ранозаживлении бактериальных осложнений щелочных ожогов роговицы при использовании ниосомального геля в эксперименте

Калинкина Н.И., Базиков И.А.

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный
медицинский университет», Ставрополь, Российская
Федерация

Глазной травматизм и ожоги глаз занимают лидирующее место в структуре офтальмопатологии и имеют тенденцию к росту. По данным различных авторов, ожоги глаз составляют до 38,4% от общего количества травм органа зрения. Отмечено, что микробные осложнения ожогов роговицы в 49% случаев являются причиной нетравматической перфорации роговицы. Такой рост гнойно-воспалительных осложнений ожогов роговицы объясняется снижением иммунного статуса и резистентности к антибиотикотерапии. Эпителиальный дефект роговицы в последующем сопровождается инфильтрацией стромы полиморфно-ядерными лейкоцитами (нейтрофилами), которые продуцируют протеазы, разрушающие компоненты внеклеточного матрикса. Это приводит к изъязвлению, задержке процессов регенерации роговицы в фазе протеолитического заживления с исходом в десметоцеле с протрузией и перфорацией, нередко заканчивающейся гибелью глаза. Изучение иммунитета при ожоге глаза, осложненном бактериальной инфекцией, необходимо для выявления изменений местных и системных реакций, затрагивающих основные звенья неспецифического и специфического иммунитета.

Цель исследования. Изучение иммунных клеток в ранозаживлении бактериальных осложнений щелочных ожогов роговицы при использовании ниосомального геля в эксперименте.

Материалы и методы. Цитоморфологические исследования клеток иммунитета проводили до и после развития бактериальной инфекции при воспроизведении экспериментальной модели химического ожога роговицы. Затем проводили лечение ниосомальным гелем и повторно изучали количественный и качественный состав клеток иммунитета и микрофлоры. В связи с тем, что нормальная микрофлора

представляет собой барьер для возбудителей инфекционных заболеваний, проводилось изучение корреляции состава микрофлоры и клеток иммунитета.

Результаты. Результаты бактериологических исследований показали, что здоровая конъюнктура способна сдерживать рост популяций многих микробов (*Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *Neisseria* sp., *Enterobacter* sp.) Выявлено, что до развития бактериальной инфекции после щелочного ожога сапрофиты неспецифически стимулировали местные защитные реакции, тем самым поддерживая локальный иммунитет в состоянии высокой функциональной активности. После инфицирования язвенной поверхности роговицы наблюдался выраженный иммунный ответ на внедрение патогенной микрофлоры. Отмечено значительное повышение количества нейтрофилов, противовоспалительных цитокинов в очаге воспаления, выявлены сдвиги в Т- и В-системах, аутоиммунные реакции. На системном уровне выявлена активация фагоцитов, усиление их поглотительной и бактерицидной функции. Основными выделенными микроорганизмами при бактериальных осложнениях химического ожога были коагулазонегативные стафилококки.

Заключение. Таким образом, изменения в системном и локальном цитокиновых звеньях иммунитета при ожогах свидетельствуют о важной роли цитокинов в развитии и поддержании иммунопатологических процессов. Цитологические исследования мазков-отпечатков из очага воспаления роговицы после применения ниосомального геля показали, что дополнительно необходимо проведение дифференцированной иммулотропной терапии с использованием в начале процесса препаратов противовоспалительно-иммуносупрессивного действия, а затем иммуностимулирующих и иммунозамещающих.

Изучение микрофлоры слизистых глаз у животных с бактериальными осложнениями щелочных ожогов роговицы

Калинкина Н.И., Базиков И.А.

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация

Травмы и заболевания глазной поверхности занимают лидирующее место в структуре офтальмопатологии и имеют тенденцию к росту. Ожоги глаз составляют до 38,4% от общего количества травм органа зрения. До 25% случаев инвалидности по зрению обусловлено бактериальными осложнениями ожогов роговицы. Чаще всего это происходит из-за поливалентной устойчивости микроорганизмов к применяемым антимикробным препаратам и в подавляющем числе случаев приводит к потере зрения той или иной степени, в 8–9% случаев – к анатомической гибели глаза, в 17% случаях – к удалению глаза. В связи с этим представляет интерес изучение микрофлоры роговицы с целью оценки антимикробной эффективности офтальмологического ниосомального геля.

Первоначально была воспроизведена экспериментальная модель химического ожога роговицы глаза у кролика. Модель изолированного химического ожога осуществляли при помощи 10%-го раствора едкого натра, время экспозиции 20 секунд, после предварительной инсталляционной анестезии 0,5%-м раствором дикаина. Через 2 часа после нанесения ожога проводилась контрольная оценка тяжести моделированных ожогов роговой оболочки и распределение животных по группам. У всех животных были получены стандартные, тяжелые щелочные ожоги роговицы 3-й степени. Лечение гелем начинали через 3 часа после нанесения химического ожога. В зависимости от способа восстановительного лечения экспериментальной модели ожога роговицы глаза кроликов были разделены на две опытные и контрольную группы по 10 кроликов (20 глаз в каждой группе). Для изучения антимикробной эффективности разработанного офтальмологического ниосомального геля животных из опытной группы инфицировали наиболее часто встречающимся в клинической практике возбудителем – лабораторным штаммом *Staphylococcus aureus*. Живую культуру наносили в стационарной фазе роста, разводили ее бульоном до 10^5 – 10^6 Мт/мл. Для заражения язвенной поверхности роговицы использовали 1 мл культуры. В контрольной группе проводили стандартное лечение инсталляцией 0,3%-м раствором офлоксацина (глазные капли «Флоксал») три раза в день в течение всего периода наблюдения. Другие животные из контрольной группы не получали никакого лечения. С учетом сроков наблюдения кролики были разделены на 5 групп. После развития бактериальной инфекции повторно изучали состав микрофлоры роговицы. Затем проводили лечение офтальмологическим ниосомальным гелем и окончательно определяли состав микрофлоры роговицы. Во всех группах наблюдения проводился сравнительный анализ состава микрофлоры роговицы. Осуществляли следующие микробиологические исследования: мазок с роговицы, количественный секторальный посев отделяемого на селективно-диагностические питательные среды – сахарный бульон, кровяной, шоколадный, «голодный» агары, Эндо, Сабуро – на грибы. Идентификацию микроорганизмов проводили по морфологическим, культуральным, биохимическим и тинкториальным свойствам микроорганизмов (восприимчивость к различным красителям). Мазки окрашивались по Романовскому–Гимзе и просматривались под иммерсией в светооптическом микроскопе фирмы К.Цейсс. Результаты количественного исследования микрофлоры рассчитывались в колониеобразующих единицах – КОЕ/мл (CFU) и Ig CFU.

В результате определен состав основных возбудителей нормальной микрофлоры, участвующей в развитии бактериальных осложнений у 30 животных опытной группы. Материалом для микробиологического исследования служило отделяемое слизистых глаз. Выделенные микроорганизмы идентифицировали, а по характеру и частоте их встречаемости были составлены их процентные соотношения. Наиболее часто выделяемыми микроорганизмами были представители семейства *Micrococcaceae*, коагулазаположительные стафилококки, в основном золотистый стафилококк *S. aureus* – 28,2%, и коагулазаотрицательные стафилококки, в основном стафилококк эпидермальный *S. epidermidis* – 22,5%, реже *Streptococcus* spp. – 13,0%, *Pseudomonas aeru-*

ginosa – 12,9%, *Enterobacteriaceae* spp. – 9,3%. При анализе полученных данных по выделению возбудителей после лечения ниосомальным гелем отмечена тенденция к их значительному снижению.

Распространенность инфекций, вызванных *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydomphila pneumoniae*, у детей Колпинского района Санкт-Петербурга в 2014–2019 гг.

Каменева О.А.¹, Косякова К.Г.^{1,2},
Мельникова Г.С.¹, Морозова С.Е.¹

¹СПб ГБУЗ «Детская городская больница № 22»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный
медицинский университет им. И.И.Мечникова»,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить распространенность *Mycoplasma pneumoniae* и *Chlamydomphila pneumoniae* у детей, находившихся на лечении в стационаре с внебольничными пневмониями и другими инфекциями дыхательных путей в 2014–2019 гг.

Материалы и методы. В период с января 2014 г. по апрель 2019 г. молекулярно-биологическим методом исследовано 845 проб отделяемого нижних и/или верхних дыхательных путей у детей Колпинского района г. Санкт-Петербурга с предварительными диагнозами «пневмония» (58,8%) и «инфекции дыхательных путей» (41,2%). Детекцию генов возбудителей проводили методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР РВ) с использованием амплификатора CFX 96 и набора «АмплиСенс® *Mycoplasma pneumoniae* / *Chlamydomphila pneumoniae*».

Результаты. Гены *M. pneumoniae* выявлены в 143 (16,9%) пробах, однако частота обнаружения возбудителя значительно различалась в течение анализируемого периода. Так, с января 2014 г. по октябрь 2017 г. положительными были 3,1–3,6% исследованных образцов, а с ноября 2017 г. по апрель 2019 г. отмечен рост числа случаев микоплазменной инфекции с максимальными значениями в ноябре 2017 г. – январе 2018 г. и в сентябре 2018 г. – январе 2019 г. (20,8–38,7%). Частота выявления ДНК *C. pneumoniae* в 2014–2017 и 2019 гг. находилась на уровне 0,0–0,5%, а в 2018 г. одновременно с ростом числа инфекций, вызванных *M. pneumoniae*, повысилась до 2,8%.

Выводы. В 2017–2019 гг. отмечалось повышение частоты выявления респираторных инфекций, вызванных *M. pneumoniae*, до 38,7%, а в 2018 г. – повышение частоты инфекций, вызванных *C. pneumoniae*, до 2,8% у детей Колпинского района г. Санкт-Петербурга, преимущественно в осенне-зимний период. Принимая во внимание полиэтиологичность респираторных инфекций у детей с возможностью как персистенции возбудителя без выраженных клинических проявлений, так и развития тяжелых клинических форм, включая пневмонию, а также этиологическую значимость *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в развитии и течении бронхиальной астмы, следует признать значимым выявленный

рост числа случаев обнаружения указанных возбудителей в материале из респираторного тракта. При расшифровке этиологии внебольничной пневмонии у детей бактериологические исследования должны дополняться молекулярно-биологическими для выявления некультивируемых и трудно культивируемых бактерий, а также вирусов. Особое внимание следует уделять возможной смешанной этиологии респираторных инфекций у детей.

Разработка комплекса бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными нанотекстурированными поверхностями из алюминия, способствующего снижению риска распространения ESKAPE-патогенов

Каминский В.В.¹, Алёшкин А.В.¹, Киселёва И.А.¹,
Зулькарнеев Э.Р.¹, Ефимова О.Г.¹, Бойнович Л.Б.²,
Емельяненко К.А.², Емельяненко А.М.²

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского»
Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

²ФГБУН «Институт физической химии и электрохимии
им. А.Н.Фрумкина» Российской академии наук, Москва,
Российская Федерация

В задачи настоящего исследования входил анализ антибактериальных свойств органо-неорганических гибридных покрытий, включающих супергидрофильные и супергидрофобные нанотекстурированные подложки из алюминия с нанесением бактериофаговых частиц и без них.

В исследованиях оценивалась бактерицидная активность (БА) поверхностей после искусственной контаминации их бактериальными суспензиями *Klebsiella pneumoniae* B-811, *Acinetobacter baumannii* B-05, *Staphylococcus aureus* 2004, *Pseudomonas aeruginosa* 3086 в титре не менее 10⁶ КОЕ/мл. Для повышения антибактериального эффекта пластин на их поверхность сорбировали бактериофаги KpV811, AM24, PA10, SCH111 в титре 10⁹ БОЕ/мл, затем проводили контаминацию бактериальными штаммами. Титр бактерий и бактериофагов определяли на 1, 4 и 6-е сутки эксперимента.

В результате проведенных исследований, моделирующих риск распространения ESKAPE-патогенов через металлические поверхности госпитального оборудования, мебели и дверных ручек, супергидрофильные поверхности продемонстрировали более высокую БА в сравнении с супергидрофобными. В опыте с *A. baumannii* B-05 на 1-е сутки отмечалось снижение интенсивности обсемененности супергидрофильных подложек на 5 логарифмических порядков, что выражалось в 99,99% БА, а количество бактерий на супергидрофобных пластинах не снижалось до 6-х суток исследования. В экспериментах с *K. pneumoniae* B-811 и *P. aeruginosa* B-3086 БА составляла 99,98% на 4-е сутки в обоих случаях. В опыте с *S. aureus* 2004 отмечалось падение титра бактерий на всех типах пластин на 1-е сутки эксперимента, однако тенденция более выраженного бактерицидного эффекта супергидрофильных пластин по сравнению с супергидрофобными также сохранялась.

Нанесение бактериофаговых частиц существенно повышает БА супергидрофобных алюминиевых поверхностей. В экспериментах с *A. baumannii* В-05 и бактериофагом AM24 падение титра бактерий на супергидрофобных пластинах с сорбированным бактериофагом составляло 5 логарифмических порядков к 6-м суткам эксперимента и выражалось в 99,99% БА, а количество колониеобразующих единиц на супергидрофобных пластинах без бактериофагов было эквивалентно количеству на контрольных. В экспериментах с *K. pneumoniae* В-811 и *P. aeruginosa* В-3086 супергидрофобные пластины с осажденными на поверхности бактериофагами проявляли более высокую БА, чем пластины этого типа без фаговых частиц. В опытах с бактериофагом SCH111 и *S. aureus* 2004 не наблюдалось значительного различия в БА супергидрофобных пластин с сорбированными бактериофагами и без них. Сорбция фаговых частиц на супергидрофильных пластинах не увеличивала БА.

Характеристика полирезистентных госпитальных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных в отделении торакальной хирургии

Канашенко М.Е., Асташкин Е.И.,
Мицевич И.П., Мухина Т.Н., Храмов М.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Фено- и генотипическая характеристика штаммов *Acinetobacter baumannii* из отделения торакальной хирургии.

Материалы и методы. Идентификацию бактерий *A. baumannii* осуществляли на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия); чувствительность к антибактериальным препаратам (АП) 5 функциональных классов (цефалоспорины, карбапенемы, аминогликозиды, фторхинолоны и сульфаниламиды) – на приборе Vitek-2 Compact (bioMérieux, США). Внутривидовое типирование проводили методом RAPD-PCR, используя праймеры OPA 11, Wil2 и 1247. Методом ПЦР детектировали гены *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-40-like}, *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-51-like}, *Int1* и *Int2*, *adeR* и *ompA*.

Результаты. Исследовали 5 культур *A. baumannii* (A.b.Om1-Om5) от одного пациента (A.b.Om2-Om5 – из секционного материала). Внутривидовое типирование показало, что все культуры *A. baumannii* составляют одну генетическую линию. Все *A. baumannii* были устойчивы к цефалоспорином, карбапенемам, аминогликозидам, фторхинолонам и сульфаниламидам. В культурах A.b.Om2, A.b.Om4 и A.b.Om5 идентифицированы три гена бета-лактамаз: *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-40-like}, *bla*_{OXA-51-like}, а в культурах A.b.Om1 и A.b.Om3 – четыре: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-40-like}, *bla*_{OXA-51-like}. Следует отметить, что A.b.Om1 и A.b.Om3 несут эпидемически значимый ген бета-лактамазы расширенного спектра *bla*_{CTX-M}. Все штаммы несут гены *adeR* и *ompA*. Идентификация ключевого гена эффлюксного насоса *adeR* свидетельствует о сохраненной эффективности выведения АП. Ген поринового белка *ompA*

указывает на нативность пор клеточной мембраны и сохранение проницаемости для выведения АП из клетки. Гены *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-23-like}, гены интеграз *Int1* и *Int2* не обнаружены

Выводы. Исследованные культуры *A. baumannii* обладают множественной лекарственной устойчивостью и принадлежат к одной генетической линии. Наличие большого числа генетических детерминант антибиотикорезистентности и эффективное функционирование эффлюксного насоса при сохраненной проницаемости клеточной мембраны указывает на молекулярный механизм полирезистентности у исследованных *A. baumannii*. Циркуляция госпитальных полирезистентных штаммов *A. baumannii* в отделениях с оказанием высокотехнологичной медицинской помощи (отделения интенсивной терапии, кардиохирургии, нейрохирургии, трансплантологии и др.) становится настоящей проблемой для современной системы здравоохранения.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Характеристика эстремально резистентных госпитальных культур *Klebsiella pneumoniae*, несущих ген карбапенемазы OXA 48

Канашенко М.Е., Асташкин Е.И., Мицевич И.П.,
Федюкина Г.Н., Мухина Т.Н., Храмов М.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Повсеместно в мире наметилась негативная тенденция к росту регистрации экстремально резистентных госпитальных энтеробактерий. В настоящее время самый распространенный тип карбапенемаз во многих странах Европы – OXA 48 (Poirel L.).

Цель исследования. Выделение, идентификация, детекция генетических детерминант антибиотикорезистентности и внутривидовое типирование культур *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы. Видовую идентификацию культур *K. pneumoniae* проводили на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия). Чувствительность к 15 антибактериальным препаратам (АП) 6 функциональных групп (бета-лактамы, аминогликозиды, карбапенемы, цефалоспорины, фторхинолоны, сульфаниламиды) определяли на приборе Vitek-2 Compact (bioMérieux, Франция). Методом RAPD-PCR, используя праймеры OPA 11, Wil2 и 1247, проводили внутривидовое типирование. Генетические детерминанты антибиотикорезистентности: гены бета-лактамаз (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}), интегроны класса 1 и 2 и ген поринового белка *ompK36* идентифицировали методом ПЦР.

Результаты. Из образцов секционного материала от пациента отделения торакальной хирургии выделены и идентифицированы четыре культуры *K. pneumoniae* (К.р. Om1, Om2, Om3 и Om4). При проведении внутривидового типирования было показано, что все культуры *K. pneumoniae* генетически идентичны и составляют одну генетическую линию. Все культуры клебсиелл были резистентны к АП 6 функцио-

нальных групп, используемым в данном исследовании. Таким образом, все изученные культуры отнесены к категории экстремально резистентных микроорганизмов (extensively drug-resistant – XDR) согласно методике (German G.J., 2018г.). В штамме К.р. Om1 были обнаружены три гена бета-лактамаз: *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} и *bla*_{OXA48}, а в штаммах К.р. Om2, Om3 и Om4 идентифицированы четыре – *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA48}. У всех изолятов был обнаружен измененный ген поринового белка ompK36 со встроенным IS-элементом. Наличие дефектного гена поринового белка приводит к изменению проницаемости клеточной мембраны для антибактериальных препаратов. Гены *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, интегроны класса 1 и 2 не обнаружены.

Выводы. От пациента отделения торакальной хирургии из проб секционного материала выделены 4 культуры *K. pneumoniae bla*_{OXA48}, составляющие одну генетическую линию и обладающие XDR-фенотипом. Наличие у исследованных культур 3–4 генов бета-лактамаз, а также измененной проницаемости клеточной мембраны могут указывать на молекулярный механизм множественной антибактериальной устойчивости у исследованных XDR-культур *K. pneumoniae*. Карбапенеморезистентные XDR *K. pneumoniae* – наиболее проблемные возбудители инфекций во многих медицинских учреждениях с оказанием высокотехнологичной медицинской помощи.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Анализ результатов санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды и пищевых продуктов

Катаева Л.В., Вакарин А.А., Посоюзных О.В., Степанова Т.Ф., Колотова О.Н., Кошкарева И.И.

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, Тюмень, Российская Федерация

Надежность и достоверность проведения санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды повышает эффективность профилактических и противозидемических мероприятий инфекционной заболеваемости. На базе института функционирует аккредитованный испытательный лабораторный центр, осуществляющий комплекс исследований в рамках производственного контроля предприятий различного профиля.

Цель исследования. Анализ санитарно-бактериологических исследований воды питьевой, воды бассейнов и пищевых продуктов.

Материалы и методы. На соответствие требованиям действующих нормативных документов проанализированы результаты санитарно-бактериологического исследования 213 проб воды питьевой, 328 проб воды бассейнов (поверхностный и глубинный слой) и 328 проб пищевых продуктов за последние 12 месяцев.

Результаты. При исследовании воды питьевой методом мембранной фильтрации 2,8% проб не соответствовали тре-

бованиям по следующим показателям: количество общих колиформных бактерий (ОКБ), термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) и ОМЧ (общее микробное число). Неудовлетворительные образцы воды питьевой были отобраны в социально значимых объектах обслуживания населения. Кроме того, в двух пробах воды питьевой, отобранной в детском саду и санатории, обнаружены бактерии рода *Aeromonas*, хотя они не являются санитарно-показательными микроорганизмами.

Количество неудовлетворительных проб воды бассейнов составило 23,2%. В их структуре выявлено несоответствие по *Pseudomonas aeruginosa* в 63,2% проб, по *Staphylococcus aureus* – 2,6%, остальное количество несоответствий (34,2%) определено по 2–4 показателям – *P. aeruginosa*, *S. aureus*, ОКБ и ТКБ. Также из 10 проб воды бассейнов изолированы бактерии *Pseudomonas mendocina*, которые, по данным литературы, могут вызывать внутрибольничные инфекции.

Среди проб пищевых продуктов, поступивших на исследование, 11,3% не соответствовали требованиям нормативных документов. В 64,9% случаев несоответствие отмечалось по одному показателю, чаще всего по обнаружению БГКП (бактерии группы кишечной палочки) и КМАФАнМ (количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов). Важно подчеркнуть, что все пробы пищевых продуктов были контаминированы сопутствующей микрофлорой, которая не идентифицируется и не учитывается, потому что не относится к санитарно-показательным критериям. Но вместе с тем среди них возможно наличие условно-патогенных штаммов, носителей генов вирулентности.

Заключение. Идентификация в исследуемых пробах объектов окружающей среды сопутствующей микрофлоры, не относящейся к санитарно-бактериологическим показателям, позволит своевременно оценить риски ее негативного влияния на организм человека. Важнейшая задача современной медицины связана с прогнозированием и мониторингом новых (эмерджентных) патогенов.

Характеристика генов вирулентности штаммов *Escherichia coli*, изолированных от больных хроническими воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта

Катаева Л.В.¹, Степанова Т.Ф.¹, Кисличкина А.А.², Богун А.Г.², Вакарин А.А.¹

¹ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, Тюмень, Российская Федерация;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

По прогнозам экспертов Всемирной организации здравоохранения, в середине XXI в. болезни органов пищеварения будут занимать одно из ведущих мест. Во многом это обусловлено образом жизни современного человека (стрессы, нерациональное питание, гиподинамия, вредные привычки),

загрязнением окружающей среды, увеличением в рационе питания доли некачественных и генномодифицированных продуктов питания. Воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) чаще всего связаны с нарушением микробиоты кишечного содержимого, характеризующимся появлением или увеличением количества условно-патогенных бактерий, а также изменениями в их структуре и свойствах. По бактериологическим критериям (культурально-ферментативным, серологическим) *Escherichia coli* при проведении исследований существующими методами идентификации не всегда можно отнести к этиологически значимой при кишечных инфекциях. Вместе с тем результаты полногеномного секвенирования изолированных штаммов *E. coli* позволяют получить дополнительную информацию о наличии у них генов вирулентности, определить причину заболевания и назначить специфическую терапию.

Проведено полногеномное секвенирование 10 штаммов *E. coli*, изолированных от больных хроническими воспалительными заболеваниями ЖКТ (холецистит, холангит, гастрит, гастроуденит) на платформе Illumina MiSeq, с использованием наборов Nextera DNA Library Preparation Kit и MiSeq Reagent Kits v3 (600-Cycle Kit). Для поиска генов вирулентности использовали сервер VirulenceFinder 2.0 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/VirulenceFinder/>). Исследуемые штаммы были типичными по морфологическим, культуральным и биохимическим свойствам. При этом результаты полногеномного секвенирования свидетельствуют о наличии у изученных штаммов комплекса генов вирулентности: адгезинов (serine protease autotransporters of Enterobacteriaceae (SPATE), S-fimbriae minor subunit, adherence protein, long polar fimbriae), инвазинов (ABC transporter protein MchF, enterobactin siderophore receptor protein, siderophore receptor), токсинов (EAST-1 heat-stable toxin, cytotoxic necrotizing factor, vacuolating autotransporter toxin, secreted autotransporter toxin, plasmid-encoded enterotoxin). Практически у всех штаммов (80%) обнаружен ген increased serum survival (*iss*) – ген повышенной выживаемости в сыворотке крови, который причастен к птичьему колибактериозу, а также ген Glutamate decarboxylase (*gad*) – фермент, катализирующий процесс декарбоксилирования в микробной клетке. Ген enteroaggregative immunoglobulin repeat protein (*air*), который все чаще признается причиной диарейных заболеваний, и ген *Salmonella* HilA homolog (*eilA*), являющийся главным регулятором «острова патогенности», определены у 3 штаммов *E. coli*.

Таким образом, дальнейшие исследования в области изучения генов вирулентности штаммов *E. coli* необходимо направить на разработку диагностических методов, доступных для практических лабораторий.

Методы молекулярного субтипирования возбудителей брюшного тифа и паратифа В

Кафтырева Л.А.¹, Кулешов К.В.², Егорова С.А.¹

¹ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Этиологическая диагностика сальмонеллезов основана на ферментативной и антигенной характеристике штамма, принадлежности его к роду *Salmonella*, виду *enterica* и конкретному серовару. В практике врача-бактериолога нередко встречаются штаммы «инагглютинабельные» (*S. typhi* с развитым Vi-антигеном, O9-инагглютинабельный), монофазные (*S.* группы В) или неподвижные. Методические подходы, такие как развитие подвижности, детекция антигенов агглютинирующими сыворотками или постановка дополнительных тестов (d-тартрат), – дорогостоящие, трудоемкие и требуют дополнительного времени для получения результата. Молекулярные методы позволяют быстро провести детекцию «фенотипически проблемных» штаммов.

Материалы и методы. Молекулярными методами изучены 74 штамма *S. Typhi*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi A*, *S.* серогрупп D и В, не относящиеся к *S. Typhi* и *S. Paratyphi B*. Для идентификации серовара использована ПЦР в мультиплексном формате с электрофоретической детекцией (Levy et al., JCM, 2008): проводили детекцию генов *tyv* и *prt* (кодирующих синтез О-антигена), *viaB* (Vi-антигена), а также *fliC-a*, *fliC-b*, *fliC-d* (H-антигенов первой фазы a, b и d). Для дифференциации биоваров *S. Paratyphi B* использован метод, предложенный Malorny et al. (JCM, 2003), основанный на выявлении различий в определенном участке гена STM 3356 у вариантов *S. Paratyphi B* (dT⁺) и (dT⁻). У 40 штаммов *S. Typhi*, устойчивых к фторхинолонам, провели детекцию мутаций в QRDR-регионе гена *gyrA* и филогенетическую характеристику методом SNP-типирования на основе данных полногеномного секвенирования.

Результаты. Для всех штаммов *S. Typhi* в ПЦР получены три специфических фрагмента, характерные для генов *tyv*, *prt* и *viaB*, а также *fliC-d*, что подтвердило их принадлежность к возбудителю брюшного тифа. У штаммов *S. Enteritidis* и других сероваров группы O9 выявлены *tyv* и *prt*; фрагменты, характерные для *viaB* и *fliC-d*, отсутствовали. У штаммов *S. Paratyphi A* выявлены гены *prt* и *fliC-a*; у *S. Paratyphi B* – *rfbJ* и *fliC-b*. Штаммы *S. Typhimurium* и других сероваров серогруппы O4 имели ген *rfbJ*, но *fliC-b* отсутствовал. Таким образом, детекция серовара, полученная в реакции агглютинации со специфическими сыворотками и методом ПЦР, полностью совпала. При постановке ПЦР для дифференциации биоваров *S. Paratyphi B* у шести штаммов был выявлен специфический фрагмент, характерный для варианта, ферментирующего d-тартрат, что позволило отнести их к варианту Java (*S. Paratyphi B* dT⁺). У одного штамма специфический фрагмент отсутствовал, что указывало на его принадлежность к биовару *S. Paratyphi B* dT⁻ – истинному возбудителю паратифа В. Результаты ПЦР полностью совпали с результатами теста ферментации d-тартрата. Если учесть,

что субстрат d-тарtrat практически не продается в нашей стране, а положительная и отрицательная реакции визуализируются нечетко, то определение специфического фрагмента гена в ПЦР, характерного для варианта, ферментирующего d-тарtrat, является единственным надежным признаком для дифференциации *S. Paratyphi* B и варианта Java.

По данным SNP-типирования *S. Typhi*, завезенных в РФ в последнее десятилетие, большая часть штаммов имела азиатское происхождение, такой эпидемический клон в настоящее время распространен во многих регионах мира и характеризуется устойчивостью к клинически значимым антибиотикам.

Заключение. Проведенное исследование показало, что комбинация фенотипических и молекулярных методов при исследовании гетерогенной популяции *S. Typhi* и *S. Paratyphi* B позволяет составить оптимальную схему субтипирования штаммов в целях эпидемиологического надзора.

Брюшной тиф в Российской Федерации

Кафтырева Л.А.^{1,2}, Матвеева З.Н.¹

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Брюшной тиф (БТ) – тяжелая системная антропонозная инфекция, вызываемая *Salmonella Typhi*, способная к широкому эпидемическому распространению. В настоящее время регистрируется практически во всех странах. Динамика заболеваемости БТ в нашей стране на протяжении десятилетий характеризовалась устойчивой тенденцией к снижению. Современной эпидемиологической особенностью является резкое увеличение частоты заноса БТ из стран ближнего и дальнего зарубежья, эндемичных по БТ. Случаи заболевания регистрируются у лиц из социально неблагополучных групп населения, трудовых мигрантов и жителей России, выезжавших в регионы, эндемичные по БТ. В 2006–2018 гг. отмечены случаи «завоза» БТ в РФ из 13 стран.

Использование антимикробных препаратов (АМП) в лечебных целях снизило летальность заболевания до уровня менее 1,0%, но привело к появлению резистентных штаммов *S. Typhi*. В конце 1960-х гг. появились штаммы, резистентные к хлорамфениколу, ампициллину и ко-тримоксазолу, в начале 1990-х гг. – к фторхинолонам, в 2005–2008 гг. появилась резистентность к цефалоспорином 3–4-го поколения (ЦРС).

Исследования, проведенные в Референс-центре по брюшному тифу (Институт Пастера, Санкт-Петербург), показали, что 97,3% из 332 штаммов, выделенных на территории 21 субъекта РФ, принадлежали к биовару 1 (ферментировали ксилоту и не ферментировали арабинозу), но характеризовались различными фенотипами резистентности к АМП и генетической неоднородностью. Чувствительными к АМП были 17,0% штаммов, 83,0% характеризовались устойчивостью к фторхинолонам. Кроме того, популяция возбудителя включает штаммы с множественной устойчивостью к АМП, ранее используемым для лечения БТ (хлорамфениколу, ам-

пициллину, триметоприм/сульфаметоксазолу). Не выявлено устойчивости к ЦРС и азитромицину, что позволяет рекомендовать эти препараты для эмпирической терапии БТ.

Несмотря на идентичный фенотип резистентности к фторхинолонам, штаммы характеризовались различными однонуклеотидными заменами в гене *gyrA*: Asp87Asn (78,7%), Ser83Tyr (5,0%) и Ser83Phe (3,2%), а также сочетанием трех однонуклеотидных замен: в гене *gyrA* (Asp87Asn+Ser83Phe) и *parC* (Ser80Ile).

Анализ генетического разнообразия и филогенетической структуры возбудителя показал, что более 80,0% штаммов принадлежали к генетической группе H58, которая была неоднородна: большая часть исследуемых штаммов кластеризовались в три филогенетические группы. 60,0% штаммов относились к одной группе и характеризовались идентичным фенотипом резистентности: устойчивостью к фторхинолонам, обусловленной однонуклеотидной заменой *gyrA* Asp87Asn. В группе штаммов, не относящихся к H58 (15,6%), почти все штаммы отличались чувствительностью к АМП, кластеризовались в разные филогенетические группы или обладали индивидуальными генотипами. Более 80,0% российских штаммов *S. Typhi* относились к успешному международному азиатскому клону, который происходит из стран Юго-Восточной и Южной Азии. Такие штаммы в разные годы были завезены на территории РФ: в Санкт-Петербург (2006, 2007, 2010, 2011, 2012, 2014, 2017 гг.) и области: Московскую (2011 и 2013 гг.), Калининградскую (2011 и 2012 гг.), Воронежскую (2014 г.), Иркутскую (2015 г.) и Хабаровский край (2012 г.). Менее 20,0% исследуемых штаммов филогенетически относились к другим кластерам и отличались от основной популяции возбудителя брюшного тифа отсутствием резистентности к антибиотикам либо имели резистентность к хинолонам, обусловленную другими мутациями.

Заключение. Брюшной тиф в Российской Федерации является завозной инфекцией и требует постоянного мониторинга биологических свойств возбудителя для оптимизации антибактериальной терапии и противоэпидемических мероприятий. БТ характеризуется эпидемическим распространением и возникновением вспышек, а инфицирование резистентными штаммами приводит к снижению эффективности антимикробной терапии. Надзор за резистентностью и рациональная антимикробная терапия позволят ограничить дальнейшее распространение полирезистентных клонов возбудителя.

Влияние мирамистина и амфотерицина В на грибы рода *Candida*

Кирсанова М.А., Криворотченко Ю.Л., Андроновская И.Б.

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И.Вернадского», Медицинская академия им. С.И.Георгиевского, Симферополь, Российская Федерация

Глобальный процесс распространения микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам, имеет отношение и к условно-патогенным грибам. Один из путей решения этой проблемы – применение антимикотиков вместе с анти-

септиками. Мирамистин – известный антисептик, обладающий антибактериальным, противовирусным и противогрибковым действием. В медицинской литературе широко описаны случаи местного применения мирамистина с последующим применением антифунгальных препаратов. При этом сравнительно мало данных о том, как действуют эти вещества при совместном использовании *in vitro*.

Целью нашего исследования было изучить сочетанное действие препаратов амфотерицина В (ОАО «Синтез», Россия) и раствора мирамистина (ООО «ИНФАМЕД», Россия) *in vitro*. Использовали референс-штамм *Candida albicans* ССМ 885 и изоляты, полученные от больных: *C. albicans* № 71 и *C. lusitanae* № 69. Грибы предварительно инкубировали в воде в присутствии указанных препаратов в течение 15, 30 и 60 минут. Затем переносили в 96-луночный пластиковый планшет на среду Сабуро (с разведением вносимого материала в 200 раз). Далее грибы культивировались в планшетном спектрофотометре Мультискан при температуре 30°C, 48 часов. Результаты учитывались по изменению оптической плотности при длине волны 540 нм. В качестве контроля использовали инкубацию грибов только с мирамистином, только с амфотерицином В, только со стерильной водой в течение указанных выше временных интервалов.

Инкубация тестового штамма и клинических изолятов только с 0,001%-м раствором мирамистина или амфотерицином В в концентрации 50 мкг/мл не оказывала антифунгального действия. В этих случаях оптическая плотность суспензий грибов продолжала возрастать так же, как и в контроле со стерильной водой. Незначительное снижение скорости нарастания биомассы грибов отмечалась только при инкубации в течение 60 мин. Сочетанная предварительная обработка грибов мирамистином и амфотерицином В приводила к прекращению увеличения оптической плотности и соответственно к прекращению увеличения количества клеток грибов при инкубации в течение 15, 30 и 60 минут. Так, для тестового штамма уже после 15 мин инкубации показатель оптической плотности D уменьшился по сравнению с контролем на 0,49 единиц, для изолята № 69 – на 0,36, а для изолята № 71 – на 1,2 единицы.

Вывод. Сочетанное действие препаратов амфотерицина В в концентрации 50 мкг/мл и 0,001%-го мирамистина *in vitro* оказывает выраженный антифунгальный эффект на грибы рода *Candida*, при этом раздельное применение этих препаратов в тех же концентрациях не оказывало антимикотического действия.

Определение кластера генов, кодирующих синтез О-полисахарида штамма *Yersinia massiliensis* В-3986 (664)

Кисличкина А.А., Майская Н.В., Платонов М.Е., Богун А.Г., Дентовская С.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

О-специфический полисахарид (ОПС), называемый О-антигеном, является частью липополисахарида (ЛПС), расположенного на клеточной поверхности грамотрицатель-

ных бактерий. Он состоит из олигосахаридных повторяющихся единиц (О-звеньев), обычно содержащих от двух до шести моносахаридных остатков. О-антиген – один из наиболее вариабельных компонентов клеточной поверхности бактерий, и его структура положена в основу серологической классификации штаммов. Например, на основании строения О-антигенов штаммы *Yersinia pseudotuberculosis* отнесены к 15 серотипам, для большинства из них установлены структуры ОПС. Строение ОПС других видов *Yersinia* изучено значительно меньше. Многие штаммы иерсиний невозможно типировать с использованием существующего набора антисывороток, применяемых для серодиагностики. Изучение кластеров генов, ответственных за структуру О-полисахаридов, необходимо для создания генетической основы для идентификации и типирования представителей *Yersinia* spp., а также для выяснения молекулярных основ биосинтеза и изучения эволюционных путей формирования разнообразия ОПС.

Для определения кластера генов, кодирующих синтез О-полисахарида штамма *Y. massiliensis* В-3986 (664), провели полногеномное секвенирование на платформе IonTorrent. При помощи программы SPAdes v.3.9.0. полученные единичные прочтения собрали в контиги, которые разместили в базе данных NCBI Genome (код доступа MWTK00000000.1). Установили, что кластер из 12 генов, кодирующий биосинтез ОПС, находится между геном *gnd* (6-phosphogluconate dehydrogenase) и JUMPstart sequence. Синтез О-полисахарида у штамма *Y. massiliensis* В-3986 осуществляется при помощи АТФ-связывающего кассетного транспортера (*wzt/wzm* pathway). Шесть генов кластера относятся к генам, кодирующим биосинтез олигосахаридов (*manC*, *manB*, *gmd*, *rmd*, *gne*, *galF*), три гена являются гликозилтрансферазами. В составе кластера идентифицировали также ген, продукт которого является метилтрансферазой, определяющей длину цепи олигосахаридных повторяющихся единиц. Так как гены *gmd* и *rmd* участвуют в синтезе рамнозы, можно предположить, что в структуре О-полисахарида присутствует этот сахар. В полногеномной последовательности штамма *Y. massiliensis* В-3986 локализовали также кластер генов *gtrABC*, отвечающий за модификацию синтезированного О-полисахарида. Этот кластер состоит из 9 генов, шесть из которых (*ddhD*, *ddhA*, *ddhB*, *ddhC*, *yerE*, *yerF*) предположительно кодируют синтез олигосахаридов иерсинозы, а три гена (*gtrA*, *gtrB*, *gtrC*) отвечают за перенос и присоединение олигосахаридов боковой цепи.

В дальнейшем, после определения химической структуры О-специфического полисахарида штамма *Y. massiliensis* В-3986, предполагается установить ее соответствие полученным генетическим данным.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Сальмонеллы в психиатрической больнице

Козлова Н.С.¹, Пилипенко С.Б.², Мамонова Е.А.², Голубева Ю.Г.², Григорьева Л.Г.², Метляева А.В.³

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²СПб ГКУЗ «Городская психиатрическая больница №3 им. И.И.Скворцова-Степанова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Определение пейзажа и антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных в психиатрической больнице Санкт-Петербурга в 2018–2019 гг.

Материалы и методы. В 2018–2019 гг. в психиатрической больнице Санкт-Петербурга из фекалий пациентов стационара были выделены 37 штаммов сальмонелл. В отличие от 2016 г., в 2018–2019 г. изоляты шигелл в больнице отсутствовали. Определение чувствительности к шести антимикробным препаратам (АМП) проводилось методом диффузии в агар согласно клиническим рекомендациям от 2015 г.

Результаты. Выделенные штаммы сальмонелл были представлены четырьмя сероварами трех серогрупп, при этом культуры сальмонелл группы С составили более половины изолятов (54,1%). Доля представителей группы D и B была меньше (29,7 и 16,2% соответственно). В 2018 г. были выделены 30 штаммов сальмонелл 4 сероваров (*Salmonella enterica* serovar *infantis*, *S. enterica* serovar *enteritidis*, *S. enterica* serovar *typhimurium*, *S. enterica* serovar *santpaul*), а за 5 месяцев 2019 г. – 7 культур двух сероваров (*S. enterica* serovar *enteritidis* и *S. enterica* serovar *typhimurium*). Более двух третей (67,6%) сальмонелл в 2018 г. было выделено с 25 июля по 1 августа от 16 больных 12 отделений во время вспышки сальмонеллеза, вызванного *S. infantis*. Вследствие указанной вспышки удельный вес сальмонелл этого серовара составил более половины (54,1%) выделенных культур, хотя в 2019 г. изоляты *S. infantis* в больнице отсутствовали. Доля *S. enteritidis* среди выделенных штаммов составила 29,7%, *S. typhimurium* – 13,5%, был выделен только один изолят *S. santpaul*. Определение чувствительности к антимикробным препаратам показало, что большая часть выделенных штаммов (91,9%) была устойчива хотя бы к одному АМП, при этом все устойчивые культуры оказались резистентными к ампициллину, 89,2% – к амоксициллин/клавуланату. Ко всем остальным АМП (фторхинолонам, цефалоспорином и карбапенемам) все выделенные штаммы сальмонелл сохраняли чувствительность. Все изоляты *S. typhimurium*, *S. infantis* и *S. santpaul* оказались устойчивы хотя бы к одному АМП, три чувствительные ко всем препаратам штамма отосились к серовару *S. enteritidis*.

Выводы. Большая часть сальмонелл в психиатрической больнице (91,9%) оказалась устойчивой хотя бы к одному АМП, чаще всего ампициллину и амоксициллин/клавуланату, в то же время все выделенные культуры сохраняли чувствительность к большинству АМП других групп (фторхинолонам, цефалоспорином и карбапенемам). Не было выявлено полирезистентных штаммов сальмонелл.

Диареегенные эшерихии в психиатрической больнице

Козлова Н.С.¹, Пилипенко С.Б.², Мамонова Е.А.², Голубева Ю.Г.², Григорьева Л.Г.², Метляева А.В.³

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²СПб ГКУЗ «Городская психиатрическая больница №3 им. И.И.Скворцова-Степанова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Определение пейзажа и чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) диареегенных эшерихий, выделенных в психиатрической больнице Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. Согласно клиническим рекомендациям от 2015 г. проведено определение чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) 97 штаммов диареегенных эшерихий, выделенных из фекалий пациентов и сотрудников психиатрической больницы в 2018–2019 гг.

Результаты. Исследование показало, что в больнице преобладали штаммы энтеротоксигенных (ЭТКП) эшерихий (66,0%). Удельный вес энтероинвазивных эшерихий (ЭИКП) был более чем в два раза ниже (26,8%). Еще меньшей (7,2%) была доля энтеропатогенных кишечных палочек (ЭПКП). Среди ЭТКП преобладали серогруппы O6 (40,2% от общего числа изолятов) и O25 (25,8%). Среди ЭИКП превалировала серогруппа O151 (21,6%), серогруппы O124 и O144 были представлены единичными изолятами (3,1 и 2,1% соответственно). ЭПКП были представлены одной серогруппой O1 (7,2%). Определение чувствительности эшерихий к АМП показало, что 90,7% выделенных культур устойчивы хотя бы к одному АМП, при этом большая часть штаммов резистентна к ампициллину и амоксициллин/клавуланату (по 90,7%). Значительно меньшей была доля изолятов, устойчивых к цефтриаксону (9,3%) и фторхинолонам (ципрофлоксацину – 7,2%, левофлоксацину – 6,2%). Резистентные к цефтриаксону штаммы встречались среди всех выявленных серогрупп эшерихий, кроме малочисленных O144 и O124, в то время как изоляты, устойчивые к фторхинолонам, относились только к двум серогруппам – ЭПКП O1 и ЭТКП O25. Не было выявлено культур, устойчивых к карбапенемам. Большинство изученных штаммов оказалось устойчивыми одновременно к двум препаратам (75,3%). Удельный вес полирезистентных изолятов был низким и составил всего 6,2%, было выявлено только 6 культур с одновременной резистентностью к ампициллину, амоксициллин/клавуланату, фторхинолонам и цефтриаксону, при этом три из них относились к серогруппе O1 и три – к серогруппе O25.

Выводы. Среди диареегенных эшерихий в стационаре превалировали ЭТКП серогрупп O6 и O25. Большинство выделенных культур были устойчивы к АМП с преобладанием изолятов с одновременной устойчивостью к двум препаратам. Только 7,2% были устойчивы к фторхинолонам и 9,3% – к цефалоспорином. Все культуры сохраняли чувствительность к карбапенемам. Удельный вес полирезистентных штаммов среди эшерихий был невысок и составил 6,2%.

Устойчивость к аминогликозидам у штаммов *Enterococcus faecalis*, выделенных при инфекции мочевых путей на Дальнем Востоке России

Коменкова Т.С.¹, Пушилина А.Д.¹, Зайцева Е.А.¹, Стрельникова Н.В.^{2,3}, Бледных Л.А.³

¹ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Дальневосточный государственный медицинский университет», Хабаровск, Российская Федерация;

³КГБУЗ «Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.И.Сергеева», Хабаровск, Российская Федерация

В последнее время возросла этиологическая значимость бактерий рода *Enterococcus* при инфекции мочевых путей (ИМП). Лечение энтерококковой инфекции затруднено, поскольку они обладают природной низкоуровневой устойчивостью к β-лактамам и аминогликозидам. Тем не менее синергетическое действие комбинации этих препаратов может быть эффективным. Однако наличие высокоуровневой резистентности к аминогликозидам устраняет синергический бактерицидный эффект комбинированного воздействия данных антибиотиков. Основным механизмом высокого уровня устойчивости к аминогликозидам является ферментативная модификация антимикробных препаратов.

Цель исследования. Оценить резистентность к аминогликозидам уроштаммов *E. faecalis*, выделенных в Приморском и Хабаровском краях.

Материалы и методы. В работе исследовали клинические изоляты *E. faecalis* ($n = 65$), выделенные из мочи пациентов с ИМП на Дальнем Востоке России. Антибиотикорезистентность энтерококков оценивали диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон (Conda, Испания), согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (2018, версия 3), использовали диски с гентамицином (30 мкг) и стрептомицином (300 мкг) (Mast Group, UK). Гены резистентности к аминогликозидам (*aac(6′)-Ie-aph(2′′)-Ia* и *ant(6′)-Ia*) изучали с помощью полимеразной цепной реакции. Детекцию продуктов амплификации осуществляли в 1%-м агарозном геле.

Результаты. Фенотипически резистентность к гентамицину и стрептомицину была выявлена у 34 (52,3%, 95% ДИ: 39,6–64,7%) и 30 (46,2%, 95% ДИ: 33,9–58,9%) уропатогенных *E. faecalis* соответственно. Однако частота детекции генов, кодирующих резистентность к гента- и стрептомицину, была ниже. Гены *aac(6′)-Ie-aph(2′′)-Ia* и *ant(6′)-Ia* были обнаружены у 14 (21,5%, 95% ДИ: 12,6–33,8%) и 20 (30,8%, 95% ДИ: 20,2–43,6%) изолятов энтерококков соответственно. Совпадение фенотипического и генетического профиля наблюдалось у 44,6% исследуемых *E. faecalis*.

11/34 (32,4%, 95% ДИ: 18,0–50,6%) и 12/30 (36,7%, 95% ДИ: 23,2–59,3%) энтерококков, фенотипически проявляющих резистентность к гентамицину и стрептомицину, имели гены *aac(6′)-Ie-aph(2′′)-Ia* и *ant(6′)-Ia* соответственно, что согласуется с результатами исследователей из Ирана, кото-

рые обнаружили данные гены у 33/76 (43,4%, 95% ДИ: 32,3–55,3%) и 16/24 (66,7%, 95% ДИ: 44,7–83,6%) аминогликозид устойчивых клинических изолятов *E. faecalis* (Amini F., 2018).

Заключение. Около половины исследуемых уропатогенных *E. faecalis*, выделенных на Дальнем Востоке России, проявили резистентность к аминогликозидам. Однако только треть фенотипически устойчивых энтерококков несли гены аминогликозид-превращающих ферментов, что требует дальнейшего изучения.

Сравнение данных мультиплексного анализа и метода полимеразной цепной реакции в реальном времени при оценке бактериальной контаминации кожи перед проведением операции абдоминопластики

Копасов А.Е.^{1,2}, Иванченко О.Б.³, Морозов С.Г.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация;

²Клиника пластической хирургии и косметологии профессора Блохина и доктора Вульфа, Москва, Российская Федерация;

³ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого», Высшая школа биотехнологии и пищевых технологий, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель работы. Исследование микробиома кожи пациентов перед операцией абдоминопластики двумя методами для верификации результатов.

Пациенты и методы. Исследование проведено у 58 пациенток (женщины 36–58 лет) Клиники пластической хирургии, все подписывали форму информированного согласия, утвержденную Ученым Советом НИИОПП. Критериями исключения пациентов из исследования были острые вирусные или бактериальные инфекции, системные аллергические и воспалительные заболевания, онкология, психический стресс.

Исследования микробиома выполнялись совместно с НИИОПП и СПбГУ по научному договору. Пробы брали в области разреза перед проведением абдоминопластики, кожу протирали тампонами со стерильным физиологическим раствором, затем брали соскобы кожи в стерильные пробирки по МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Полученные образцы хранили при $t^{\circ} 70^{\circ}\text{C}$ до проведения исследования. Наличие бактериальной контаминации определяли методом ПЦР в реальном времени с парами праймеров, синтезированных на основании олигонуклеотидов патогенов, известных из базы данных [www.ncbi.nih.gov/Genbank/]. В работе использовали методики для клинических исследований. Пробы также анализировали методом мультиплексного анализа на проточном цитометре FACSCalibur с соответствующими антигенами для микробиоты на бусах. Результаты обработаны по программе ANOVA и представлены как $M \pm m$.

Результаты. У пациентов методом ПЦР были обнаружены: *Propionibacteria* spp. (70%), *Corynebacteria* spp. (45%), *Staphylococcus* spp. (21%, *S. aureus* 18%), *Lactococcus* spp. (11%), *Streptococcus* spp. (5%), *Enterobacteria* spp. (5%), *E. coli* (5%). При исследовании соскобов методом мультиплексного анализа пропионовые бактерии составляли 48%, коринобактерии – 22%, стафилококки – 18% (из них золотистый стафилококк – 12%), стрептококки – 7% и энтеробактерии – 5% (суммарно все антигены берутся за 100%). Соотношения разных видов бактерий, которые были определены двумя методами, примерно соответствуют друг другу, прямой корреляции найти нельзя вследствие особенностей измерения. Далее был проведен посев и определена чувствительность к антибиотикам, по результатам которой пациентам был назначен курс антибиотиков перед операцией (однократно i.v.), а также для промывания ими ран перед закрытием кожного покрова. После абдоминопластики не было осложнений, связанных с инфицированием операционного шва. Время заживления раны было оптимальным.

Выводы. Перед проведением абдоминопластики необходимо проведение исследования микробиома кожи в области предполагаемого разреза. С нашей точки зрения, предпочтительно использование метода ПЦР в реальном времени.

Исследование микрофлоры кожи у больных базалиомой

Королькова В.И., Базиков И.А.

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация

Рак кожи занимает одно из ведущих мест в онкологической заболеваемости. Для лечения данной патологии применяют противоопухолевые препараты. Цитостатики обладают миелодепрессивным влиянием, в результате развивается нейтропения. Одним из осложнений противоопухолевой химиотерапии является развитие инфекционных процессов, обусловленных нейтропенией. Инфекционные осложнения являются причиной летальных исходов у трети онкологических больных. При базалиоме челюстно-лицевой области появление бактериальных и грибковых инфекций в значительной мере зависит также и от микрофлоры кожи, в связи с чем изучение количественного и качественного состава микробного пейзажа представляет интерес.

Было проведено исследование микрофлоры кожи у 30 больных базалиомой, которые подвергались химиотерапии. Микрофлора изучалась до начала лечения и после двух курсов химиотерапии. Контрольная группа была составлена из 25 добровольцев без патологии. Исследование было направлено на выделение и идентификацию потенциальных патогенов (*Staphylococcus aureus*, *S. albus*, *Micrococcus lysodeiaticus*). Для оценки микрофлоры использовали следующие основные критерии: видовой состав микроорганизмов, колонизирующих данный биотоп; распространенность; величина общей бактериальной обсемененности; показатель доминантности видов. При исследовании микрофлоры кожи учитывали: 1) общую бактериальную обсемененность; 2) грамположительные кокки

семейства *Micrococcaceae* (стафилококки, микрококки, стрептококки); 3) коринебактерии; 4) дрожжеподобные грибы рода *Candida*; 5) грамотрицательные микроорганизмы (энтеробактерии, псевдомонады); 6) бациллы. Биологическое типирование аэробных микроорганизмов осуществлялось по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам. Культуры, выросшие на питательных средах, подвергали групповой (анаэробы и неспорообразующие бактерии), родовой (микрококки, дрожжеподобные грибы) и видовой (стафилококки, энтеробактерии) идентификации. Признаки патогенности определялись по схеме, предложенной С.А.Дратвиным (1983). Факторы, способствующие персистенции (АЛА и АИА), изучались по методам О.В.Бухарина с соавт. (1984). Таксономическую принадлежность изолированных бактерий определяли на основании роста бактерий в аэробных или анаэробных условиях, отношения к окраске по Граму, характера роста на селективных средах. Учитывая разную клиническую картину, представлялось интересным изучение колонизационной резистентности кожи у лиц обследуемых групп.

В результате исследований было отмечено, что микробиоценоз поверхностного слоя кожи лиц с базалиомой был иным, нежели кожный микрорейсжаж людей группы сравнения. Обращает на себя внимание уменьшение числа нормальных симбионтов при данном патологическом процессе на фоне увеличения представителей семейства *Micrococcaceae* и грамотрицательных микроорганизмов. Увеличение их числа в структуре микробиоценоза кожи больных базалиомой свидетельствовало о снижении общей реактивности макроорганизма, сопровождающей данное заболевание. Выявлено, что поверхность базалиомы не является физиологически биотопом, не имеет постоянной локализации. Микробиоценоз данной области являлся чрезвычайно нестабильным, подверженным значительным изменениям.

Таким образом, у больных с меланомой кожи выявлены представители семейства *Micrococcaceae*: *S. aureus* (41,9%) и *S. epidermidis* (39,2%), реже (11,7%) встречали *S. albus*, в 6,3% случаев у пациентов обнаружили *M. lysodeiaticus* и *Streptococcus* spp. Высокий уровень бактериальной обсемененности базалиомы являлся прогностически неблагоприятным признаком, так как постоянное присутствие условно-патогенных микроорганизмов в зоне поражения кожи может явиться пусковым моментом в инфекционном осложнении онкологического процесса. Эти результаты побуждают к поиску новых эффективных таргетных антимикробных и цитостатических препаратов.

Доклинические исследования антимикробного ниосомального геля с доксорубицином

Королькова В.И., Базиков И.А.

ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет», Ставрополь, Российская Федерация

К настоящему времени нами создан фармацевтический гель на основе доксорубицина и кремнийорганических наночастиц (ниосом) для лечения рака кожи. Гель способен

трансдермально проникать в организм, создавая депо противоопухолевого препарата, и доставлять в ткань опухоли терапевтическую дозу доксорубина без резких скачков концентрации, снижая таким образом нейро- и кардиотоксическое действие по сравнению со свободным доксорубином за счет пролонгированного действия, обусловленного инкапсулированием в ниосомы кремнийорганической природы. Гель обеспечивает создание такой ниосомальной формы доксорубина, которая увеличивает время циркуляции препарата в кровяном русле в несколько раз. Помимо кардиотоксичности, доксорубин, как и другие цитостатики, обладает миелодепрессивным влиянием, в результате развивается нейтропения. Одним из осложнений противоопухолевой химиотерапии является развитие инфекционных процессов, обусловленных нейтропенией. Это способствует активации условно-патогенной микрофлоры кожи. В связи с бактерицидными свойствами ионов серебра его нанодисперсии могут служить основой для создания новых антимикробных препаратов. Ранее были проведены исследования чувствительности микрофлоры кожи у больных базалиомой к доксорубину и ниосомам, модифицированным атомами серебра. Для решения проблемы инфекционных осложнений разработан антимикробный гель с доксорубином, инкапсулированным в ниосомы, модифицированные атомами серебра. Целью исследования явилось определение диапазона переносимых, токсических и летальных доз антимикробного ниосомального геля с доксорубином, модифицированного атомами серебра, при внутрибрюшинном введении на лабораторных животных.

Доклинические исследования по определению токсичности разработанного геля с доксорубином, модифицированного атомами серебра, проведены на лабораторных животных. Эксперимент проводился в течение 2 недель, в первый день непрерывно. Проводили наблюдение за общим состоянием и поведением животных и возможной гибелью, а также проявлением симптомов интоксикации. Регистрировали интенсивность и характер двигательной активности, наличие и характер судорог, координацию движений, тонус скелетных мышц, реакцию на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители, частоту и глубину дыхательных движений, состояние волосяного и кожного покровов, окраску слизистых оболочек, особенности потребления корма и воды, консистенцию фекальных масс, изменение массы тела. Летальные дозы определяли с помощью пробит-анализа. Проводили макроскопическое исследование органов (печени, легких, почек, сердца, селезенки, головного мозга, семенников (у самцов), яичников (у самок), желудка, тонкого кишечника) у 3 погибших крыс из каждой группы.

В результате исследования обнаружено, что максимальной переносимой дозой (LD_{10}) для крыс является 2,5 мг/кг, для мышей – 1 мг/кг. Частично смертельная доза препарата (LD_{16}) для крыс составляет 2,9 мг/кг и для мышей – 1,4 мг/кг. Среднесмертельная доза (LD_{50}) изученного лекарственного средства при внутрибрюшинном введении крысам обоего пола составляет $5,5 \pm 0,7$ и мышам обоего пола $4,0 \pm 0,6$ мг/кг. Смертельной дозой, близкой к абсолютной (LD_{84}) для крыс является 10,3 мг/кг, для мышей – 11,8 мг/кг. Существуют незначительные половые различия в чувствительности животных к испытываемому препарату. Для самцов крыс и мышей

значения LD_{50} оказались несколько выше, чем для самок. При изучении острой токсичности наблюдение за животными показало, что ни один из регистрируемых параметров поведения (реакции на различные раздражители, состояние волосяного и кожного покрова, консистенция фекальных масс, потребление корма и воды) не отличается от данных контрольной группы (интактные животные).

Таким образом, при изучении безопасности разработанного ниосомального геля получены данные, свидетельствующие об отсутствии токсичности.

Синтетическая биология: вопросы нормативно-правового регулирования

Корсакова И.И., Топорков А.В., Викторов Д.В.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Современный период развития науки характеризуется стремительным появлением все новых технологий, в том числе и биологических. Так, в докладе НИУ ВШЭ «Развитие регулирования: новые вызовы в условиях радикальных технологических изменений» (2019) приведены следующие данные: совокупный среднегодовой темп роста для перспективных биотехнологических направлений составляет в среднем 14,4%, при этом он наиболее высок у синтетической биологии (19,9%), которая высоко востребована отраслями агропромышленного комплекса, здравоохранением и фармацевтикой.

В то же время вопросы, связанные с дальнейшим развитием технологий синтетической биологии, относятся к области обеспечения химической и биологической безопасности страны. Такие проблемы, как проектирование и создание патогенных микроорганизмов, разработка и применение новых патогенов в качестве биологического оружия, бесконтрольное использование биотехнологий, согласно Указу Президента РФ от 11 марта 2019 г. № 97 «Об основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу», причислены к основным биологическим угрозам.

Риски, связанные с применением продуктов синтетической биологии, вызывают беспокойство специалистов различного профиля и неоднократно обсуждались как на национальном, так и на международном уровне. Крайне важно, чтобы развитие биотехнологии происходило в рамках государственного регулирования. По мнению ряда экспертов, действующее законодательство не содержит объективных критериев, регулирующих исследования в области синтетической биологии, в частности геномного редактирования (Петров А.Н. и др., 2018). Существует необходимость создания нормативно-правовой базы, обеспечивающей эффективность и безопасность исследований, способных поставить под угрозу здоровье и жизнь человека.

Совершенствование нормативно-правового регулирования и государственного управления является приоритетным направлением государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности.

Изучение элементного состава агара Мюллера–Хинтон

Косилова И.С., Домотенко Л.В., Шепелин А.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Инфекционные болезни, вызываемые бактериальными патогенами, представляют серьезную угрозу здоровью и жизни людей во всем мире. Ситуация усугубляется угрожающим распространением антибиотикорезистентных бактерий.

Для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам наиболее часто используют диско-диффузионный метод. Для его постановки рекомендована единственная питательная среда – агар Мюллера–Хинтон, которая должна иметь стабильный элементный состав, т.к. избыток или недостаток некоторых металлов влияет на результаты тестирования.

В стандартах CLSI, EUCAST, ISO (ISO/TS 16782:2016), в отечественных нормативных документах по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам приводятся требования по элементному составу питательных сред данного назначения, но не приводится описание методики его определения и рекомендаций по выбору метода анализа.

Цель исследования – сравнить результаты анализа элементного состава агара Мюллера–Хинтон, полученные с помощью различных методов.

Материалы и методы. В работе исследовали агары Мюллера–Хинтон пяти фирм-производителей: BD BBL, кат. № 6103881, годен до 01.2020; HiMedia, кат. № M173, годен до 07.2019; Merck, кат. № 1.05437.0500, годен до 07.2019; BD Difco, кат. № 1073002, годен до 01.2019; ГНЦ ПМБ, РУ № ФСР 2017/5962, годен до 07.2020.

Концентрации пяти элементов (Ca, Mg, Fe, K, Na) определяли двумя методами: атомно-эмиссионным с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) на спектрометре iCAP6500 Duo Thermo Scientific (Великобритания) и методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС) на спектрофотометре AA-6200 «Shimadzu». Концентрацию Mn определяли методами масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (МС-ИСП) на квадрупольном масс-спектрометре X Series 2 Thermo Scientific (Великобритания) и АЭС-ИСП. Концентрацию Zn определяли всеми тремя методами: ААС, АЭС-ИСП и МС-ИСП.

Результаты. В ходе исследования разработана методика пробоподготовки для атомно-абсорбционной спектроскопии, которая включала кислотный гидролиз образцов азотной и хлорной кислотой и добавление раствора хлорида лантана для устранения химических помех при измерении. Результаты определения концентраций Ca, Mg, Fe, Zn, K и Na методом ААС сравнивали с данными, полученными с использованием современных методов: МС-ИСП (для микроэлементов) и АЭС-ИСП (для макроэлементов). Для Mn сравнивали результаты, полученные методами МС-ИСП и АЭС-ИСП.

Как показали результаты исследований, элементный состав образцов питательных сред практически не зависел

от метода анализа. Полное совпадение результатов получено при анализе содержания Ca, Mg, Fe и Mn.

При сравнении значений концентрации Zn, полученных методами ААС и АЭС-ИСП и методами ААС и МС-ИСП, отмечены различия в среднем на 4 и 6% соответственно для всех анализированных образцов.

Наибольшие расхождения результатов получены при определении концентраций K и Na: (11,6–19,5)% для K и (9,8–10,7)% для Na в зависимости от образцов питательных сред.

Вывод. Результаты определения элементного состава образцов питательных сред практически не зависели от метода анализа. Значения концентраций всех семи элементов в исследованных образцах питательных сред удовлетворяли требованиям нормативных документов, предъявляемым к питательным средам данного назначения.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора

Изменение свойств *Proteus mirabilis* при определении МПК хлоргексидина

Косякова К.Г.^{1,2}, Каменева О.А.², Эсауленко Н.Б.³, Дубинина А.Ю.¹, Мезина Е.Ю.¹

¹ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²СПБ ГБУЗ «Детская городская больница №22», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

³ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь им. академика Н.Н.Бурденко», Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Определить минимальные подавляющие концентрации (МПК) хлоргексидина в отношении клинических изолятов *Proteus mirabilis* и оценить культуральные свойства штаммов при разных концентрациях препарата.

Материалы и методы. Идентификацию штаммов проводили с помощью приборов Vitek-2 compact и Phoenix M50. МПК хлоргексидина определяли методом серийных разведений в агаре. Разведения препарата с шагом 2 готовили из 2%-го водного раствора хлоргексидина биглюконата (Технодент, Россия) и добавляли в агар Мюллера–Хинтон в концентрациях от 4 до 256 мкг/мл. Готовили суспензии суточных культур *P. mirabilis* плотностью 0,5 по McFarland, разводили в стерильном физиологическом растворе до 10⁷ КОЕ/мл и наносили на поверхность агара с разными концентрациями препарата по 5 мкл, включая контрольные чашки без хлоргексидина. Принимая во внимание роение штаммов *P. mirabilis* на стандартных питательных средах, бактериальные суспензии наносили по одной капле в центр контрольных чашек и чашек с хлоргексидином. После высыхания капель посева инкубировали при 35°C 48 ч и проводили учет через 24 и 48 ч, принимая за МПК минимальную концентрацию хлоргексидина, подавляющую рост протей.

Результаты. МПК протестированных штаммов *P. mirabilis* составили: для изолята № 1 (из раны пациента военного госпиталя) – 256 мкг/мл, № 2 (из мочи взрослого пациента

с внебольничной ИМВП) – 128 мкг/мл, № 3 (из зева ребенка с тонзиллитом) – 128 мкг/мл. Следует отметить, что при различных концентрациях хлоргексидина феномен роения протея проявлялся с разной интенсивностью. Общим признаком для всех штаммов являлось наличие роения при концентрации хлоргексидина 4 и 8 мкг/мл. У штаммов № 1 и № 2 роение выявлено также при концентрациях 16 и 32 мкг/мл, при этом диаметр роящихся колоний уменьшался с увеличением концентрации препарата. Так, для штамма № 2 диаметр колонии при 4 мкг/мл хлоргексидина составил 45 мм, при 8 – 30 мм, при 16 – 25 мм, при 32 – 16 мм. Различалась также способность к росту в присутствии хлоргексидина у штаммов протея, утративших способность к роению: штамм № 2 без роения вырос только при одной концентрации хлоргексидина (64 мкг/мл), штамм № 1 – при двух (64, 128 мкг/мл), штамм № 3 – при трех (16, 32, 64 мкг/мл).

Вывод. Полученные данные свидетельствуют о высокой устойчивости клинических изолятов *P. mirabilis* к хлоргексидину (МПК 128–256 мкг/мл). Интенсивность роения различается у отдельных штаммов при разных концентрациях препарата, что свидетельствует о вариативности адаптации *P. mirabilis* к хлоргексидину.

Оценка эффективности применения метода масс-спектрометрии для внутривидовой дифференциации вегетативных и споровых культур *Bacillus anthracis* с различными фенотипами и генетическими характеристиками

Котенева Е.А., Калинин А.В.,
Цыганкова О.И., Абрамович А.В.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии позволяет не только проводить быструю и достоверную идентификацию вегетативных культур возбудителя сибирской язвы, но и проследить их внутривидовую кластеризацию, результаты которой свидетельствуют об определенной корреляции с комплексом их фенотипических свойств. Представляет интерес возможность подобной взаимосвязи для споровой формы *Bacillus anthracis*.

Цель исследования. Получение масс-спектров споровой формы штаммов *B. anthracis*, различающихся по комплексу фенотипических свойств и генетическим характеристикам, и поиск закономерностей их внутривидовой кластеризации.

Материалы и методы. Использовали 61 штамм *B. anthracis* с различными фенотипическими свойствами и генетическими характеристиками, которые определяли в соответствии с методиками, регламентированными для видовой идентификации и углубленного изучения штаммов сибиреязвенного микроба. Пробы готовили лизисом отмытых спор в 80%-м ТФУ с последующей ультрамикрочентрифужной фильтрацией. Исследования проводили на приборе Microflex LRF (Bruker Daltonics, Germany) в линейном режиме положительных ионов. Для сокристаллизации образца на мишени ис-

пользовали раствор матрицы HCCA (α -гидроксикоричной кислоты). Сбор масс-спектров проводили с помощью программного обеспечения Flex Control (v.3.3) (Bruker Daltonics, Germany) в автоматическом режиме. Анализ и обработку масс-спектров проводили с использованием программного обеспечения Flex Analysis (v.3.3). Идентификацию образцов проводили в автоматическом режиме при помощи программного обеспечения MALDI Biotyper Real time Classification (v.3.1) (Bruker Daltonics, Germany). Сборку суперспектров проводили из 20 единичных масс-спектров в программе MALDI Biotyper v.3.0. по стандартному алгоритму.

Результаты. Для анализа особенностей масс-спектров споровых форм разных по свойствам штаммов *B. anthracis* нами была построена MSP-дендрограмма, отражающая степень сходства исследуемых штаммов на основе особенностей протеомного профиля их споровой формы. В отличие от результатов масс-спектрометрии вегетативных культур, нам не удалось выявить ни одного фенотипического признака или принадлежности к определенной генетической линии А или В, способных объединить все штаммы каждой из прикорневых ветвей отдельных кластеров более мелкого порядка при анализе масс-спектров спор разных штаммов *B. anthracis*. Однако следует учитывать, что все изученные свойства относятся к вегетативным культурам, в то время как особенности собственно споровой формы и их возможные генетические детерминанты пока не изучены.

Оценка антибактериальной активности трех новых классов соединений в отношении бактерий рода *Klebsiella*

Краева Л.А., Рогачева Е.В.,
Хамдулаева Г.Н., Кунилова Е.С.

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Ежегодно в мире регистрируется около 700 тыс. смертей, обусловленных антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов. Более того, если ситуация не изменится коренным образом, то смертность по этой причине может возрасти к 2050 г. до 10 млн человек в год. В связи с этим наиболее важными пунктами стратегического плана глобального контроля за антибиотикорезистентностью бактерий являются наиболее полное изучение чувствительности штаммов, представляющих глобальную угрозу, и разработка препаратов нового уровня антибактериальной направленности. Одними из самых полирезистентных микроорганизмов, входящих в группу ESKAPE, являются бактерии рода *Klebsiella*.

Цель исследования. Оценить антибиотикорезистентность бактерий рода *Klebsiella*, выделенных от амбулаторных и стационарных пациентов г. Санкт-Петербурга, и испытать антимикробное действие новых химических соединений целевого антибактериального назначения в отношении штаммов, резистентных к β -лактамам.

Материалы и методы. Изучено фенотипическими и генетическими методами 180 штаммов бактерий рода *Klebsiella*

и оценено антибактериальное действие 66 химических соединений на штаммах с β -лактамазной активностью.

Результаты. Нозокомиальные штаммы *Klebsiella* spp., выделенные в Санкт-Петербурге, в $78,8 \pm 3,0\%$ случаев обладают резистентностью к трем и более группам антибиотиков. Устойчивость к β -лактамам определяется наличием генов, кодирующих карбапенемазы; причем наиболее часто устойчивость штаммов *Klebsiella* spp. к β -лактамам определялась генами, кодирующими металло- β -лактамазу NDM и сериновую β -лактамазу OXA48. Кроме того, выявлены штаммы, у которых присутствует две и более генетические детерминанты устойчивости к β -лактамам.

Антибактериальный эффект в отношении полирезистентных штаммов *Klebsiella* продемонстрировали 6 из 40 новых производных фторхинолоновой кислоты, 7 из 25 новых производных 1,2,4-триазолов, а также сложное синтетическое соединение СН-II. После дальнейшего усовершенствования и тестирования на цитотоксичность все успешные соединения могут быть кандидатами в группу антибактериальных соединений против бактерий рода *Klebsiella*, продуцирующих β -лактамазы.

Бактериофаги, специфичные для *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серотипа *Infantis*

Красильникова В.М., Верёвкин В.В., Мякинина В.П., Денисенко Е.А., Воложанцев Н.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Salmonella enterica серотипа *Infantis* относится к наиболее распространенным патогенам, вызывающим сальмонеллез у человека. Птицы и свиньи являются основными резервуарами этого серотипа сальмонелл. В мясе бройлеров на его долю приходится 36% от всех изолятов сальмонеллы. Распространение *S. Infantis* с множественной лекарственной устойчивостью в системе производства продуктов питания (главным образом, птица и мясо птицы) и у людей требует более глубокого подхода к вопросу ее идентификации.

Цель исследования. Поиск и изучение бактериофагов, специфически лизирующих бактерии *Salmonella Infantis*.

Выделены три бактериофага *S. Infantis*: VSiP (из экстракта фекалий птицефабрики, Пензенская обл.), VSi1 (из сточных вод г. Пушино-на-Оке) и VSi3 (из фекалий крупного рогатого скота, Московская область). Выделенные бактериофаги лизируют бактерии *S. Infantis* с образованием прозрачных негативных колоний (бляшек) от 1 мм до 4 мм в диаметре. Бактериофаг Vsi1 образует негативные колонии с ореолом, свидетельствующим о продукции растворимого фермента, деполимеризирующего полисахариды. Определен спектр литической активности фагов на коллекции сальмонелл разных серотипов ($n = 91$), определены основные параметры взаимодействия фагов с бактериальной клеткой (время адсорбции, латентный период). С целью оценки уникальности бактериофагов проведен анализ фаговых геномов методом рестрикционного анализа ДНК.

Установлено, что бактериофаги VSiP и VSi1 строго специфичны для сальмонелл серотипа *Infantis*. Фаг VSiP размножается на 56,5% и ингибирует рост (без формирования титруемых бляшек) 41,1% штаммов *S. Infantis*, но не лизирует и не ингибирует рост бактерий серотипов *Typhimurium* и *Enteritidis*. Бактериофаг VSi1 размножается на культуре всех штаммов *S. Infantis* ($n = 23$) и не лизирует сальмонеллы других серотипов. Геномы бактериофагов VSiP и VSi1 секвенированы и аннотированы. Отработан метод их размножения в жидкой питательной среде на чувствительных бактериальных штаммах.

Таким образом, в результате проведенных исследований выделены и охарактеризованы бактериофаги, специфичные в отношении *Salmonella Infantis*. Бактериофаги предлагается использовать в качестве дополнительного диагностического теста для идентификации бактерий *S. enterica* серотипа *Infantis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Некоторые аспекты исследования кормов в Российской Федерации в 2016–2018 гг.

Кремлева А.А.

ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория», Москва, Российская Федерация

Микробиологический контроль качества кормов и комбикормового сырья является одним из приоритетных направлений в области обеспечения продовольственной безопасности.

Цель исследования. Провести анализ результатов мониторинга качества и безопасности импортируемого и отечественного сырья для производства комбикормов и кормов в 2016–2018 гг.

Для выполнения данной цели были использованы данные государственного федерального статистического наблюдения (Форма отчета 4-Вет, согласно Приказа № 189 МСХ РФ от 20.04.2008) за 2016–2018 гг. Лабораторные исследования кормов проводили на показатели безопасности в соответствии с требованиями постановления Комиссии ЕС от 15.11.2005 № 2073/2005 «О микробиологических критериях для продовольствия» (в редакции постановлением Комиссии ЕС от 05.12.2007 № 1441/2007).

Проведенный анализ результатов лабораторных исследований показал, что наиболее часто за период с 2016 по 2018 г. выделяли в корма следующие патогенные микроорганизмы: *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*. Из непатогенных наиболее часто выделяли микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae*: *Proteus*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*. Согласно отчетным данным по форме 4-Вет, лидирующие позиции по обнаружению патогенных микроорганизмов занимают корма растительного происхождения и комбикорма (38 и 18% соответственно).

Наибольшее количество выявленных положительных результатов среди кормов животного происхождения приходится на общее микробное число. В 2016 г. выявлено 304 положительных результата, в 2017 г. – 146, в 2018 г. – 279.

В Российской Федерации в 2018 г. сохраняется положительная тенденция к снижению контаминации кормов микро-

организмами родов *Escherichia* и *Salmonella*. Если в 2016 г. было зарегистрировано 2025 и 265 случаев обнаружения *Escherichia* и *Salmonella* соответственно, то в 2018 г. почти в два раза сократились случаи выявления *Escherichia* (1239), а количество обнаружения *Salmonella* снизилось до 213.

Однако количество случаев выявления зарегистрированных на территории РФ *Clostridium perfringens* увеличилось со 132 случаев в 2016 г. до 174 случаев в 2018 г.

Следует отметить, что на территории Амурской области и Ставропольского края в период с 2016 по 2018 г. ежегодно регистрировали единичные случаи обнаружения в кормах веротоксигенной *E. coli* (VTEC). Так, случай выявления *E. coli* O157 в комбикормах зарегистрирован в 2017 г. на территории Ставропольского края и в 2018 г. в Амурской области. Кроме того, ежегодно регистрируют случаи обнаружения в кормах штаммов *E. coli* серогрупп O26, O55, O117, O111 и O126.

Из вышепредставленного следует, что в целом по Российской Федерации наблюдается снижение контаминации кормов патогенными микроорганизмами.

Выделение поверхностных антигенов *Yersinia pseudotuberculosis* O:1b с использованием бактерицидного действия мочевины

Крюкова А.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Попова Ю.О., Климов В.Т., Игумнова С.В., Уланская А.В., Андреевская Н.М., Загоскина Т.Ю., Чеснокова М.В.

ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

В Российской Федерации псевдотуберкулез регистрируется в виде вспышечной и спорадической заболеваемости. Большинство циркулирующих штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, вызывающих заболевание у людей, относятся к серотипу O:1b (94,6%). В лабораторной диагностике псевдотуберкулеза одним из важных, а в некоторых случаях решающим моментом в распознавании этой болезни является использование серологических методов, усовершенствование которых актуально до настоящего времени.

Наиболее специфичные иммунодоминантные антигены располагаются в поверхностных структурах микробной клетки. В связи с этим целью работы являлось выделение антигенов поверхностных структур псевдотуберкулезного микроба, перспективных для конструирования диагностических тест-систем или получения специфических сывороток.

Специфически стерильные препараты поверхностных антигенов получали путем лизиса и одновременного обеззараживания живых клеток *Y. pseudotuberculosis* 4,5 М раствором мочевины, дифференциального центрифугирования, освобождения от неразрушенных клеток с получением осадка фракции наружных мембран (НМ) и супернатанта (мочевинного экстракта (МЭ)).

Белково-липополисахаридный комплекс (БЛПК) псевдотуберкулезного микроба выделяли путем обработки МЭ детергентом Тритон X-114.

Полученные препараты НМ и БЛПК псевдотуберкулезного микроба были активны в реакции иммунодиффузии в геле с коммерческой сывороткой. Используя иммуноглобулины G, изолированные из коммерческой сыворотки, меченные частицами коллоидного серебра, в тест-системе для до-иммуноанализа обнаруживались в концентрации ≤ 1 мкг/мл по сухому весу. В реакции с карбоцианиновым красителем «Stainsall» препараты НМ и БЛПК проявляли метакроматический эффект, что характерно для липополисахарида грам-отрицательных бактерий. Электрофоретический анализ показал в НМ наличие 14 мажорных полипептидов с молекулярной массой от 131,5 до 13,9 кДа. Наличие протеазной активности в препарате НМ выявлено в реакции энзимодиффузии. Субстратным электрофорезом определены активные полипептиды с молекулярной массой в области 118–72,5 кДа и 61,5; 48,4; 28,0 кДа.

Таким образом, с помощью мочевины были получены антигены поверхностных структур псевдотуберкулезного микроба. Предлагаемый способ их выделения является щадящим, благодаря чему наружные мембраны и белково-липополисахаридный комплекс сохраняют свои антигенные и иммуногенные свойства, а также биологическую активность.

Туляремия в прилегающих к России государствах

Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

На территории России ежегодно регистрируется от 50 до 150 случаев заболевания туляремией человека на фоне иммунопрофилактики населения в очагах, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 0,01–0,74. Россия граничит с Казахстаном, Монголией, Китаем, Финляндией, Белоруссией, Украиной, а также Латвией, Эстонией, Азербайджаном, Грузией и Абхазией. Наиболее высокая заболеваемость туляремией наблюдается в Финляндии: от 15 до 926, в среднем 116 случаев заболевания в год, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения колеблется от 0,28 до 17,90.

Из 14 областей Казахстана в 12 существуют 104 природных очага туляремии предгорно-ручьевого, пойменно-болотного, тугайного и степного типов с общей площадью более 552 тыс. кв. км. Общая протяженность границы России с Казахстаном составляет более 7 тыс. километров. В период с 1950 по 2010 г. в Казахстане зарегистрировано около 5 тыс. случаев заболевания людей туляремией. Начиная с 1960 г. отмечается снижение заболеваемости на 96% в результате проводимой иммунопрофилактики.

На территории Беларуси в настоящее время зарегистрировано 97 природных очагов туляремии. В 2015 г. был зафиксирован 1 случай, в 2016 г. заболели 10 человек, а в 2017 г. – 6 человек. В 2018 г. зафиксировано 9 случаев заболевания.

На территории Грузии за 1956–2012 гг. было зарегистрировано 365 случаев заболевания людей, выделено 465 изолятов *Francisella tularensis* subsp. *holarctica* из 27 видов животных и объектов окружающей среды.

На территории Украины был зафиксирован 51 природный очаг туляремии. С 1941 по 2008 г. было выделено 3086 изолятов *F. tularensis*.

Показана широкая циркуляция туляремии на всей территории Монголии среди сусликов, сурков, птиц, клещей в 14 провинциях страны из 21. Из них 8 провинций непосредственно граничат с территориями Алтая, Тывы, Бурятии и Забайкальского края России. В 2019 г. зарегистрировано 2 смертельных случая от бубонной чумы, но заболевших туляремией людей до сих пор в Монголии не регистрировалось, обнаруживали только серопозитивные сыворотки.

В настоящее время туляремия в Китае не является инфекцией, подлежащей обязательной регистрации. Поэтому данных о количестве заболевших людей, хозяев и переносчиков инфекции, немного. В 1991–1992 гг. два мальчика заразились в провинции Hebei, в мае 2012 г. мужчина заболел туляремией после укуса насекомого.

В Эстонии, Латвии, Азербайджане фиксируют циркуляцию возбудителя туляремии среди грызунов и единичные, в основном завозные, случаи заболевания людей.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Использование аэрозолей дезинфектантов для обработки помещений против бактерий – возбудителей внутрибольничных инфекций

Кузин В.В.¹, Фурсов М.В.¹, Грищенко Н.С.¹, Рудницкая Т.И.¹, Шматко Э.Б.², Потапов В.Д.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;
²ООО «АСКМ», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Оценка эффективности использования аэрозолей дезинфицирующих средств (ДС) на основе различных действующих веществ (ДВ) для обработки поверхностей и воздушного пространства помещений.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы основных возбудителей внутрибольничных инфекций: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* spp., *Pseudomonas aeruginosa*. В качестве объекта исследования были выбраны ДС на основе четвертичных аммониевых соединений (ЧАС), третичных аминов, гуанидинов, кислород-активных соединений (перекись водорода, диоксид хлора) и комплексных соединений вышеперечисленных веществ.

Оценку эффективности бактерицидного действия ДС при обеззараживании воздуха и поверхностей помещений проводили с использованием аэрозольного метода обработки с помощью установки «Мобильный гигиенический центр» (ООО «АСКМ», Санкт-Петербург, Россия). Обеззараживание бактериального аэрозоля проводили в установке А4224 099С (Glas-Col, Прейритон Тауншип, США), а поверхностей – в микробиологическом боксе. Норма расхода ДС составляла 10–20 мл/м³.

Результаты. Определены режимы аэрозольной обработки для следующих ДВ:

- диоксид хлора (0,2%, время обеззараживания – 15 мин);
- перекись водорода (3,0%, 30 мин);
- ЧАС (0,5%, 30 мин);

для комплексных соединений:

- ЧАС + третичные амины (0,3% по ЧАС + 0,05% по третичному амину, 15 мин);
- ЧАС + гуанидины (0,3% по ЧАС + 0,1% по гуанидину, 15 мин);
- ЧАС + третичные амины + гуанидины (0,15% по ЧАС + 0,05% по третичному амину + 0,05% по гуанидину, 15 мин).

Выводы. Показана высокая дезинфицирующая способность аэрозолей средств на основе ЧАС, третичных аминов, гуанидинов, кислород-активных соединений (перекись водорода, диоксид хлора) и комплексных соединений при инактивации возбудителей внутрибольничных инфекций, при обработке как поверхностей, так и воздушной среды помещений. Анализ бактерицидной эффективности аэрозольного метода обработки, в сравнении с протиранием и орошением, позволил определить, что расход ДС в лабораторных условиях при использовании выбранного метода уменьшается в 4–5 раз в сравнении с классическими методами, вследствие чего аэрозольный метод обработки можно отнести к более экономичным и эффективным способам дезинфекции. Полная автоматизация процесса обработки исключает присутствие человека в процессе дезинфекции, что позволяет обеспечить высокую безопасность проведения дезинфекционных мероприятий.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Детекция бессимптомного носительства грамотрицательных бактерий у сотрудников микробиологической лаборатории

Кузина Е.С.¹, Новикова Т.С.¹, Детушев К.В.¹, Николаева Е.Н.², Ипполитов Е.В.², Царёв В.Н.², Фурсова Н.К.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;
²ФГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Цель исследования. Выделение и идентификация клинических изолятов грамотрицательных бактерий (ГОб) из биологического материала сотрудников микробиологической лаборатории; оценка бессимптомного носительства ГОб у разных гендерных и возрастных категорий сотрудников.

Материалы и методы. Бактериологическое обследование сотрудников микробиологической лаборатории проводили на основании одобрения Межвузовского комитета по этике ФГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И.Евдокимова» Минздрава России. Клинический материал (мазок из зева, фекалии и соскоб с десны) получен от 30 сотрудников.

Клинические образцы высевали на плотные питательные среды ГРМ, Питательная среда № 1 и ТТХ с тергитолом (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболонск, Россия) без антибиотиков и с ампициллином (ОАО «Синтез», Курган, Россия) в концентрации 50 мг/л. Видовую идентификацию бактерий проводили на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Бремен, Германия).

Результаты. Возраст участников мужского пола ($n = 8$) составил 28–79 лет (медиана 41,6 года), женского пола ($n = 22$) – 24–68 лет (медиана 25,4 года), в среднем по исследованию – 31,2 года. Из зева и фекалий выделено 231 изолят ГОБ 24 видов. В группах мужчин возраста до 50 лет и после 50 лет из фекалий выделены и идентифицированы 53 изолята (41/12 соответственно), в том числе *Escherichia coli* ($n = 32/10$), *Klebsiella pneumoniae* ($n = 6/2$), *Citrobacter braakii* ($n = 1/0$), *Comamonas kerstersii* ($n = 1/0$) и *Pseudomonas aeruginosa* ($n = 1/0$). В группах женщин тех же возрастных категорий из фекалий получено и определено 152 изолята ($n = 115/37$): *E. coli* ($n = 90/25$), *K. pneumoniae* ($n = 8/2$), *Klebsiella oxytoca* ($n = 5/1$), *Enterobacter cloacae* ($n = 3/1$), *Citrobacter sedlakii* ($n = 0/5$), *C. braakii* ($n = 2/0$), *Enterobacter kobei* ($n = 1/0$), *Kluyvera cryocrescens* ($n = 1/0$), *Proteus mirabilis* ($n = 1/0$), *Raoultella ornithinolytica* ($n = 1/0$) и *Providencia rettgeri* ($n = 1/0$). Из зева у мужчин выделены культуры ГОБ: *K. pneumoniae* ($n = 2/1$), *P. aeruginosa* ($n = 1/0$), *Neisseria flavescens* ($n = 1/0$), *Neisseria mucosa* ($n = 1/0$) и *Neisseria subflava* ($n = 1/0$). У женщин из зева изолированы: *K. pneumoniae* ($n = 1/1$), *K. oxytoca* ($n = 0/4$), *E. cloacae* ($n = 0/3$), *N. subflava* ($n = 1/2$), *N. flavescens* ($n = 1/0$), *N. mucosa* ($n = 1/0$), *Acinetobacter junii* ($n = 0/1$), *Leclercia adecarboxylata* ($n = 0/1$), *Pseudomonas congelans* ($n = 0/1$), *Pseudomonas monteilli* ($n = 0/1$), *Stenotrophomonas maltophilia* ($n = 0/1$).

Из соскоба с десны выделены 29 изолятов ГОБ от 25 участников: *Prevotella* spp. ($n = 7$), *Porphyromonas* spp. ($n = 5$), *Fusobacterium* spp. ($n = 4$), *Klebsiella* spp. ($n = 4$), *Neisseriae* spp. / *Moraxella* spp. ($n = 4$), *Enterobacter* spp. ($n = 2$), *Haemophilus* spp. ($n = 2$), *E. coli* ($n = 1$).

Выводы. В ходе исследования от сотрудников микробиологической лаборатории выделены культуры ГОБ 29 видов: 205 изолятов из фекалий, 26 – из зева и 29 из соскоба с десны. Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее представленными видами в двух сайтах обследования явились *E. coli*, *Klebsiella* spp. и *E. cloacae*, которые относятся к числу видов ГОБ, способных вызывать инфекции у человека.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Оптимизация диагностики выделения клинических штаммов *Helicobacter pylori* в лабораторных условиях

Кутлиева Г.Дж., Элова Н.А., Джуманиязов Дж.А.

Институт микробиологии АН РУз, Республиканский специализированный научный центр хирургии им. Вахидова, Ташкент, Республика Узбекистан

Клиническая значимость *Helicobacter pylori* и высокая частота вызываемых им заболеваний обуславливает необходимость обеспечения возможности адекватного обнару-

жения этого патогена у больных с гастродуоденальными заболеваниями (гастрит, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки) (ГДЗ). Имеющиеся методы работы с *H. pylori*, особенно методы их культивирования, сложны и трудоемки и предусматривают использование дефицитных и дорогостоящих реактивов, поэтому практически недоступны большинству микробиологических лабораторий. Основным диагностическим критерием является выделение чистой культуры. Задачей наших исследований является попытка усовершенствования и адаптации методов культивирования *H. pylori* к условиям практических лабораторий.

Цель исследования. Освоение методов лабораторной диагностики хеликобактериоза и выделение чистых культур *H. pylori* в лабораторных условиях с целью проведения скрининга местных штаммов лактобацилл на антихеликобактерную активность.

Материалы и методы. Нами освоены методы определения, выделения и первичного скрининга на *H. pylori*: окрашивание по Граму и микроскопирование, первичный посев, уреазный, каталазный тест. В исследовательской работе использованы различные питательные среды для культивирования и выделения *H. pylori*: сердечно-мозговой агар (Brain Heart Infusion Agar M211), сердечно-мозговой агар с добавлением 5% человеческой крови, а также с добавлением в среду стимулирующих ростовых факторов (витаминная добавка, бычья, лошадиная сыворотка). Клинические изоляты *H. pylori* выделяли из желудочного сока больных язвенной болезнью желудка в сотрудничестве с Республиканским специализированным центром хирургии им. академика В.Вахидова. Материал получали от больных с диагнозами: хронический гастрит, гастродуоденит, язвенная болезнь желудка или двенадцатиперстной кишки, эрозивный гастрит, пульпит. Для подавления роста сопутствующей флоры к средам добавляют селективные агенты (ванкомицин или ристомицин, налидиксовая кислота, полимиксин В, амфотерицин В, триметоприм, цефсулодин и др.), как по отдельности, так и в различных сочетаниях, удобна при этом специальная селективная добавка для хеликобактеров (Campylobacter Selective Supplement, HiMedia, FD090). Инкубацию посевов проводили при температуре 37°C и влажности 98% в микроаэрофильных условиях в течение 3–7 сут. *H. pylori* растет в атмосфере с 5% кислорода, 5–10% углекислого газа, остальное количество составляет азот. При необходимости можно использовать бульон с сердечно-мозговой вытяжкой (Brain Heart Infusion Broth, Modified, HiMedia, M 1558). Предлагаемая среда испытана также для первичного выделения *H. pylori* из биоптатов слизистой оболочки желудка и желудочного сока больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки. На среде с сердечно-мозговым агаром с добавлением 5% крови колонии *H. pylori* вырастали раньше, но с различным обсеменением. В наших исследованиях уровень контаминации биоптатов был более 60%. В большинстве случаев это были единичные колонии, чаще всего стафилококков, синегнойной палочки, энтерококков, кишечной палочки и грибов, но иногда наблюдали сплошной рост контаминантов, затрудняющий оценку роста *H. pylori*. Учитывая факт снижения процента находок при использовании селективной среды, мы посчитали возможным не вводить в среду кровь, заменив ее добавками, ингибирующими

рост контаминантов (селективная добавка для хеликобактеров и флюконазол).

Выводы. Результаты работы позволяют заключить, что селективная среда на основе сердечно-мозгового агара (Brain Heart Infusion Agar, HiMedia, M211) с добавлением специальной селективной добавки с антибиотиками и витаминной ростовой добавки, флюконазола, 2,3,5-трифенилтетразолиум хлорида пригодна для выделения *H. pylori* из биоптатов слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, желудочного сока, а также для культивирования выделенных штаммов. Таким образом, от 60 обследованных больных с ГДЗ выделены 4 клинических штамма *H. pylori*. Колонии всех штаммов гемолитические, плоские, влажные, блестящие, прозрачные, сходные с каплями конденсата водяных паров. Таким образом, эффективная и доступная микробиологическая система диагностики гастродуоденального хеликобактериоза, адаптированная к условиям практических лабораторий, дает возможность изучения роли *H. pylori* в развитии ГДЗ и изучения микроэкологии возбудителя.

Применение насыщенного раствора окиси азота и перекиси водорода для антисептической обработки гнойной раны под контролем лазерно-флюоресцентной спектроскопии

Лабазанов А.А.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Острыми формами одонтогенных воспалительных заболеваний (флегмона, абсцесс, остеомиелит, перикоронит) страдают от 40 до 60% пациентов, обращающихся за стоматологической помощью. Наиболее распространенными заболеваниями этой группы больных являются одонтогенные флегмоны, диагностированные у 20–40% больных, госпитализированных в клиники челюстно-лицевой хирургии. По данным ретроспективных исследований проблемы гнойной одонтогенной инфекции в Российской Федерации, в последние годы не только не уменьшается ее частота, но и сама она подвергается патоморфозу, одной из причин которого является растущая устойчивость микробов к антибиотикам. В связи с этим проблема инфекции у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями челюстно-лицевой области и шеи является актуальной, что определяет необходимость поиска новых ускоренных, эффективных, патогенетически обоснованных и клинически адекватных средств диагностики и лечения больных с флегмонами челюстно-лицевой области головы и шеи.

Цель исследования. Оценка антибактериальной эффективности комбинированного антисептического воздействия на микробный консорциум гнойной раны при хирургическом лечении флегмоны челюстно-лицевой области головы и шеи.

Материалы и методы. Проведено лечение и проанализированы клинико-лабораторные результаты комплексного хирургического лечения 187 больных с диагнозом «флегмона челюстно-лицевой области», которым в послеоперацион-

ном периоде с целью воздействия на гнойную рану был использован насыщенный раствор NO в 3%-й перекиси водорода.

После вскрытия гнойного очага рану промывали указанным антисептиком ежедневно 1 раз в день до прекращения гнойного отделяемого. Продолжительность использования антисептика была индивидуальной для каждого пациента, зависела от сроков очищения раны, но не превышала 5–7 дней. Из общего числа больных подгруппы мужчин было 108 (57,5%), женщин 79 (42,5%). В клинику поступило в состоянии средней тяжести 117 больных (62,5%), в тяжелом – 70 (37,5%). Средний возраст составлял от 20 до 50 лет (72,5%), т.е. наиболее работоспособный контингент населения. Микробиологическое исследование выполняли традиционным методом с использованием аэробного и анаэробного культивирования и дополняли лазерно-флюоресцентной спектроскопией с использованием аппарата «Спектролюкс-МБ» (ООО «Спектролюкс»). Это комплекс аппаратуры из трех основных блоков: лазерного источника для облучения биотканей и возбуждения флюоресценции; волоконно-оптического катетера для подведения лазерного излучения к ткани, а также для сбора отраженного и флуоресцентного сигнала; системы регистрации и обработки спектральной информации. В качестве источника излучения использовали гелий-неоновый лазер с длиной волны 632,8 нм, мощностью 25 мВт. Статистическую обработку данных проводили по критерию Манна–Уитни.

Результаты. При проведении лазерно-флюоресцентной спектроскопии *in vitro* с представителями выделенных видов бактерий и дрожжевых грибов (*Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sanguis*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Candida albicans*, *C. glabrata*) установлено полное торможение роста микробных популяций, которое не возобновлялось в течение 4–6 часов наблюдения, что свидетельствует о выраженном антимикробном действии комбинированного антисептика (NO + 3% H₂O₂). Это явилось основанием для применения данного препарата в клинической практике и мониторинга состава микробного консорциума гнойной раны в процессе лечения. Как показали результаты бактериологических исследований, проведенных у больных основной группы, уже к концу срока применения (5-е сутки) препарата (NO + 3% H₂O₂) у основной массы пациентов происходили значительные позитивные изменения микробного пейзажа, практически у 60% больных не выявлялось роста микробов при посевах раневого отделяемого.

В частности, по сравнению с исходными данными, количество коагулазонегативных стафилококков уменьшилось в 5 раз (с 51,2 до 10,9%), прочей кокковой флоры – в 2–4 раза, что свидетельствует о том, что снижение микробной загрязненности в основной группе больных было более существенно ($p_{m-u} < 0,05$), чем в аналогичные сроки в группе сравнения. Частота выделения представителей класса бактериоидов (*Prevotella oralis*, *P. buccae*, *P. melaninogenicus*, *Porphyromonas* spp. и др.) снизилась почти в 4 раза, а фузобактерии и анаэробные кокки не определялись вовсе. Частота выделения микроаэрофильных стрептококков сократилась в 4,8 раза (с 48,9 до 10,9%). При анализе динами-

ки раневого процесса оказалось, что в первые сутки после операции анаэробы обнаружены в ране у 43,6% больных с течением заболевания средней тяжести и у 47,9% тяжелой степени; на 3-и – соответственно у 17,1 и 19,3%; на 5-е – у 34 и 64% и на 7-е – у 4,7% пациентов только с тяжелым течением заболевания, то есть наблюдалась эффективная эрадикация основных возбудителей гнойного воспаления. Грибы при вскрытии флегмоны обнаружены в 1,3% случаев, а после лечения – не выделялись.

Заключение. По данным лазерно-флюоресцентной спектроскопии подтверждены результаты бактериологического исследования и установлены значительные различия состава микробного консорциума до и после антисептической обработки гнойной раны разработанным комбинированным антисептиком (NO + 3% H₂O₂). Мониторинг течения по данным параметрам можно использовать в качестве прогностического признака как очищения гнойной раны от микробов, так и прекращения антисептической обработки раны челюстно-лицевой области.

Влияние эндогенных бактериофагов на течение гнойно-воспалительных осложнений у реанимационных больных

Лазарева Е.Б.¹, Черненькая Т.В.¹, Евдокимова Н.В.¹,
Жиленков Е.Л.², Шабанов А.К.¹, Годков М.А.¹,
Петриков С.С.¹

¹ГБУЗМ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского», Москва, Российская Федерация;

²ООО НПЦ «МикроМир», Москва, Российская Федерация

При использовании в комплексе лечебных мероприятий бактериофагов реже встречаются инфекционные осложнения и летальные исходы. Однако до сих пор отсутствуют сведения о биологической роли собственных эндогенных бактериофагов.

Цель исследования. Изучение течения гнойно-воспалительных осложнений у больных при наличии эндогенных бактериофагов.

Материал и методы. От 12 больных реанимационного профиля получено 17 проб крови. 5 человек обследовано двукратно, 7 – однократно. Бактериологическое исследование крови проводили с помощью автоматического анализатора гемокультур Вастес-9050. Идентификацию выделенных микроорганизмов выполняли с использованием автоматического микробиологического анализатора WalkAway 40. Выделено 16 положительных гемокультур, 1 проба была стерильная.

Определение наличия эндогенных бактериофагов в крови и моче больных с положительными гемокультурами проводили в лаборатории ООО НПЦ «МикроМир». Работу с бактериофагами выполняли традиционным вирусологическим методом. В 13 случаях обнаружены эндогенные гомологичные бактериофаги.

Медиана возраста пациентов составила 45 (33; 61) лет. Больные получали комплексную антибактериальную и инфузионно-трансфузионную терапию.

Статистический анализ проводили с помощью программы Statistica 10. Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и квартилями в формате *Me* (LQ; UQ).

Результаты. Из 16 положительных гемокультур *Klebsiella pneumoniae* выделена в 7 случаях, *Acinetobacter* spp. – в 4, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus aureus* – по 1 и *Staphylococcus* spp. – 2 штамма.

Вирулентные фаги присутствовали только в трех случаях: в двух – к *K. pneumoniae* и одном – к *Acinetobacter* spp., остальные 10 фагов были умеренные.

Из 12 больных умерло 6, у 3 из них произошла смена возбудителей, к которым фагов не было. Еще у двух больных бактериофаги (в одном случае умеренный, в другом вирулентный) присутствовали только в моче. У одной больной выделены умеренные эндогенные гомологичные фаги из крови и мочи, но лизис микробов отсутствовал.

Двое из трех больных, имевших вирулентные фаги, выздоровели. В 8 случаях в период наличия умеренных бактериофагов летальных исходов не было. Возможно, в этих случаях бактериофаги сами осуществляли лизис бактерий или переходили в вирулентную форму, которую не удалось выявить.

Таким образом, можно предположить, что умеренные эндогенные бактериофаги также способны защищать организм от гнойно-воспалительных инфекций.

Лектиновые системы и биологические активности терапевтических белков на примере эритропоэтинов человека

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Миронов А.Ю.,
Афанасьев С.С., Алёшкин В.А.

ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Обобщены собственные данные по идентификации твердофазных (на блотах) лектиновых систем (ЛС, распознающих и обратимо связывающих паттерны гликоконъюгатов (ГК)) эритропоэтинов (ЭПО: эритростима, эпокрин, рекормона и др.) человека с использованием изоэлектрофокусирования в пластине геля, электроблотинга, биотин-стрептавидиновой системы, иммунного сэндвича, полимерных мультивалентных водорастворимых конформационно адаптируемых синтетических гликоконъюгатов (www.lectinity.com), флюоресценции красителя на белок и пероксидазной хемилюминесценции в режиме реального времени в системе BioChem System (UVP). Способность ЭПО к распознаванию и связыванию мишеней сопоставлена с потенциалом биологических активностей этого цитокинового гормона. Результаты указывают на то, что: 1. Сеть (ЛС ЭПО)–ГК функционирует как распознающие системы «Лектин–Ранжированный по сродству и доступности ряд ГК» и «ГК–Ранжированный ряд компонентов ЛС ЭПО». Выраженность (ЛС ЭПО)–ГК меняется в зависимости от мозаики белка и типа ГК. ЛС ЭПО характеризуются повышенным сродством к LacNAc-, L-Fuc- и Man-ГК (могут рассматриваться как на-

строечные регуляторы активностей ЭПО). 2. В сравнении с эпокриновой (эукариотической гликозилированной), эри-тростимная система (бактериальная негликозилированная) ЭПО характеризуется усилением ГК-визуализации. 3. При сборке/агрегации комплексы ЭПО формируют мегапаттерновые участки распознавания ГК (межсубъединичные, межмолекулярные, криптовые), усиливается выраженность Sia-или SO₃-ГК-связывания. 4. Регистрируется синергизм между антитела- и ГК-взаимодействием, а также между типами ГК. 5. В сравнении с исходными системами ЭПО, ЛС ЭПО–ГК визуализуются как ассимметричные с проявлением новых сигнальных форм (эндогенных и рекомбинантных). 6. Регистрируются каскады ЛС ЭПО (ЭПО–ГК и ЭПО–Иммунный сэндвич–ГК). Предположили, что каскады ЛС ЭПО имитируют системы клеточных рецепторов, обеспечивают уровни готовности к коммуникациям и последующим событиям – избирательности и эффективности действия ЭПО. Полученные результаты, в сопоставлении с данными о разнообразии активностей ЭПО, указывают на важность участия ГК в инициации и модуляции мозаик рецепторов, регулирующих действие ЭПО. Сформулирована концепция о распознающих гликопаттерны каскадных системах ЭПО как перспективных базисных, вспомогательных, для тонкой настройки (тюнинга) лиганд-рецепторных межклеточных коммуникаций в реализации активностей белковых гормонов. Концепция универсальна и может быть применена к любому терапевтическому белку.

Влияние золя диоксида марганца на кинетику роста некоторых возбудителей инфекционных заболеваний

Леонова Л.В.¹, Черепанов Д.В.², Шиманова В.С.², Леонов В.В.^{1,2}

¹БУ «Ханты-Мансийская государственная медицинская академия», Ханты-Мансийск, Российская Федерация;
²ФГБОУ ВО «Югорский государственный университет», Ханты-Мансийск, Российская Федерация

Присутствие железа и марганца в системе водоснабжения способствует развитию биообрастаний, формируемых железом- и марганцеокисляющими бактериями. Адгезируя на внутренней поверхности труб, они аккумулируют растворенное железо и марганец с образованием коллоидного осадка малорастворимых соединений. Образующиеся в процессе окисления гидроксида железа и марганца способствуют формированию прочной защитной оболочки, придающей биообрастанию устойчивость к проникновению дезинфицирующих средств. Данная особенность и наличие органических веществ в составе биообрастаний предположительно могут способствовать выживанию патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в системе водоснабжения. В качестве объекта исследования нами были выбраны *Salmonella enteritidis*, *S. typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*.

Цель исследования. Изучить влияние гидроксида марганца на выживание *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*.

Материалы и методы. Культуры выращивались в пластиковых пробирках на LB-среде (триптон – 10,0 г/л, дрожжевой экстракт – 5,0 г/л, NaCl – 5,0 г/л, pH 7,0) с добавлением золя гидроксида марганца в концентрациях: 2×10^{-2} ; 2×10^{-3} ; 2×10^{-4} ; 2×10^{-5} ; 2×10^{-6} М. В качестве контроля использовали культуры, выращенные на LB-среде без добавления золя. Посевы культивировали при 37°C. Рост микроорганизмов оценивали методом серийных разведений. Рассчитывали удельные скорости роста (μ , ч⁻¹) микроорганизмов как тангенс угла наклона касательной к начальному участку кривой роста.

Результаты. Для микроорганизмов *S. enteritidis* и *S. typhimurium* было обнаружено стимулирование ростовой активности при концентрации гидроксида марганца 2×10^{-3} М в 1,1 и 1,2 раза по сравнению с контролем соответственно. Максимальная концентрация золя гидроксида марганца 2×10^{-6} М приводила к ингибированию ростовой активности бактерий рода *Salmonella* в 1,1 раза по сравнению с контролем. Для *K. pneumoniae* и *S. aureus* было выявлено, что все использованные для эксперимента концентрации золя приводили к ингибированию ростовой активности.

Вывод. Изучена кинетика роста *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*. Для *K. pneumoniae*, *S. aureus* показано ингибирование, а для бактерий рода *Salmonella* – стимулирование ростовой активности в присутствии высоких концентраций гидроксида марганца. Полученные результаты позволяют предположить, что все исследуемые бактерии способны не только выживать, но и размножаться в средах с высокими концентрациями марганца в воде.

Сравнительный анализ разрабатываемых наборов реагентов для количественной оценки антибиотикочувствительности бактерий с зарубежными аналогами

Лихачев И.В., Самойлова А.А., Кафтырева Л.А.

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Сравнить разрабатываемые в отделе новых технологий ФБУН НИИЭМ им. Пастера наборы реагентов для количественного определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) антимикробных препаратов (АМП) с зарубежными аналогами.

Материалы и методы. Исследование проводили с использованием эталонных штаммов микроорганизмов из американской коллекции типовых культур (ATCC) – *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, а также клинических изолятов (*Shigella* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp.) из коллекции культур лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИЭМ им. Пастера. В работе использовали АМП, для которых наиболее актуальна количественная оценка чувствительности микроорганизмов с точки зрения клинической практики: азтреонам, амикацин, ванкомицин, гентамицин,

имипенем, левофлоксацин, меропенем, цефепим, цефокситин, цефотаксим, цефтриаксон, ципрофлоксацин.

Антибиотики были иммобилизованы на полоски (разрабатываемый набор для определения МПК на плотных питательных средах) и сорбированы методом последовательных двукратных разведений в лунки полистироловых планшетов (разрабатываемый набор для определения МПК в жидких питательных средах). Посев исследуемых штаммов проводили параллельно в разрабатываемые наборы и коммерческие образцы, использовавшиеся в качестве контроля.

Результаты. Проведенное исследование показало, что значения МПК, определенные для эталонных штаммов с помощью разрабатываемых наборов и коммерческих тест-систем, находились в допустимом интервале согласно стандарту EUCAST-2019 (Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST-2019). Значения МПК, определенные для клинических изолятов, совпали в пределах одного шага двукратного разведения.

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о возможности создания отечественных наборов для количественного определения антибиотикочувствительности бактерий.

Выделение изолятов вируса лихорадки Западного Нила из комаров рода *Culex*, отловленных в Волгоградской области в 2018 г.

Лучинин Д.Н., Негоденко А.О., Прилепская Д.Р., Молчанова Е.В., Бородай Н.В., Бондарева О.С., Батулин А.А.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Цель исследования. Формирование коллекции штаммов вируса Западного Нила, циркулирующих на территории Волгоградской области.

Материалы и методы. Комары были отловлены на территории Волгоградской области в августе-сентябре 2018 г. У насекомых определяли видовую принадлежность, после чего их объединяли в пулы по 30 экземпляров. Затем гоменизировали в ледяном стерильном 0,15 М растворе хлорида натрия и осветляли центрифугированием при 3000 г в течение 5 мин. Изоляцию вируса проводили путем заражения монослоя культуры клеток Vero супернатантом из подготовленных проб. В качестве поддерживающей среды использовалась DMEM (Gibco, Бельгия) с добавлением 2% эмбриональной бычьей сыворотки (Integro, Нидерланды), 1% L-глутамин (Gibco, Бельгия) и 1% антибиотика/антимикотика (Sigma Aldrich, США). При обнаружении цитопатического действия (ЦПД) производились дальнейшие «слепые» перепассажи. После третьего пассажа при обнаружении ЦПД более чем у 80% клеток суспензию культуральной среды разносили по пластиковым пробиркам в объеме по 1,0 мл и хранили при температуре –80°C. Скрининг полевого материала, а также окончательное подтверждение наличия генома вируса Западного Нила в культуральной питательной

среде проводили методом ПЦР (АмплиСенс(R) WNV-FL, Россия).

Результаты. Вирусологическим методом с использованием клеточной линии Vero из комаров *Culex pipiens* L. и *C. modestus* Fic., отловленных на территории Волгоградской области в эпидемический сезон 2018 г., были выделены изоляты вируса Западного Нила: WNV Volgograd590/18, Volgograd596/18, Volgograd601/18, Volgograd696/18, Volgograd723/18, Volgograd774/18, Volgograd829/18, Volgograd830/18, Volgograd900/18, Volgograd999/18. Все выделенные штаммы были отнесены ко II генотипу.

Выводы. Выделенные изоляты вируса Западного Нила позволяют создать панель штаммов, циркулировавших на территории Волгоградской области в 2018 г. В дальнейшем предполагается проведение их полной характеристики и депонирование в государственной коллекции вирусов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор».

Современная лабораторная диагностика острых кишечных инфекций бактериальной этиологии

Макарова М.А.^{1,2}

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Острые кишечные инфекции (ОКИ) имеют глобальное распространение, являются актуальной проблемой здравоохранения во многих странах, включают группу острых инфекционных заболеваний, характеризующихся клиническими симптомами поражения ЖКТ, вызываемых различными возбудителями (бактериями, вирусами, простейшими и др.), многие из которых способны к широкому эпидемическому распространению. Ежедневно на планете регистрируются более 10 млн случаев ОКИ. Эффективность лечения, эпидемиологического надзора за ОКИ и проведения целенаправленных профилактических и противозидемических мероприятий в значительной степени определяется качеством и достоверностью проведенного лабораторного исследования проб биоматериала пациентов, пищевых продуктов, воды, объектов внешней среды и др., которое включает бактериологические, вирусологические, серологические, молекулярно-генетические, паразитологические и др. доступные для лаборатории методы. Несмотря на значительные достижения в лабораторной медицине, в этиологической структуре ОКИ сохраняется высокая доля диарей неустановленной этиологии, которая в ряде субъектов РФ составляет более 50%, что может приводить к ошибкам в лечении и сложностям в проведении противозидемических мероприятий. Указанный факт является отражением не столько низкой результативности бактериологической диагностики, сколько расширения наших знаний о патогенных возбудителях ОКИ, трудно диагностируемых рутинными методами.

С внедрением в практику молекулярно-генетических методов на основе ПЦР значительно чаще стали идентифицировать возбудителей вирусных ОКИ (вследствие отсутствия альтернативных доступных методов их лабораторной верификации), доля которых в этиологии ОКИ стремительно возросла. В случаях диагностики ОКИ бактериальной природы, кампилобактериозов и иерсиниозов из-за сложностей и длительности выделения этих возбудителей (микроаэрофильные условия культивирования, специальные добавки к питательным средам, длительное холодное обогащение и др.) диагностические системы на основе ПЦР имеют преимущество по сравнению с бактериологическим методом. В отношении патогенных энтеробактерий, особенно диареогенных *Escherichia coli*, без характеристики «патогруппы» (определение генов вирулентности) достоверно сделать заключение о том, что выделенный из проб испражнений штамм *E. coli* является истинным возбудителем ОКИ, в большинстве случаев невозможно. В настоящее время совершается много ошибок при идентификации штаммов *E. coli* серологических групп O1, O6, O144 и др.

Молекулярно-генетические методы расширяют диагностические и аналитические возможности бактериологических исследований при этиологической расшифровке ОКИ. Широкое применение их на практике, наряду с традиционными рутинными методами исследования, позволяет получить достоверные результаты и более полную биологическую характеристику возбудителей.

Молекулярно-генетические и микробиологические методы в объективизации контаминации больничной среды лечебного учреждения бактериями и вирусами

Малышев В.В., Разумова Д.В., Гумилевский Б.Ю.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), являются важнейшей составляющей этой проблемы в силу широкого распространения, негативных последствий для здоровья пациентов, персонала и экономики государства. Общим критерием для отнесения случаев инфекций к ИСМП является непосредственная связь их возникновения с оказанием медицинской помощи (лечением, диагностическими исследованиями, иммунизацией и т.д.). К ИСМП относят случаи инфекции, не только присоединяющиеся к основному заболеванию у госпитализированных пациентов, но и связанные с оказанием любых видов медицинской помощи (в амбулаторно-поликлинических, образовательных, санаторно-оздоровительных учреждениях, учреждениях социальной защиты населения, при оказании скорой медицинской помощи, помощи на дому и др.), а также случаи инфицирования медицинских работников в результате их профессиональной деятельности.

Крайне важной в современных условиях является лабораторная объективизация контаминации микробами объектов больничной среды. Лабораторная диагностика и мониторинг возбудителей ИСМП – важнейшие компоненты системы эпидемиологического надзора за нозокомиальными инфекциями. Микробиологический мониторинг возбудителей ИСМП предусматривает: обязательное микробиологическое обеспечение системы эпидемиологического надзора за ИСМП; этиологическую расшифровку ИСМП у пациентов и медицинского персонала, внутривидовую идентификацию (типирование) возбудителей ИСМП; исследование объектов больничной среды; определение чувствительности выделенных штаммов микроорганизмов к антимикробным средствам; создание и ведение баз данных о возбудителях ИСМП; эффективный контроль качества микробиологических исследований в организациях здравоохранения; статистический анализ результатов исследований. Однако практика свидетельствует о необходимости подключения молекулярно-генетических, метагеномных и других молекулярно-биологических методов в решении этой комплексной проблемы. Метагеномика изучает совокупность всех генов, содержащихся в биопробе или образце из окружающей среды. Основным отличием при использовании метагеномного подхода является учет некультивируемых микроорганизмов наряду с культивируемыми. В работе использовалось секвенирование гена *16S* рРНК (рибосомальная РНК). Ген *16S* рРНК выбран как универсальный маркер для видовой идентификации, поскольку он имеется в геномах всех прокариот и обладает относительно малой изменчивостью. Метод секвенирования гена *16S* рРНК является «золотым стандартом» при проведении таких исследований.

Установлено, что из 130 проб в микробном пейзаже пациентов отделения гнойной хирургии превалировала грамположительная флора (54,7%), доля грамотрицательной составляла 45,3%. В этиологической структуре госпитальных инфекций преобладали представители семейств *Micrococcaceae* (41,3%), *Enterobacteriaceae* (35,8%) и *Pseudomonadaceae* (9,5%). В микробном пейзаже клинического материала пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) № 1 на 17,6% увеличился удельный вес грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* и на 13,7% – семейства *Pseudomonadaceae*, одновременно на 22,1% снизилась доля грамположительных бактерий семейства *Micrococcaceae*. В урологическом отделении и общее число выделенных штаммов микроорганизмов практически не изменилось (463 в 2013 г. против 493 в 2014 г.). В динамике за два последних года в структуре госпитальных инфекций преобладали грамотрицательные микроорганизмы (94,8–93,5%), среди которых ведущее место занимали представители семейства *Enterobacteriaceae* (83,8–84,6%). Выделенные штаммы микроорганизмов характеризуются полирезистентностью к большинству используемых в стационаре антимикробных препаратов.

Таким образом, сочетание классических методов и методов молекулярной биологии при контроле за ИСМП в лечебных учреждениях могут способствовать снижению заболеваемости пациентов нозокомиальной инфекцией.

Совершенствование системы специфической лабораторной диагностики острых кишечных инфекций в организованных коллективах взрослых в Кыргызской Республике

Малышев В.В., Шаяхметов Л.К., Аминев Р.М.

ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Проблема острых кишечных инфекций (ОКИ) в организованных коллективах взрослых крайне актуальна в Кыргызской Республике. Современная эпидемиологическая ситуация по ОКИ в республике свидетельствует о том, что, несмотря на относительную автономность эпидемического процесса в войсках, он имеет единый с гражданским населением генез возникновения. Традиционные схемы специфической лабораторной диагностики требуют выполнения последних в базовых лабораториях медицинских учреждений военного ведомства с учетом единых требований Санитарного законодательства Кыргызской Республики, с использованием современных методов диагностики, включая бактериологический метод, метод иммуноферментного анализа и метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени, с использованием современных мультиплексных диагностических тест-систем. Особенности географического положения административных образований республики, климатические условия, отсутствие эффективной логистики доставки проб и прочее влечет за собой избирательный характер применения имеющихся сил и средств медицинской службы при проведении микробиологической диагностики ОКИ в полевых условиях. С учетом опыта медицинской службы ВС РФ есть все основания воспользоваться устройствами, укладками, современными средствами отбора и доставки проб. Очевидно, надо более активно и широко внедрять в систему специфической диагностики методы экспресс-диагностики – реакцию агглютинации латекса (РАЛ) и иммунохроматографический анализ (ИХА). Нами получены убедительные данные о специфичности и диагностической ценности этих тестов при работе в 5 эпидемических очагах ОКИ, включая и очаги с ротавирусной и аденовирусной инфекциями, с общим охватом 250 человек. Объектами исследования могут быть фекалии, сыворотка крови, моча, изоляты бактерий, бульонная культура клеток и др.

С использованием специфических лабораторных исследований, включая и ИХА, установлено доминирование в этиологической структуре ОКИ неустановленной этиологии кишечных вирусов, наиболее значимые из которых: ротавирусы, аденовирусы, калицивирусы, включая норовирусы и родственные им вирусы, астровирусы. Этиологическая структура ОКИ среди больных определялась вирусологическими и специфическими серологическими методами. Ротавирусная инфекция эмулирует такие состояния, как аппендицит. Так, из трех подозреваемых на аппендицит военнослужащих двоих прооперировали. При лабораторном исследовании у этих лиц был обнаружен ротавирусный антиген в фекалиях.

Таким образом, в современных условиях, особенно в полевых условиях, система специфической лабораторной диагностики ОКИ нуждается в применении методов экспрессной диагностики – реакции агглютинации латекса и иммунохроматографического анализа.

Адаптивные свойства и антибиотикоустойчивость стафилококков, изолированных из наземных соляных сооружений

Маммаева М.Г.¹, Коноплева М.А.², Нестерова Л.Ю.³, Кузнецова М.В.^{1,3}

¹ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А.Вагнера», Пермь, Российская Федерация;

²МАОУ «Лицей № 2», Пермь, Российская Федерация;

³Институт экологии и генетики микроорганизмов – филиал ФГБУН «Пермский федеральный исследовательский центр» УрО РАН, Пермь, Российская Федерация

Воздушная среда подземных и наземных соляных сооружений может быть обильно обсеменена патогенными и условно-патогенными микроорганизмами антропогенного происхождения. Как следствие, их абиотические поверхности могут подвергаться контаминации, в том числе бактериями рода *Staphylococcus*. Фенотипическое разнообразие стафилококков, способность образовывать длительно переживающие покоящиеся формы, высокий адаптационный потенциал к условиям соляного стресса способствуют сохранению бактерий.

В ходе работы были изучены некоторые биологические свойства штаммов *S. aureus* ($n = 5$) и *S. epidermidis* ($n = 8$), изолированных с соляных поверхностей силикатных и галитовых сооружений Пермского края в период 2017–2018 гг.

Установлено, что стафилококки имели невысокую способность образовывать биопленки: медиана (Q1–Q3) – 0,191 (0,179–0,240) ед. ОП₅₇₀. При этом степень выраженности признака у группы, включающей *S. aureus*, была ниже, чем у *S. epidermidis* (0,166 ± 0,037 vs 0,308 ± 0,253). Анализ антибиотикограмм показал, что все стафилококки были чувствительны к аминогликозидам и фторхинолонам. Один штамм *S. epidermidis* был устойчив к оксациллину. Шесть штаммов оказались устойчивыми к макролидам, при этом по два штамма из каждой группы были нечувствительны к эритромицину и азитромицину, что указывает на их антропогенное происхождение. Помещение в среду 1 М NaCl и KCl ингибировало рост бактерий: показатель оптической плотности суспензии через 6, 24, 48 и 72 ч был достоверно ниже по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Влияние солей на рост бактерий различалось у *S. aureus* и *S. epidermidis*. В присутствии 1 М NaCl и KCl через 24 ч более устойчивыми оказались *S. aureus*, а после 48 и 72 ч – *S. epidermidis*. Показатели минимальной подавляющей концентрации солей для всех штаммов не превышали 3,5 М, однако при добавке 3 М NaClросло менее половины штаммов, а с 3 М KCl – практически все. Максимально возможные концентрации солей (5 М) не

оказывали бактерицидного эффекта на большую часть стафилококков.

Таким образом, видовые особенности позволяют стафилококкам выживать и длительно персистировать в экстремальных условиях. Учитывая интенсивное антропогенное воздействие на наземные соляные сооружения, способствующее интродукции комменсальной или патогенной микробиоты, необходима их надлежащая эксплуатация и своевременный микробиологический мониторинг.

Работа выполнена в рамках государственного задания номер госрегистрации темы: 01201353249.

Инфицированность клещей бактериями вида *Listeria monocytogenes*

Мельникова Н.Н.^{1,2}, Зайцева Е.А.², Киняк Т.В.¹

¹ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии № 98» Федерального медико-биологического агентства, Большой Камень, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Российская Федерация

Бактерии рода *Listeria* широко распространены в разнообразных объектах окружающей среды, вызывают заражение более чем у ста видов животных. Считается, что иксодовые клещи могут играть определенную роль в циркуляции возбудителя листериоза между дикими животными (особенно грызунами).

Цель исследования. Изучить инфицированность клещей бактериями вида *Listeria monocytogenes* на территории юга Приморского края.

Материалы и методы. В работе исследовали клещей (293 особи), собранных в период с апреля по июнь 2019 г. в разных районах края. Основными видами являлись: таежный клещ *Ixodes persulcatus* (192 особи) и *Dermacentor silvarum*, иксодовые клещи из подсемейства *Amblyomminae* (101 особь). Выделение нуклеиновой кислоты из клещей проводили с помощью набора «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва) согласно инструкции производителя. Амплификация была проведена с помощью тест-системы «ЛИСТЕР» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва). Оценка результатов продуктов амплификации проводилась методом электрофореза в 1%-м агарозном геле. Для проведения исследования все особи клещей были разделены по видам и помещены в «пулы». Содержание клещей в одном образце – не более 10 особей.

Результаты. По результатам исследования 293 образцов в 3,8% выявлена ДНК *L. monocytogenes*, полученная из таежных клещей вида *Ixodes persulcatus*, собранных в двух районах Приморского края. Не было выявлено ДНК *L. monocytogenes* ни в одном из исследованных образцов лесостепного клеща *D. silvarum*.

Заключение. Результаты исследования свидетельствуют о необходимости мониторинга на инфицированность *L. monocytogenes* таежных клещей на территории Приморского края с целью предупреждения заболеваемости листериозом людей и животных.

Эффективность технологии обработки воздушного пространства помещений

Михайлова Е.Г.¹, Чубатова О.И.², Скрипникова Е.В.³, Доброхотский О.Н.⁴, Борзенкова Т.Х.⁴

¹ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова», Москва, Российская Федерация;

²ООО «ЭРБИ», Москва, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Тамбовский государственный университет им. Г.Р.Державина», Тамбов, Российская Федерация;

⁴ФБЮЗ «Медико-санитарная часть №164 Федерального медико-биологического агентства», Оболенск, Российская Федерация;

В настоящее время проблема экологии среды пребывания человека и недостаточной эффективности методов очистки воздушного пространства помещений остается нерешенной. Воздушное пространство помещения, где присутствует микробный аэрозоль, связанный, в том числе, с профессиональной деятельностью, является фактором риска и может стать причиной возникновения заболеваний. Мониторинг микробной контаминации воздушного пространства помещений (ВПП) в учреждениях медицинской, учебной и других видов деятельности показал, что довольно часто можно наблюдать высокий уровень его загрязнения. Это связано и со спецификой работы, и с определенными промежутками времени, а также типом помещения.

Для снижения микробной контаминации ВПП в рамках программы по экологии закрытых помещений были использованы отечественные средства с выраженной биологической активностью на основе фитоэкстрактов разной химической природы. Антимикробная активность средств контролируется и при производстве, и при хранении, и в ЛПУ, имеющих микробиологические лаборатории. В используемых концентрациях средства проявляют выраженную антимикробную активность и при этом безопасны для человека, поэтому обработка проводится в присутствии людей без нарушения режима работы в помещениях.

Исследования на базе кафедры стоматологии РНИМУ, кафедры природопользования ТГУ, в МГТУ дизайнера технологий, противотуберкулезных учреждениях и прочих ЛПУ, а также в офисных зданиях позволили оптимизировать схемы применения фитопрепаратов в зависимости степени микробной контаминации ВПП. Уровень микробной контаминации оценивали по показателю общего микробного числа (ОМЧ) в пробах воздуха до и после применения обработки при высеве на дифференциальные среды для определения количества и плесневых грибов и золотистого стафилококка в 1 м³ воздуха. Установлено, что колебания показателя ОМЧ (от 1500 до 250 КОЕ по общему микробному числу и от 10 до 100 КОЕ по числу плесневых грибов) зависят от типа здания, назначения помещения, количества людей в нем и сезона года. Высокий уровень контаминации отмечен в лифтах и лифтовых холлах: до 1800 КОЕ по ОМЧ и более 1000 КОЕ по золотистому стафилококку, что является фактором риска.

Применение новой технологии обработки воздуха обеспечивает устранение этого фактора. Было установлено, что уровень контаминации в среднем снижается в 2,5–3 раза, в отдельных случаях зафиксировано снижение ОМЧ в 5 и 10 раз.

Снижаются или полностью устраняются из воздушной среды стафилококк и плесневые грибы. Эффективность технологии зависит от исходного уровня контаминации: чем выше исходный показатель ОМЧ, тем ярче проявляется эффект обработки ВПП. Метод распыления (мануальное или автоматизированное), тип вентиляционной системы и одновременное применение стандартных методов санации помещений не оказывают существенного влияния на эффективность.

В процессе исследований, при применении технологии более 6 месяцев (наблюдения более года), был зафиксирован факт снижения заболеваемости. Общее количество больных листом по причине ОРВИ и ОРЗ в среднем снизилось на 30%. За весь период исследования – 2014–2019 гг. – аллергических реакций на используемые препараты не отмечено, выявлено положительное отношение к методу обработки воздушного пространства: 95% участников отметили свежесть запахов и улучшение настроения.

Выводы. Мониторинг экологической обстановки ВПП позволил выявить места с повышенным уровнем риска с точки зрения биобезопасности персонала. Высокий уровень ОМЧ и присутствие золотистого стафилококка отмечается в конце смены в кабинетах стоматологии в осенний и зимний период; в учебных аудиториях в период с октября по март; в ВПП лифтов и лифт-холлов. Число плесневых грибов колеблется в широких диапазонах и зависит больше от типа зданий. Полученные данные интерпретировать достаточно сложно, но интерьеры помещения однозначно влияют на уровень контаминации грибами, особенно там, где много шкафов и ковровые покрытия.

Новая технология обработки воздушного пространства помещений средствами на основе фитонцидов обеспечивает быстроту и тотальность санации помещения в рабочем режиме и в присутствии людей. Улучшение условий пребывания человека в замкнутом пространстве, особенно при наличии специфического микробного аэрозоля, связанного с профессиональной деятельностью, снижает риск возникновения заболеваний.

Полученные результаты позволяют рекомендовать технологию для более широкого применения.

Использование комплекса питательных сред для анализа молочнокислых продуктов

Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Детушев К.В., Шепелин А.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Существующие методы микробиологического контроля качества молочнокислых продуктов, регламентируемые Техническим регламентом Таможенного союза, предусматривают определение количества заквасочных микроорганизмов с использованием питательных сред.

Цель исследования. Изучение возможности использования набора питательных сред производства ФБУН ГНЦ ПМБ при анализе йогуртов.

Материалы и методы. В работе использованы сертифицированные питательные среды для культивирования и подсчета молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий: MRS-агар для определения и подсчета лактобактерий (модификация 1); Агар М 17 для определения и подсчета термофильных стрептококков; среда ОББ для определения и подсчета бифидобактерий (модификация 2) с неомицином или диклоксациллином; среда Бликфельдта для выявления общего количества молочнокислых микроорганизмов (модификация 1). Идентификацию выделенных культур осуществляли методом MALDI-TOF MS-типирования.

Результаты. При производстве йогуртов используют бактериальные закваски, состав которых представлен *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus* spp. Многие йогурты обогащены бифидобактериями. В ходе исследования проанализированы шесть образцов йогуртов различных производителей, полученных (по информации от производителей) с использованием термофильного стрептококка и различных видов *Lactobacillus*: *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. paracasei* и *L. lactis*. Два образца йогурта дополнительно содержали бифидобактерии.

При посеве всех исследованных образцов йогуртов на среду Бликфельдта через 24–48 ч инкубации получали качественную и полуколичественную характеристику продукта о наличии молочнокислых бактерий по полному или частичному изменению цвета среды от пурпурного до желтого.

Использование остальных питательных сред обеспечивало количественный подсчет искомых микроорганизмов. На MRS-агаре наблюдался рост от беловатых до белых колоний, которые были идентифицированы как *Lactobacillus*, виды которых соответствовали заявленным производителями.

На агаре М 17 при температуре 45°C рост культур наблюдался в толще агара в виде дисков, а на поверхности – в виде полупрозрачных колоний, идентифицированных как *S. thermophilus*.

При анализе двух образцов йогуртов, обогащенных бифидобактериями, с использованием среды ОББ с неомицином подтверждено наличие *Bifidobacterium* spp.

Выводы. Проведенные исследования образцов йогуртов по определению содержания заквасочных культур показали возможность комплексного использования питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ для выявления различных видов лактобацилл, термофильного стрептококка и бифидобактерий.

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Анализ мониторинговых исследований на иерсинии в г. Челябинске

Москвина Т.И., Щербакова Т.А., Иванова Н.П., Петрова О.С., Терентьева Н.В., Мухомедьярова И.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Мониторинг за циркуляцией иерсиний продолжает быть актуальным для Челябинской области и г. Челябинска. Показатели заболеваемости иерсиниозами в г. Челябинске на 100 тыс. населения были следующими: в 2015 г. – 0,76;

2016 г. – 0,25; 2017 г. – 0,33; 2018 г. – 0,08. Показатели заболеваемости среди детей выше общих: в 2015 г. – 2,34; 2016 и 2017 гг. – 0,45; 2018 г. – 0,44.

За 2015–2018 гг. лабораторией исследовано 3732 пробы пищевых продуктов и объектов внешней среды методом смыва. Высеваемость иерсиний составила: в 2015 г. – 3,3%; 2016 г. – 6,1%; 2017 г. – 4,7%; 2018 г. – 2,7%.

Выделено 190 культур иерсиний: 162 из них идентифицируются как *Yersinia enterocolitica* б/в Ia (85,3%), 10 – *Y. intermedia* (5,3%), 8 – *Y. kristensenii* (4,2%), 8 – *Y. fredericsonii* (4,2%), 2 – *Y. aldovae* (1%). По биохимическим свойствам вид *Y. enterocolitica* относится к биотипу Ia. Все изолированные представители рода *Yersinia* являются близкородственными *Y. enterocolitica*. По литературным данным эти виды и биотипы иерсиний рассматриваются как непатогенные микроорганизмы, хотя не исключается их связь с заболеваниями человека.

При исследовании овощей методом смыва изолировано 128 культур, что составляет 67,4% от общего количества выделенных иерсиний. Высеваемость с овощной продукции в целом составила 8,3%. Наиболее контаминированным из овощей является картофель – 35,8%, затем следует морковь – 22,6%, капуста – 21,0%, свекла – 14,7%, лук – 5,5%. *Y. enterocolitica* б/в Ia идентифицирован в 111 случаях – 86,7%; *Y. intermedia* – 10 культур (7,8%); *Y. kristensenii* – 4 (3,1%); *Y. fredericsonii* – 3 (2,3%).

При исследовании объектов внешней среды (тара, инвентарь и прочее) методом смыва изолировано 62 культуры иерсиний (32,6%), что в 2,1 раза меньше, чем выделено с овощей. Высеваемость составила 2,8%. С объектов внешней среды изолированы следующие виды иерсиний: *Y. enterocolitica* б/в Ia – 49 штаммов; *Y. fredericsonii* – 5 штаммов; *Y. kristensenii* – 4 штамма; *Y. intermedia* и *Y. aldovae* – по 2 штамма, причем *Y. aldovae* изолирована только с тары.

Мониторинговые исследования на наличие иерсиний проводятся в осенний период во время закладки овощей на хранение и в зимне-весенний период. В осенний период, при закладке овощей, иерсинии выделяются достаточно редко – 9 культур (4,7%), тогда как в зимне-весенний период изолирована 181 культура (95,3%).

Вывод: в г. Челябинске имеет место контаминация иерсиниями овощной продукции и мест ее хранения, что может неблагоприятно сказываться на эпидемической ситуации.

Выживаемость сальмонеллезных бактериофагов в условиях имитации кишечных и желудочных жидкостей человека

Мякинина В.П., Верёвкин В.В., Левчук В.П., Сомов А.Н., Похиленко В.Д., Воложанцев Н.В., Перелыгин В.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Разработка препаратов бактериофагов для лечения сальмонеллезной инфекции при внутреннем применении.

Материал и методы. В экспериментах использовали коктейль сальмонеллезных бактериофагов, активных против *Salmonella Enteritidis* (VSe12, VSe102, VSe103), *S. Typhimurium* (VSt472, VSt8) и *S. Infantis* (VSiP, VSi1) с титрами в среднем $6,45 \times 10^9$ БОЕ/мл. Кроме исходной суспензии коктейля бактериофагов, использовали препаративные формы, приготовленные с использованием полисахаридных матриц, липидных дисперсий, а также карбонатных микрочастиц, в которые были иммобилизованы бактериофаги.

Кишечные и желудочные жидкости человека имитировали с помощью фармакопейных препаратов: «Ацидин-пепсин», содержащий пепсин свиной (0,5 мг) и бетаин гидрохлорид, и «Панзинорм форте 20000», содержащий протеазу 900 ЕД Евр. Фарм., липазу 20 000 ЕД Евр. Фарм., амилазу 12 000 ЕД Евр. Фарм.

Результаты. Проведенные исследования показали, что как исходные, так и инкапсулированные варианты коктейля сальмонеллезных бактериофагов не теряют антибактериальной активности в имитаторе кишечной жидкости (рН 7,2), несмотря на присутствие активных ферментов (протеаза, амилаза и липаза). В то же время имитатор желудочной жидкости (рН 2) привел к значительному снижению числа жизнеспособных бактериофагов исходного коктейля – от $2,51 \times 10^9$ БОЕ/мл до $3,98 \times 10^5$ БОЕ/мл – уже к 15-й минуте экспозиции в этой среде. Иммобилизация коктейля бактериофагов как в липосомах, так и в полимерной матрице резистентного крахмала не дала выраженного защитного эффекта в условиях имитированной желудочной жидкости. Использование коктейля бактериофагов в комплексе с карбонатными пористыми микрочастицами и полисахаридным полимером (пектин) позволило снизить темп потери числа жизнеспособных фагов с $3,38 \times 10^6$ БОЕ/мл в контроле до $8,5 \times 10^4$ БОЕ/мл в течение 15 минут инкубации при рН 2.

Выводы. Антацидные свойства карбонатных микрочастиц в сочетании с гелевой структурой полисахаридной матрицы повышают устойчивость бактериофага в кислых средах и, соответственно, могут способствовать усилению их лечебной эффективности.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

База данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ»

Мякинина В.П., Воложанцев Н.В., Денисенко Е.А., Говорунов И.Г.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Характеристики коллекционных штаммов бактериофагов, как правило, представляют собой относительно большие объемы однородных данных. Современным подходом к обращению с такой информацией являются базы данных (БД). К их достоинствам относят наличие готовых и легко настраиваемых неспециалистом функционалов (приложений и шаблонов).

В связи с этим была разработана и зарегистрирована БД «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ» (рег. № 2018621488 от 18.09.2018), предназначенная для учета и хранения данных о бактериофагах (вирусах бактерий), поступающих в Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии и исследуемых в его подразделениях.

Источниками поступления бактериофагов являются клинические образцы из лечебных учреждений; пробы, полученные из птицефабрик и животноводческих комплексов России; пробы из очистных сооружений; культуры бактериофагов, полученные от научно-исследовательских учреждений Российской Федерации, и пр.

Данные о бактериофагах, представленные в БД, получены в результате исследований, проводимых во ФБУН ГНЦ ПМБ в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора, а также по программам, финансируемым различными научными фондами Российской Федерации.

На настоящий момент база данных содержит 113 записей о свойствах бактериофагах и сопутствующую информацию по ним с 2008 г. по настоящее время.

База данных включает в себя: форму ввода, одну основную и несколько вспомогательных таблиц.

Таблица «Общая характеристика» содержит всю информацию базы данных по бактериофагам. Вспомогательные таблицы «Семейство», «Подсемейство», «Род» предназначены для оптимизации процесса заполнения таксономических данных основной таблицы. Вспомогательные таблицы «Штамм для размножения» и «Специфичность» также предназначены для оптимизации процесса заполнения основной таблицы «Общая характеристика». Все вспомогательные таблицы используются в формате выпадающих списков. Форма «Ввод данных» предназначена для ввода исходной информации в базу данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ». Поля для ввода информации разбиты на контентные блоки, фон которых для оптимального восприятия окрашен в различные цвета.

Созданная база данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ» позволяет учитывать, хранить и анализировать данные о бактериофагах, исследуемых в Центре и является дополнительным современным программным инструментом, для фундаментальных и прикладных работ в области изучения бактериофагов и создания на их основе препаратов для лечения бактериальных инфекций – альтернативы антибиотикам.

БД работает под управлением MS Access 2007 и более поздних версий.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Взаимосвязь сердечно-сосудистых заболеваний с анаэробными патогенами субгингивальной биопленки

Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Царёв В.Н.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Существование взаимосвязей между состоянием здоровья полости рта и развитием сердечно-сосудистых заболеваний подтверждено результатами ряда эпидемиологических исследований в странах Европы, США, России. Недостаточная гигиена полости рта у людей молодого и пожилого возраста с пародонтитом в настоящее время рассматривается как одна из основных причин повышения риска развития ишемической болезни сердца, смертности и снижения качества жизни. В то же время многоцентровым исследованием немецких ученых не выявлено статистически достоверной взаимосвязи гигиенических навыков, показателей гигиенических индексов и активности формирования зубного налета как у здоровых людей, так и у пациентов с воспалительными зубочелюстными заболеваниями и развитием острого коронарного синдрома. На наш взгляд, противоречивость литературных данных можно объяснить тем, что ведущим параметром является не собственно уровень гигиены, а характер возбудителей, колонизирующих микробные биопленки пародонта или находящиеся в воспалительных очагах, особенно в случае их длительной персистенции при таком заболевании, как генерализованный пародонтит.

Цель исследования. Изучение колонизации субгингивальной биопленки (пародонтального кармана) у больных с ишемической болезнью сердца и сопутствующим пародонтитом представителями основных видов пародонтопатогенных бактерий и взаимосвязи с клиническими проявлениями сердечно-сосудистых заболеваний в виде острого коронарного синдрома – острым инфарктом миокарда и стенокардией напряжения.

Материал и методы. Обследовано 45 пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями – 28 (62%) женщин и 17 (38%) мужчин в возрасте от 53 до 76 лет, в том числе: 15 больных стенокардией напряжения I–II функциональных классов, 15 больных острым инфарктом миокарда и 15 больных хроническим пародонтитом средней степени тяжести без сердечно-сосудистых заболеваний. Проводили полное обследование стоматологического и кардиологического статуса, биохимии крови, оценку эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии и ДНК основных видов пародонтопатогенных бактерий в субгингивальной биопленке пациентов.

Результаты. Установлена статистически достоверная взаимосвязь между колонизацией субгингивальной биопленки пародонтопатогенными бактериями и развитием острого инфаркта миокарда. У больных острым инфарктом миокарда частота выявления *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* была значительно выше, чем у людей без сердечно-сосудистых заболеваний. Наличие *P. gingivalis* и *A. actinomycetemcomitans* у больных пародонтитом ассоциировано с повы-

шенными уровнями С-реактивного белка и выраженными деструктивными процессами в пародонте. Кроме того, установлена прямая умеренная корреляция значения теста эндотелий-зависимой вазодилатации плечевой артерии с кардиологическим диагнозом ($r = 0,3284$), биохимическим маркерами развития атеросклероза ($r = 0,6465$), частотой выявления *Prevotella intermedia* в пародонтальных карманах ($r = 0,3828$).

Заключение. Полученные результаты позволяют рассматривать трех представителей пародонтопатогенной микробиоты – *P. gingivalis*, *T. forsythia* и *A. actinomycetemcomitans* – как фактор риска развития сердечно-сосудистой патологии, включая острый инфаркта миокарда. У всех пациентов с хроническим пародонитом наблюдается эндотелиальная дисфункция, однако у больных с сопутствующей стенокардией напряжения или острым инфарктом миокарда эндотелий-зависимая вазодилатация плечевой артерии статистически достоверно ниже, чем у людей с воспалительными заболеваниями тканей пародонта без ишемической болезни сердца, что может быть использовано для прогноза развития сердечно-сосудистой патологии.

Чувствительность к антимикробным препаратам *Salmonella* spp., выделенных от промышленной птицы в Российской Федерации и Республике Казахстан

Новикова Т.С., Теймуразов М.Г., Тазина О.И., Фурсова Н.К., Светоч Э.А.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить чувствительность к антимикробным препаратам (АП) и определить наличие генетических детерминант антибиотикорезистентности у штаммов *Salmonella* spp., выделенных от промышленной птицы в разных регионах Российской Федерации (РФ) и в Республике Казахстан (РК) в 2008–2017 гг.

Материалы и методы. Изоляты *Salmonella* spp. были выделены от птицы на территории четырех Федеральных округов РФ: Приволжского ($n = 21$), Центрального ($n = 16$), Южного ($n = 13$) и Северо-Западного ($n = 11$), и в РК ($n = 1$). Культуры, полученные из патологического материала от птицы (подглазничные синусы, трахея, яйцеводы, печень, легкие, селезенка, сердце), высевали на питательные среды ГРМ-1, ТТХ, Эндо, SS-агар и XLD-агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). Бактерии идентифицировали до рода на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия), до вида – с помощью агглютинирующих моноспецифических сывороток «ПЕТСАЛ» (ФГУП «СПбНИИВС», Санкт-Петербург, Россия). Чувствительность к АП определяли диско-диффузионным методом (диски OXOID, Великобритания; HiMedia, Индия). Гены бета-лактамаз *bla*_{CTX M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} и интегроны класса 1 определяли методом ПЦР.

Результаты. Из 62 выделенных культур идентифицировано: *Salmonella enterica* серовар Infantis ($n = 33$), *S. enterica* серовар Enteritidis ($n = 22$), *S. enterica* серовар Pullorum-

Gallinarum ($n = 4$), *S. enterica* серовар Typhimurium ($n = 3$). Большинство исследуемых штаммов *Salmonella* spp. были резистентны к 5 АП: бензилпенициллину ($n = 62$), неомицину ($n = 60$), рифамицину ($n = 54$), пefлоксацину ($n = 48$), но чувствительны к ампициллину-сульбактаму ($n = 62$), цефтриаксону ($n = 62$), меропенему ($n = 62$), имипенему ($n = 62$), хлорамфениколу ($n = 56$), ко-тримоксазолу ($n = 49$) и энрофлоксацину ($n = 43$). Часть исследуемых штаммов несли генетические детерминанты антибиотикорезистентности: интегроны класса 1 со вставками ($n = 20$) и гены бета-лактамаз *bla*_{TEM} ($n = 6$).

Выводы. Видовое разнообразие выделенных от промышленной птицы культур сальмонелл соотносится с литературными данными подобных исследований и подтверждает ведущую роль *S. enterica* серовар Infantis и *S. enterica* серовар Enteritidis в этиологической структуре сальмонеллезов птиц. Все культуры *Salmonella* spp. были устойчивы к бензилпенициллину, 97% – к неомицину, 87% – к рифамицину, 77% – к пefлоксацину. Большинство исследуемых штаммов отнесены к категории мультирезистентных: 42% штаммов были устойчивы к 3–4 функциональным группам АП, 27% – к 5–6 группам. Все исследуемые культуры были чувствительны к ампициллину-сульбактаму, цефтриаксону, меропенему и имипенему.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Антибиотикорезистентность уропатогенных *Klebsiella* spp.

Обухова Е.С., Образцова А.М., Рожина А.М.

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить антибиотикорезистентность уропатогенных *Klebsiella* spp.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила моча, полученная от больных из стационаров г. Петрозаводска с инфекцией нижних мочевых путей ($n = 12$). Для выделения и идентификации микроорганизмов использовали бактериологический метод. Определение чувствительности бактерий к антибиотикам выполняли диско-диффузионным методом в соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST). Использовали стандартные наборы индикаторных дисков для определения чувствительности энтеробактерий к антимикробным лекарственным средствам производства ЗАО «НИЦФ» (Санкт-Петербург).

Для изучения антибиотикорезистентности выделенных штаммов были выбраны следующие антибиотики: β-лактамы – ампициллин и цефотаксим, аминогликозиды – амикацин и гентамицин, фторхинолон – цiproфлоксацин.

Результаты. В ходе бактериологического исследования из проб мочи было выделено и идентифицировано 2 штамма микроорганизмов: *Klebsiella pneumoniae* и *Klebsiella oxytoca*. Определение чувствительности к антибиотикам показало,

что *K. oxytoca* проявляет резистентность ко всем используемым антибиотикам. Зоны задержки роста отсутствовали вокруг дисков с ампициллином, цефотаксимом, гентамицином, ципрофлоксацином, диаметр зоны задержки роста вокруг диска с амикацином составил 11 мм, что, по критериям EUCAST, также указывает на резистентность штамма. У штамма *K. pneumoniae* установлена резистентность к ампициллину, ципрофлоксацину и цефотаксиму. Зоны задержки роста отсутствовали вокруг дисков с ампициллином и ципрофлоксацином, диаметр зоны задержки роста вокруг диска с цефотаксимом составил 8 мм, что также позволяет считать его резистентным к антимикробному препарату. Установлено проявление чувствительности *K. pneumoniae* в отношении гентамицина и амикацина, зоны задержки роста составили 17 и 21 мм соответственно.

Заключение. Обнаруженная резистентность исследованных штаммов *K. oxytoca* ко всем изучаемым антибиотикам и резистентность *K. pneumoniae* к ампициллину, ципрофлоксацину и цефотаксиму подтверждает необходимость проведения дальнейшего регулярного мониторинга антибиотикорезистентности возбудителей инфекций нижних мочевых путей.

Анализ результатов мониторинга холерных вибрионов в водных объектах окружающей среды на территории Калужской области

Овсянникова Л.В., Полякова С.В., Габараева Е.А., Винникова О.Н., Дичковский Л.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калужской области», Калуга, Российская Федерация

В целях обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, предупреждения завоза и распространения холеры на территории Калужской области ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Калужской области» и его филиалы ежегодно проводят мониторинговые бактериологические исследования воды поверхностных водоемов на наличие холерных вибрионов.

Управлением Роспотребнадзора по Калужской области определено 106 стационарных точек отбора проб из объектов окружающей среды для исследования на наличие холерного вибриона, из них 8 в г. Калуга и 98 – в 24 районах Калужской области. Все стационарные точки отбора паспортизированы. В соответствии с п. 4.8 и приложением СП 3.1.1.2521-09 «Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации» отбор проб осуществляется в июле и августе: один раз в семь дней. За этот период ежегодно исследуется 954 пробы воды поверхностных водоемов.

Анализируя данные эпидемиологического мониторинга, следует отметить, что за последние 10 лет в открытых водоемах области практически ежегодно выделяются *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139. Так, в 2009 г. было выделено 3 культуры, 2010 г. – 11 культур, 2011 г. – 1 культура, 2012 г. – 2 культуры, 2013–2014 гг. – культуры не выделялись, 2015 г. – 1 культура, 2016 г. – 12 культур, 2017 г. – 3 культуры, 2018 г. – 1 культура. Таким образом, наибольшее коли-

чество культур было выделено в 2016 г. (12), в 2013–2014 гг. культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139 не выделялись.

При характеристике биологических свойств изолированных культур была установлена типичность культурально-морфологических и биохимических свойств, отсутствие изменчивости по агглютинабельности. Данные культуры выделялись в стационарных точках г. Калуги, что свидетельствует о наибольшем загрязнении поверхностных водоемов в г. Калуга. Холерные вибрионы серогрупп O1 и O139 на территории Калужской области не выделялись.

Таким образом, эти данные позволяют судить о наличии в поверхностных водоемах Калужской области экологических ниш, где сочетание комплекса факторов биотической и абиотической природы создает благоприятные условия для пребывания холерного вибриона.

Обнаружение холерных вибрионов nonO1/nonO139 в поверхностных водоемах, являющихся источниками питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения и используемых в рекреационных целях, на фоне выявления неблагополучных проб по микробиологическим показателям на соответствие действующим нормативным документам из водных объектов указывает на высокую степень потенциальной эпидемической опасности реализации водного пути распространения возбудителя холеры при заносе инфекции и является неблагоприятным прогностическим признаком. Поэтому мониторинг вибриофлоры водной окружающей среды с оперативной оценкой биологических свойств изолируемых культур холерного вибриона, а также надзор за системами водоснабжения и водоотведения являются ключевыми моментами эпиднадзора за холерой на территории Калужской области и позволяют своевременно проводить профилактические мероприятия.

Часто встречаемые в Приморском крае возбудители заразных кожных заболеваний

Олейник С.А.¹, Зайцева Е.А.²

¹ГАУЗ «Краевой клинический кожно-венерологический диспансер», Владивосток, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет», Владивосток, Российская Федерация

Микроспория и трихофития являются высококонтагиозными грибковыми заболеваниями, преимущественно сезонного характера. Климатические условия Приморского края способствуют распространению возбудителей этих заболеваний.

Цель исследования. Анализ и оценка этиологии возбудителей заразных кожных заболеваний среди групп населения Приморского края.

Материалы и методы. В данной работе были использованы результаты лабораторных исследований 424 пациентов, жителей Приморского края, за период с января 2017 г. по июнь 2019 г. на базе центральной микологической лаборатории ГАУЗ «Краевой клинический кожно-венерологический диспансер» г. Владивостока. Материалом для исследования послужили чешуйки гладкой кожи и волосистой части головы у пациентов следующих возрастных групп: от 1 года до 6 лет;

7–13 лет; 14–19 лет; 20–44 лет; 45 лет и старше. Всего проанализировано 455 биологических образцов. Весь материал для микробиологического анализа был взят до начала специфического лечения. Для выделения грибов использовали одновременно две плотные питательные среды: агар Сабуро и картофельный агар. Идентификацию дерматомицетов проводили по следующей схеме: визуальная оценка выделенных культур (морфология колоний, характер и скорость роста, реверс) – оценка микроскопической картины нативного препарата из культуры, приготовленного классическим методом (отличительные морфологические признаки мицелиальных грибов – дерматомицетов – от плесневых). Результаты исследования были обработаны статистически.

Результаты. При исследовании 455 биологических образцов положительными оказались 377 (82,9%). По частоте встречаемости на первом месте *Microsporium* spp. – 344 образца (75,6%).

Среди *Microsporium* spp., вызывающих микроспорию, преобладает *M. canis* – 325 образцов (86,2%), значительно реже встречается *M. gypseum* – 19 образцов (13,8%). Второе место по встречаемости в качестве возбудителей заразных кожных заболеваний (трихофития) на основании анализа полученных данных занимают *Trichophyton* spp. – 33 образца (7,3%), *T. tonsurans* – 24 образца (72,7%), *T. mentagrophytes* – 9 образцов (27,3%). Так как данные возбудители являются патогенными, то клиническое значение грибов оценивалось по наличию роста на питательных средах в биоматериале, полученном от пациентов.

Среди положительных образцов – 377 (82,9%) – чаще всего возбудитель регистрируется у детей в возрасте 7–13 лет – 274 случая (72,7%), на втором месте дети 1–6 лет – 51 случай (13,5%). Практически одинаковые показатели в категориях 14–19 и 20–44 лет – 23 (6,1%) и 21 (5,5%) случай соответственно, в категории 45 лет и старше – всего 8 случаев (2,2%).

Заключение. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод, что кожные заразные заболевания в Приморском крае имеют достаточно высокий процент распространения (82,9%). Часто выявляемым возбудителем микроспории в Приморском крае является *M. canis*, а трихофитии – *T. tonsurans*. Возрастные группы, для которых характерен высокий процент заболеваемости, – это дети в возрасте 7–13 лет, 1–6 лет.

Масс-спектрометрические характеристики штаммов *Yersinia pestis* из Салюйгемского трансграничного природного очага чумы

Остяк А.С., Балахонов С.В.

ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация

Салюйгемский природный очаг чумы расположен на территории Баян-Ульгийского аймака Монголии и Кош-Агачского района Республики Алтай, РФ. Продолжительное время в российской части очага регистрировали циркуля-

цию *Yersinia pestis* только алтайского подвида, но с 2012 г. очаг считается сопряженным, т.к. в нем выявлена одновременная циркуляция как основного, так и алтайского подвида. Сложившаяся ситуация требует новых подходов к точной и быстрой идентификации подвидов *Y. pestis* для соответствующей дифференциации управленческих решений по профилактике чумы и минимизации риска эпидемических осложнений. Масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией – точный и быстрый метод идентификации *Y. pestis*, в то же время внутривидовая дифференциация чумного микроба с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии недостаточно проработана.

Цель исследования. Сравнительный масс-спектрометрический анализ разных подвидов *Y. pestis* из Салюйгемского и других природных очагов чумы.

Использовали 45 штаммов основного подвида, изолированных в 2018 г. на территории Салюйгемского природного очага чумы Монголии. Для сравнения были взяты штаммы *Y. pestis* подвидов *altaica*, *caucasica*, *hissarica* и *ulegeica*, полученные из коллекции Иркутского противочумного института, изолированные на территории Горно-Алтайского и Тувинского природных очагов, а также Северного Кавказа и Тянь-Шаня. Экстракцию белка осуществляли по стандартной методике с муравьиной кислотой и ацетонитрилом. Сбор спектров проводили на MALDI-TOF масс-анализаторе MicroFLEX (Bruker Daltonics), автоматическую идентификацию – в программе MALDI Biotyper 3.0. Анализ полученных спектров и построение дендрограммы выполняли в программе BioNumerics 7.6.

Применение аппаратно-программных продуктов от Bruker Daltonics позволило провести идентификацию исследуемых штаммов с коэффициентами соответствия не ниже 2,4, что дало основание с высокой вероятностью отнести их к виду *Y. pestis*. В программной среде BioNumerics 7,6 провели филогенетический анализ, в результате которого все исследованные штаммы основного подвида сгруппировались в отдельную ветку на дендрограмме, что свидетельствует о возможности дифференциации эпидемически значимого основного подвида *Y. pestis* от неосновных (*altaica*, *caucasica*, *hissarica* и *ulegeica*).

Анализ распространения нетифоидных полирезистентных штаммов сальмонелл на территории Российской Федерации за 2016–2018 гг.

Павлова А.С., Гусева А.Н., Кулешов К.В., Акулова Н.К., Кожаметова Т.А., Рожнова С.Ш., Подколзин А.Т.

ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Бактерии рода *Salmonella* являются одной из основных причин диарейных заболеваний в Российской Федерации. Массовое и бесконтрольное применение антибиотиков приводит к появлению все большего числа штаммов с лекарственной устойчивостью, а способность к горизонтальному переносу генов – к увеличению числа полирезистентных штаммов среди энтеробактерий.

За последние 3 года в Референс-центре по мониторингу за сальмонеллезами Роспотребнадзора было проведено изучение антибиотикочувствительности у 1357 штаммов сальмонелл из 55 регионов Российской Федерации. Серологическую идентификацию сальмонелл проводили с помощью унифицированных методов. Антибиотикорезистентность определяли с помощью панелей АТВ G-5 (Биомерье, Франция), а также на планшетах MIC G-I и MIC G-II (Erba Lachema, Чехия) в соответствии с инструкцией производителя.

Среди общего количества изолятов 44,5% были чувствительны к действию всех антибиотиков, в то время как полирезистентность составляла 10,7%. Также наблюдается рост числа штаммов, устойчивых к антибиотикам: в 2016 г. – 45,8 и 5,6%; в 2017 г. – 58,6 и 13%; в 2018 г. – 63,1 и 14,3% резистентных и полирезистентных штаммов соответственно.

В Приволжском, Северо-Западном, Сибирском и Центральном федеральных округах количество резистентных штаммов составило более 50%, а наибольшее количество изолятов, чувствительных ко всем антибиотикам, зарегистрировано в Южном федеральном округе – 65%. Высокий процент полирезистентных штаммов обнаружен в Приволжском и Сибирском федеральных округах – 16,7 и 13% соответственно, тогда как в Вологодской и Московской областях не выявлено ни одного полирезистентного изолята. Указанные различия не имели связи с неравномерной представленностью сероваров сальмонелл на данных территориях.

Несмотря на некоторые различия, в подавляющем большинстве регионов наблюдается тенденция к постепенному увеличению числа антибиотикорезистентных и полирезистентных штаммов сальмонелл, на процесс формирования которых преимущественно влияют общие для разных территорий факторы. Таким образом, вопрос о причинах формирования и способах распространения множественной устойчивости остается актуальным.

Физико-химические и биологические свойства антимикробного соединения, произведенного штаммом *Bacillus subtilis* ПСФ-19

Перельгин В.В., Похиленко В.Д., Калмантаев Т.А., Детушев К.В., Чукина И.А.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Изучить физико-химические и биологические свойства природного антимикробного соединения, произведенного штаммом *Bacillus subtilis* ПСФ-19 в условиях глубинного культивирования

Материал и методы. Культуральная жидкость (КЖ) штамма *B. subtilis* ПСФ-19 была использована для получения бесклеточного супернатанта, выделения антимикробной субстанции и оценки ее физико-химических и биологических свойств. Образцы субстанции исследованы методом тонкослойной хроматографии и электрофорезом в системе Tris-tricine SDS-PAGE. Культивирование штамма *B. subtilis* ПСФ-19

проведено в ГРМ-бульоне, при температуре 37°C в течение суток в условиях перемешивания – 120–150 об/мин. Бесклеточные супернатанты были сконцентрированы в 10 раз упариванием под вакуумом при температуре 50–60°C. Концентраты экстрагированы н-бутанолом и высушены конвективно при 105°C. Полученные образцы, обозначенные как BS, использованы для проведения тонкослойной хроматографии (ТСХ) с целью грубой очистки и электрофореза в системе Tris-tricine SDS-PAGE для определения молекулярной массы. ТСХ проводили в системе хлороформ/метанол/вода на пластинах ВЭТСХ силикагель 60 F254 (Merck). Фракция, обладающая бактерицидной активностью (фактор Rf 0,8), была отобрана методом накопительной хроматографии. Экстрагированные из хроматографической пластины пробы использовались для проведения электрофоретического исследования.

Результаты. По результатам биотестирования электрофореграмм с газом тест-штамма *Listeria monocytogenes* было отмечено, что зона ингибирования роста расположена между маркерами 3, 4 и 5 кДа, а это близко к данным Babasaki et al. (1985), впервые описавших бактериоцин «субтилозин А» штамма *B. subtilis* 168.

Образец BS был обработан химотрипсином (10 мг/мл) и ферментами кишечной жидкости («Панзинорм форте», 10 мг/мл) при температуре 30°C на протяжении 2 ч инкубации. Установлено, что бактерицидная активность образца BS в отношении *L. monocytogenes* была полностью подавлена при использовании протеолитических ферментов.

Выводы. Новый штамм *B. subtilis* ПСФ-19, выделенный из растительного сырья, является продуцентом антимикробной субстанции пептидной природы, которая обладает бактерицидной активностью против ряда грамположительных патогенов, включая *L. monocytogenes*.

Оценка информативности результатов иммуноферментного анализа, полученных с помощью отечественных и зарубежной тест-систем для выявления антител к вирусу Западного Нила

Пименова Е.В., Замарина Т.В., Тетерятникова Н.Н.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить эффективность отечественных иммуноферментных тест-систем для качественного определения антител к вирусу Западного Нила (ВЗН) в сравнении с зарубежным аналогом.

Материалы и методы. В работе были исследованы образцы сывороток крови, поступившие в 2018 г. в референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила (ЛЗН). Для оценки информативности результатов определения IgM к ВЗН использовали зарегистрированную иммуноферментную тест-систему «Anti-West Nile Virus ELISA (IgM)» («Euroimmun AG», Германия).

Результаты. Образцы сывороток крови пациентов с подозрением на ЛЗН, поступившие на исследования в рефе-

ренс-центр (РЦ) по мониторингу за лихорадкой Западного Нила, были предварительно исследованы в региональных лабораториях на содержание специфических IgM с помощью ИФА тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» и ЗАО БТК «Биосервис».

Нами было оценено количество совпадающих результатов при использовании тест-систем «Anti-West Nile Virus ELISA (IgM)» («Euroimmun AG», Германия), «БиоСкрин-ВЗНМ» (ЗАО БТК «Биосервис», Россия), «ВектоНил-IgM» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Совпадение результатов исследований иммуноферментных тест-систем производства «Euroimmun AG» и ЗАО БТК «Биосервис» составило 84,6% (11 сывороток из 13), а с набором производства ЗАО «Вектор-Бест» – 60% (15 из 25).

Выводы. Полученные нами результаты не позволяют судить о диагностической значимости тест-систем различных производителей, так как на достоверность результатов влияет комплекс мероприятий – от момента назначения лабораторных исследований до завершения аналитического этапа (пробоподготовка, транспортировка, хранение и др.). Считаем, что для получения достоверных результатов о диагностической возможности тест-систем различных производителей следует проводить более глубокий анализ с оценкой чувствительности и специфичности.

Создание штамма *Yersinia pestis*, способного к биолюминесценции

Платонов М.Е., Дентовская С.В.,
Иванов С.А., Анисимов А.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Биолюминесценция широко распространена в природе, в том числе среди бактерий, относящихся к родам *Vibrio*, *Photobacterium* и *Xenorhabdus*. В состав *lux*-оперона энтомопатогенной бактерии *Photorhabdus luminescens* входят пять генов *luxCDABE*. Гены *luxCDE* кодируют соответственно редуктазу, трансферазу и синтетазу, необходимые для синтеза субстрата, а гены *luxAB* – α - и β -субъединицы люциферазы. Простота и чувствительность люминесцентного анализа, а также возможность экспрессии *lux*-оперона в различных бактериях позволяют использовать его в качестве репортерного для изучения регуляции экспрессии генов, мониторинга диссеминации люминесцирующих патогенных бактерий в организме инфицированных животных, оценки эффективности использования новых антимикробных агентов на животных моделях при изучении возбудителей различных инфекционных заболеваний бактериальной природы. Учитывая вышесказанное, мы создали биолюминесцентный штамм *Yersinia pestis*, несущий *lux*-оперон *P. luminescens*.

In silico анализ последовательности хромосомной ДНК *P. luminescens* subsp. *laumondii* TT01 (NCBI Reference Sequence: NC_005126.1) показал, что оперон *luxCDABE* располагается на фрагменте хромосомы размером 6314 п.о., ограниченном сайтами рестриктаз *XbaI* и *EcoRI*. Хромосомную ДНК *P. luminescens* TT01 обрабатывали рестриктазами

EcoRI и *XbaI*, разделяли с помощью электрофореза в 0,7%-й агарозе. Элюированные фрагменты размером 6,3 т.п.н. лигировали с обработанной соответствующими рестриктазами ДНК pUC57. После трансформации клоны *Escherichia coli* DH5 α , несущие плазмиду pUC57-*lux*, отбирали на LB-агаре с ампициллином визуально по свечению колоний в темноте. Далее для стабильной экспрессии в *Y. pestis lux*-оперон переклонировали по тем же сайтам рестрикции в плазмиду pACYC-gfp, которая, являясь производной плазмиды pACYC184, способна реплицироваться в чумном микробе без селективного давления. Плазмиду pACYC-*lux* вводили в клетки штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ с помощью криотрансформации. Полученный штамм чумного микроба обладал ярко выраженной биолюминесценцией.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Чувствительность условно-патогенных бактерий влагалища к поликомпонентным бактериофагам

Полищук И.С., Алешукина А.В., Алешукина И.С.

ФБУН «Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Цель исследования. Провести сравнительный анализ чувствительности бактерий микробиоты влагалища к поликомпонентным бактериофагам.

Материалы и методы. Было обследовано 53 женщины детородного возраста. В качестве материала использовали мазки из влагалища (V). Бактериологические исследования проводились в соответствии с общепринятыми рекомендациями. Для идентификации видов бактерий использовали настольный масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper. Для фагочувствительности применяли поливалентные бактериофаги: Секстафаг (№ 1), Пиобактериофаг (№ 2), Интестибактериофаг (№ 3) и гель с бактериофагами «Фагогин» (№ 4). Для определения чувствительности к жидкой форме использовали стандартную методику. Для гелевой формы была разработана модифицированная методика. Бактериофаг наносили отпечатком на культуру посредством бактериологической петли $d = 0,5$ см, загнутой под углом 90°.

Результаты. У всех обследованных был выявлен бактериальный вагиноз. При вагинозах, представленных монокультурами, в 80% случаев встречались представители рода *Staphylococcus* spp., 20% – представители рода *Enterococcus* spp. При ассоциативном вагинозе, вызванном двумя видами бактерий, наиболее часто встречались ассоциации *Enterococcus* spp. + *Staphylococcus* spp. – 43%; грибы р. *Candida* + *Staphylococcus* spp. – 30%; *Staphylococcus* spp. + *E. coli* встречались в 21% случаев, а *Staphylococcus* spp. + *Streptococcus* spp. – в 6%. В ассоциациях из трех микроорганизмов в 100% выделялись представители рода *Staphylococcus* spp.; 91% случаев составляли представители семейства *Enterobacteriaceae*; 27% – грибы р. *Candida* и в 18% случаев были изолированы представители рода *Bacillus*. Все полученные

культуры были проверены на фагочувствительность к 4 тестируемым бактериофагам. При этом высокая чувствительность к жидкой форме бактериофага (+++ и ++++) была обнаружена у 47% пациенток (25 случаев): к фагу № 1 – у 15% пациенток (8), к фагу № 2 – у 11% пациенток (6); к фагу № 3 – у 21% пациенток (11); к фагу № 4 – у 91% пациенток (48). При этом совпадение чувствительности для фага № 1 с фагом № 4 составило 9% случаев, № 2 с фагом № 4 – 7,5%, № 3 с фагом № 4 – 15%. Изучение фагочувствительности показало, что в целом микробиота биотопа более чувствительна к гелевой форме бактериофага (91%) по сравнению с жидкими формами.

Инфицированность бройлеров термотолерантными кампилобактерами при использовании различных технологий содержания птицы

Порин А.А.¹, Новикова О.Б.², Павлова М.А.²

¹ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²Санкт-Петербургский филиал Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института птицеводства, Санкт-Петербург, Российская Федерация

В течение многих лет термотолерантные кампилобактеры прочно удерживают лидирующие позиции в качестве главного возбудителя бактериальных диарей. Доминирующее положение среди термотолерантных кампилобактеров занимает *Campylobacter jejuni*. Это связано с высоким уровнем инфицирования этим видом сельскохозяйственной птицы, являющейся ведущим источником кампилобактериоза в экономически развитых странах.

Цель исследования. Изучение уровней инфицированности кампилобактерами бройлеров при различных технологиях выращивания птицы.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе фермерского хозяйства, занимающегося откормом бройлеров и использующего две технологии содержания птицы: напольное содержание без смены подстилки и клеточное содержание. Материал от кур транспортировали в лабораторию в среде Кэри–Блэра, суспендировали в стерильном физрастворе в соотношении 1:10 и засеивали на питательные среды. Для посева использовали селективный угольный агар с цефоперазоном и дезоксихоломатом и колумбийский агар с 5% лизированной крови лошади и ростовой добавкой. Для посева на неселективный кровяной агар использовали мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм. Посевы инкубировали в микроаэрофильной атмосфере при 37°C в течение 48 часов. Для идентификации культур параллельно использовали традиционные фенотипические тесты, MALDI-TOF масс-спектрометрию и PCR с мультипраймерной тест-системой, содержащей видоспецифические праймеры к *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* и *C. fetus*.

Результаты. При исследовании материала от кур, находившихся на напольном содержании, кампилобактеры были

обнаружены в 28 из 30 проб, что составило 93,33%. *C. jejuni* был обнаружен в 21 (70,00%) пробе, *C. coli* – в 14 (46,67%). В 7 (23,33%) образцах одновременно присутствовали *C. jejuni* и *C. coli*.

У кур, находящихся на клеточном содержании, кампилобактер был обнаружен в 12 из 32 проб (37,50%). В 8 пробах был обнаружен *C. jejuni* и в 4 – *C. coli*, что составляет 25,00 и 12,50% соответственно.

Видовая принадлежность выделенных культур была подтверждена всеми использованными методами идентификации. 3 штамма *C. jejuni*, выделенные от кур, находившихся на напольном содержании, были отнесены к гиппуратотрицательным *C. jejuni*.

Заключение. Полученные результаты свидетельствуют о высоком уровне инфицирования бройлеров термотолерантными кампилобактерами, особенно при использовании напольного содержания птицы. Неожиданно высокая частота обнаружения *C. coli* требует проведения дополнительных исследований.

Биологические свойства *S. aureus*. Образование биопленок

Постникова О.Н., Чепурина Д.В., Шевкопляс Л.А., Хакикий Т.

Медицинская академия им. С.И.Георгиевского, Симферополь, Российская Федерация

По современным представлениям, более 60% всех бактериальных инфекций человека являются биопленочными. В структуре биопленки выделяют клеточный компонент и пронизанный каналами полимерный матрикс, который является фактором защиты и коммуникаций бактерий. Образование биопленок приводит к значительному повышению уровня резистентности к повреждающим факторам, в том числе к антибактериальным препаратам, что является серьезной угрозой для практического здравоохранения.

Нами были исследованы 11 культур золотистого стафилококка: стандартный штамм *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, 9 клинических изолятов, выделенных из зева детей с ЛОР-патологией, и два изолята *S. aureus* из морской воды вблизи стока канализации. У данных культур определяли чувствительность к антибиотикам различных групп диск-диффузионным методом. Биопленки *S. aureus* получали в лунках полистиролового планшета. Через 24 ч инкубации определяли плотность биопленок по степени окрашивания 0,01%-м раствором генцианвиолета с последующей экстракцией связанного биопленкой красителя этиловым спиртом и измерением оптической плотности экстракта при 620 нм. Матрикс биопленок определяли после инкубации с сафранином при 492 нм, глюкозы и амилоидные белки матрикса биопленок – с помощью красителя конго красный. Все измерения проводили с помощью прибора Multiskan.

Все изоляты *S. aureus* были чувствительны к доксициклину, все клинические изоляты чувствительны также к гентамицину. Культуры из морской воды были умеренно устойчивы к гентамицину. К макролидам все *S. aureus* (за исключением стандартного штамма) были устойчивы; 9 из 11 изо-

лятов были резистентны к амоксициллину и только 3 из 11 устойчивы к офлоксацину. Стандартный штамм был чувствителен ко всем данным препаратам.

Все *S. aureus* образовывали биопленки средней и высокой плотности, у 9 из 11 изолятов биопленка на 25–30% превышала таковую, сформированную стандартным штаммом. У 2 из 11 изолятов наблюдалась очень высокая плотность матрикса и амилоидных белков. Одна из этих двух культур была полирезистентной к антибиотикам.

Таким образом, все исследованные изоляты *S. aureus* обладали резистентностью к ряду антибиотиков и высокой способностью к образованию биопленок.

Штамм *Bacillus subtilis* ПСФ-19 – продуцент веществ, обладающих антилистериозной активностью

Похиленко В.Д., Перельгин В.В., Детушев К.В., Чукина И.А., Калмантаев Т.А.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Цель исследования. Поиск микроорганизмов – продуцентов субстанций, способных подавлять рост *Listeria monocytogenes*, контаминанта пищевых продуктов и возбудителя кишечных заболеваний.

Материал и методы. Исследования выполнены с использованием растительного средства, содержащего комплекс биологически активных химических веществ (БАД «Пассифлора»). Из водной суспензии порошка этого препарата выделена споровая культура, обладающая выраженным антагонизмом в отношении *L. monocytogenes*. Масс-спектроскопическим методом (MALDI Biotyper) полученный изолят был с высокой долей вероятности (2,32–2,357) определен как вид *Bacillus subtilis*. Субкультивирование штамма *B. subtilis* ПСФ-19 осуществлялось на ГРМ-агаре. Глубинное культивирование проводили в ГРМ-бульоне, дополнительно содержащем дисахарид, дрожжевой экстракт, при температуре 37°C в течение суток в условиях перемешивания – 120–150 об/мин. Полученная культуральная жидкость была использована для приготовления бесклеточного супернатанта и проведения работы по получению антилистериозного компонента в виде жидкого концентрата или высушенного порошка. Полученные образцы антимикробной субстанции использованы для электрофореза в системе Трис-ДСН-ПААГ с целью определения молекулярной массы.

Результаты. Отработаны технологические режимы культивирования, концентрирования и экстракции из культуральной жидкости антилистериозного компонента с использованием органических растворителей. Выделенная фракция проявляла бактерицидные свойства в отношении представителей листерий, некоторых видов бацилл, а также кокковых форм микроорганизмов.

Выводы. Установлено, что клетки штамма *B. subtilis* ПСФ-19 в процессе аэробного культивирования секретируют в окружающую среду соединения, ингибирующие рост бактерий не только из рода *Listeria*, но *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*.

Влияние кластерного серебра на антибактериальную активность антибиотика грамицидин С, стабилизированного поливинилпирролидоном в водном растворе

Пугачёв В.Г.¹, Тотменина О.Д.¹, Бурылин С.Ю.²

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»», р.п. Кольцово, Российская Федерация;

²ПФК «Обновление», Новосибирск, Российская Федерация

Инфекционно-воспалительные заболевания верхних дыхательных путей и ЛОР-органов являются одними из самых распространенных заболеваний человека. *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus* spp., *Moraxella* spp. – возбудители инфекционных заболеваний, таких как острый фарингит, афтозные поражения слизистой оболочки рта и глотки, стоматит, гингивит, ангина.

Стафилококки очень часто становятся причиной внутрибольничной инфекции, связанной с катетеризацией сосудов, потому что они могут формировать биопленку на этих материалах.

Препараты выбора для лечения таких инфекций – это антибиотики. Однако использование антибиотиков выявило ряд негативных свойств, основное из которых – появление резистентных штаммов.

Грамицидин С является антибиотиком, оказывающим бактериостатическое и бактерицидное действие на стрептококки, стафилококки, пневмококки, возбудителей анаэробной инфекции и другие микроорганизмы. Широкое применение находят 0,02%-й спиртовой раствор грамицидина С для полоскания, а также таблетированные формы. Недостатком этих лекарственных форм является повышенное содержание грамицидина и недоступность препаратам инфекционных бактерий, находящихся в пленочных обрастаниях.

Грамицидин С, как и многие пептидные антибиотики, практически не вызывает привыкания чувствительных к нему микроорганизмов. Антибиотическая активность грамицидина С не снижается в присутствии лимфы, сыворотки, крови и гноя. Применение антибиотика ограничено только его наружным применением.

Антибактериальная и противовирусная активность серебра усиливает воздействие грамицидина С на патогенные микроорганизмы, способствует разрушению пленочных образований. В процессе исследования было обнаружено, что сочетание антибиотика грамицидин С с кластерным серебром обладает повышенной бактериостатической и бактерицидной активностью в сравнении с использованием чистого грамицидина С, благодаря чему появляется возможность уменьшить дозу антибиотика в 2–4 раза.

Целью данного исследования являлась оценка эффективности комбинации грамицидина С с кластерным серебром, оценка стабильности препарата при хранении.

В данной работе использовали водный раствор грамицидина С, который был получен из спиртового раствора с поливинилпирролидоном (ПВП). Эффективность и стабиль-

ность водного раствора грамицидина С проверяли на бактериях *S. aureus*, *Bacillus mycoides*, *Escherichia coli*. Показано, что антибактериальная активность водного раствора грамицидина С аналогична активности антибиотика, полученного при разведении спиртового раствора.

Показано, что препарат, содержащий в качестве действующих веществ антибиотик грамицидин С в количестве от 0,002 до 0,055% и кластерное серебро (0,007–0,1%), обладает высокой антибактериальной активностью в отношении патогенных микроорганизмов. В качестве вспомогательных веществ в состав композиции включен ПВП, который обеспечивает стабильность данной композиции при хранении при комнатной температуре в течение длительного времени.

Работа выполнена в рамках ГЗ 4/19 и договора ПФК/02.15/18 (ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» – ПФК «Обновление»).

Изучение противовирусной активности образцов на основе бактерий в отношении вируса осповакцины (*Vaccinia virus*) в культуре клеток Vero

Пучкова Л.И., Андреева И.С., Мазуркова Н.А., Филиппова Е.И., Шишкина Л.Н.

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»», р.п. Кольцово, Российская Федерация

Согласно имеющимся литературным данным, нуклеазы проявляют противовирусные свойства на моделях *in vitro*. Рибонуклеазы обладают противовирусной активностью в отношении вирусов гриппа, полиомиелита, клещевого энцефалита; дезоксирибонуклеазы тормозят размножение ДНК-содержащих вирусов. Проведено исследование противовирусной активности 15 экспериментальных образцов на основе культуральной жидкости (КЖ) вновь выделенных штаммов бактерий рода *Serratia* и *Bacillus*, обладающих РНКазной и ДНКазной активностями, на культуре клеток Vero в отношении вируса осповакцины (ВОВ). Для приготовления препаратов штаммы культивировали в жидкой среде LB на термостатированной качалке при температуре 37°C в течение 18 ч. Полученную КЖ центрифугировали при 10 000 об/мин в течение 30 минут на центрифуге JA-21 (Beckman). Надосадочную жидкость стерилизовали ультрафильтрацией через Whatman-фильтр с размерами пор 0,2 мкм и использовали для испытания в качестве противовирусного препарата. Для исследования противовирусной активности образцов бактерий использовали профилактическую схему. Разведения исследуемых образцов КЖ бактерий и вирус осповакцины готовили на питательной среде ДМЕМ (ООО БиоЛот), содержащей 2% эмбриональной сыворотки. На монослой культуры клеток Vero вносили исследуемые образцы в объеме 200 мкл/лунку в их максимально переносимых концентрациях для этих клеток. После инкубации в течение 1 ч при комнатной температуре в лунки вносили разведения ВОВ в объеме 100 мкл/лунку. Далее в лунки вносили среду ДМЕМ с 2%-й эмбриональной сывороткой. Планшеты помещали в CO₂-инкубатор при 37°C на

4–5 суток. Питательную среду удаляли, на монослой вносили раствор красителя кристаллического фиолетового. Через 30 минут краситель удаляли и монослой клеток промывали водой. Проводили подсчет бляшек в лунках и статистическую обработку полученных результатов. Показано, что ряд бактерий выделяют в среду культивирования биологически активные вещества, вызывающие снижение титра ВОВ в профилактической схеме анализа. Титры ВОВ в клетках Vero (в lg БОЕ/мл, $M \pm Sm$) в присутствии образцов: *Serratia plymuthica* Dg-98 – 6,39 ± 0,13; *Serratia plymuthica* Dg-91 – 6,47 ± 0,02; *Serratia species* Dg-94 – 6,44 ± 0,06; *Bacillus thuringiensis* Gi-466 – 6,42 ± 0,16. Титр ВОВ в контроле составил 7,13 ± 0,25 lg БОЕ/мл. Полученные результаты позволяют рекомендовать данные образцы для дальнейших более детальных исследований.

Исследование выполнено в рамках работ по теме ГЗ 7/19 Роспотребнадзора.

Регистрация случая внутриамниотической инфекции у новорожденного, вызванной возбудителем *Listeria monocytogenes*

Ракова Л.В., Астафьева Л.В.

БУЗ ВО «Вологодская областная детская клиническая больница», Вологда, Российская Федерация

Цель исследования. Провести микробиологический и эпидемиологический анализ по случаю регистрации внутриамниотической инфекции (ВАИ) у новорожденного.

На территории Вологодской области впервые в августе 2016 г. зарегистрирован случай ВАИ, вызванной *Listeria monocytogenes*, у новорожденного (мальчик Т., срок гестации 32,5 недели. Состояние при рождении тяжелое, везикулопустулез, признаки дыхательной недостаточности). При рождении проведено микробиологическое обследование биоматериала от новорожденного, определенное программой инфекционного контроля: мазка из уха, содержимого желудка, мазка из зева, содержимое везикул. Выделен возбудитель *L. monocytogenes*. При переводе в отделение БУЗ ВО «ВОДКБ» также проведено микробиологическое обследование в соответствии с программой инфекционного контроля, но роста на питательных средах не получено. Повторное обследование проводилось на 5-й день антибактериальной терапии, общая продолжительность которой составила 15 дней. Пациент выписан домой в удовлетворительном состоянии под наблюдение участкового педиатра.

Из анамнеза матери: данная беременность пятая, во второй половине беременности в 28 недель получала оперативное лечение по поводу флегмоны подчелюстной области. Данных о других острых инфекционных заболеваниях нет. Роды вторые, преждевременные в 32/34 недели. Многоводие. Околоплодные воды направлены на микробиологическое исследование, был выделен возбудитель *L. monocytogenes*.

Частота внутриутробного заражения листериозом, по данным некоторых авторов, составляет 0,15% от числа всех детей, родившихся живыми и мертвыми. Диагностика данного заболевания только по клиническим проявлениям не-

возможна, лабораторное подтверждение диагноза является обязательным.

При изучении истории родов, истории развития новорожденного, медицинской карты стационарного больного можно сделать вывод об идентичности выделенного возбудителя как у матери, так и у ребенка. Источником инфекции для новорожденного послужила мать. Путь заражения – трансплацентарный. Источник инфекции для матери неизвестен. Выделенный возбудитель был чувствителен ко всем тестируемым антибактериальным препаратам, в том числе к ампициллину, назначенному при рождении пациента.

Ранняя клиническая и лабораторная диагностика, стартовая антибактериальная терапия способствовали благоприятному исходу заболевания у новорожденного.

Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг.

Рожнова С.Ш., Кулешов К.В., Гусева А.Н., Павлова Д.Х., Кожаметова Т.А., Акулова Н.К., Подколзин А.Т.

ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»
Роспотребнадзор, Москва, Российская Федерация

Проведена оценка гетерогенности изолятов *Salmonella enterica* subsp. *enterica*, выделенных на территории РФ из образцов фекалий от пострадавших при групповых и спорадических случаях сальмонеллеза ($n = 2518$), пищевых продуктов и образцов воды ($n = 558$) в период 2011–2019 гг. с проведением серотипирования по схеме Кауфмана–Уайта и генетического субвидового типирования методом анализа набора продуктов рестрикции тотальной ДНК в пульсирующем электрическом поле – пульс-электрофореза (PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis) с использованием эндонуклеаз рестрикции XbaI и BlnI по стандартизированному протоколу PulseNet International Network, с применением программного комплекса Bionumerix 6.6 (Applied Maths, США).

Изученный комплекс изолятов дифференцировался на 73 серотипа и 601 пульс-электрофоретип. Все серотипы сальмонелл, выявленные в продуктах питания (мясо и яйца кур, индейки, свинина, говядина, рыба, многокомпонентные блюда) были представлены среди изолятов, полученных от человека. В образцах воды (сточные воды, воды открытых водоемов) были обнаружены четыре серотипа сальмонелл (Agama, Dabou, Fluntern, Konstanz), не обнаруженные в клиническом материале.

Представленность сальмонелл в клиническом материале характеризовалась высоким разнообразием серотипов (69) и пульс-электрофоретипов (449) в сочетании с выраженным преобладанием доминирующего субтипа (серотип *Enteritidis* – 71,2%, пульс-электрофоретип JEGX01.0001/JEGA26.0001 – 44,4%).

Уникальные для продуктов питания и воды пульс-электрофоретипы сальмонелл составили 25,3% (152 из 601). Наиболее высокая доля пульс-электрофоретипов, не выявлявшихся в клиническом материале, была характерна для мяса индеек (80%; 8 из 10), образцов воды (70%; 47 из 67),

мяса кур (66%; 71 из 107) и свинины (64%; 14 из 22). Соответственно на долю образцов, содержащих такие субтипы, приходилось 86% проб мяса индейки, 58% проб свинины и 40% проб мяса кур. Наибольшее разнообразие пульс-электрофоретипов отмечалось в таких типах образцов, как вода, мясо кур и свинина (инд. разнообразия Менхиника 7,1; 7,0 и 4,3 соответственно). Наиболее выраженное преобладание доминирующего субтипа – в яйцах кур, многокомпонентных блюдах и рыбе (инд. доминирования Бергера-Паркера 1,58; 1,25 и 1,11 соответственно).

Выявленные различия в представленности субтипов *S. enterica* subsp. *enterica* среди изолятов, выделенных от человека и потенциальных факторов передачи, свидетельствуют о значительной вариативности вирулентных свойств данных возбудителей и необходимости дифференцированной оценки их эпидемиологического потенциала.

Условно-патогенные энтеробактерии в микробиоценозах организма больных ревматоидным артритом

Романов В.А., Гульнева М.Ю., Малафеева Э.В.

ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», Ярославль, Российская Федерация

Грамотрицательные энтеробактерии являются одной из серьезных проблем здравоохранения в мире из-за высокой их устойчивости к антибиотикам. При ревматоидном артрите (РА), хроническом аутоиммунном заболевании, создаются условия для вовлечения условно-патогенных энтеробактерий в патологический процесс.

Проведено изучение особенностей микробиоценоза открытых биотопов организма 70 больных РА. Группу сравнения составили 40 практически здоровых лиц. Бактериологическим методом изучена микрофлора верхних дыхательных путей, мочи и кишечника с определением ее видового и количественного состава в Ig КОЕ/г испражнений.

Изменение микробиоценоза при РА проявлялось прежде всего в снижении представительства резидентной облигатной микрофлоры различных биотопов. При РА установлено распространение в открытых биотопах бактерий семейства *Enterobacteriaceae*. На слизистых оболочках носа больных РА в 8,71% случаев были обнаружены энтеробактерии родов *Klebsiella*, *Escherichia* и *Morganella*. Этиологическая структура бактериурии характеризовалась ведущей ролью кишечной палочки. Наряду с этим в моче больных были обнаружены и другие условно-патогенные микроорганизмы, которые не выделялись у лиц из группы сравнения. Так, были изолированы штаммы бактерий рода *Proteus* у 24,49%, *Klebsiella* spp. у 4,08%, *Enterobacter* spp. у 14,28% и *Morganella* – у 12,34% больных. В кишечнике условно-патогенные энтеробактерии были представлены видами *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. 30% кишечных палочек обладали гемолитической активностью ($p < 0,01$). Обнаружение в открытых биотопах бактерий семейства *Enterobacteriaceae* может являться проявлением транслокации кишечной микрофлоры в нетипичные биотопы. Увеличение представительства в различных биотопах

энтеробактерий, в состав клеточной стенки которых входит эндотоксин, активирующий различные рецепторы (Toll-подобные, CD-14), может запускать каскад реакций, приводящих к повышению уровня провоспалительных цитокинов, и поддерживать системное воспаление при РА.

Таким образом, распространение в открытых биотопах условно-патогенных энтеробактерий может играть роль в нарушении иммунного гомеостаза, в развитии аутоиммунных органоспецифических заболеваний вообще и РА в частности и должно учитываться при определении стратегии лечения.

Современные подходы к лабораторной диагностике, мониторингу природных очагов и профилактике клещевых трансмиссивных инфекций

Рудаков Н.В., Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Штрек С.В., Теслова О.Е., Блох А.И., Савельев Д.А., Зеликман С.Ю.

ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Российская Федерация

Территория России эндемична по целому ряду клещевых трансмиссивных инфекций (КТИ) вирусной, бактериальной и протозойной этиологии. Актуальность КТИ обусловлена высокой заболеваемостью, связанной с численностью и частотой контактов населения с переносчиками, их инфицированностью боррелиями, риккетсиями и вирусами, недостаточными мерами этиотропной и неспецифической профилактики, диагностики и лечения.

Анализ эпидемической ситуации по восьми регистрируемым КТИ показал территориальную неравномерность распределения заболеваний населения, различную степень риска заражения, а также сочетанность природных очагов. Иксодовые клещевые боррелиозы и клещевой энцефалит занимают ведущие места по уровню заболеваемости и социально-экономическому ущербу среди КТИ в России, в Сибирском и Дальневосточном федеральных округах существенную долю составляют заболевания сибирским клещевым тифом.

Для сравнительной оценки степени эпидемической опасности (риска) по КТИ проведено ранжирование субъектов РФ по среднемноголетним показателям заболеваемости за период 2002–2018 гг. с выделением эпидемиологических зон низкого, среднего, выше среднего, высокого уровня заболеваемости. Градацию оценочной шкалы уровней заболеваемости проводили с использованием методики определения доверительных интервалов медианы. Различия в интенсивности эпидемического процесса на различных территориях требуют территориально-дифференцированного риск-ориентированного подхода к проведению профилактических и противоэпидемических мероприятий.

В основу эпидемиологического надзора, диагностики и профилактики КТИ должен быть положен комплексный подход, включающий мониторинг паразитарных систем, в т.ч. оценку геновидового разнообразия патогенов и переносчи-

ков; слежение за интенсивностью эпидемического процесса и прогнозирование неблагоприятных тенденций; внедрение в практику современных алгоритмов лабораторной диагностики с использованием экспресс-методов, позволяющих оценивать степень риска развития заболевания после контакта с переносчиком с целью назначения адекватной превентивной терапии; оптимизацию мер своевременной профилактики с учетом различной степени риска заражения населения и дифференцированного подхода к превентивной индивидуальной профилактике.

К вопросу о лабораторной диагностике и верификации клещевых риккетсиозов

Рудаков Н.В., Штрек С.В., Шпынов С.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е., Решетникова Т.А., Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Зеликман С.Ю.

ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Российская Федерация

На территории России и Казахстана циркулируют не менее восьми видов риккетсий группы клещевой пятнистой лихорадки, патогенность, иммуногенность и широта распространения которых изучены недостаточно. Официально регистрируют только две нозологические формы клещевых риккетсиозов (КР) – сибирский клещевой тиф (СКТ) в Уральском, Сибирском и Дальневосточном федеральных округах и астраханская пятнистая лихорадка в Астраханской области.

Одна из причин – крайне ограниченные возможности лабораторной диагностики КР в условиях рутинной медицинской практики. Даже комплексное использование РНИФ и ПЦР в очагах СКТ с высоким риском инфицирования *Rickettsia sibirica* не позволяет получить подтверждение диагноза почти в каждом третьем случае, верифицированном на основе клинических и эпидемиологических данных. Патогномичным признаком КР является развитие первичного комплекса, включающего первичный аффект и регионарный лимфаденит. Первичный аффект считают специфической реакцией на внедрение *R. sibirica*, что подтверждено, в том числе, работами по идентификации возбудителя из него молекулярно-биологическими методами.

При этом отсутствуют достоверные отличия в частоте встречаемости и длительности основных проявлений СКТ между группой больных с серологическим (РНИФ/ИФА) и/или молекулярно-биологическим (ПЦР в реальном времени) подтверждением диагноза и группой больных, у которых диагноз СКТ был выставлен только на основании клинико-эпидемиологических данных на территориях, отличающихся спектром циркулирующих риккетсий и риском заражения населения *R. sibirica*.

При существующем разнообразии и недостаточной изученности риккетсий, циркулирующих в природных очагах, и современном состоянии лабораторной диагностики КР основанием для постановки диагноза «клещевой риккетсиоз» должны быть клинико-эпидемиологические признаки этого инфекционного заболевания, которое необходимо регистрировать в установленном порядке даже при отсутствии серо-

логической верификации. Для таких случаев в МКБ-10 предусмотрено два варианта кодировки: А 79.9 – Риккетсиоз неуточненный (инфекция, вызываемая риккетсиями, БДУ) и А 77.9 – Пятнистая лихорадка неуточненная (клещевой тиф, БДУ) [mkb-10.com].

Оценка чувствительности уропатогенных *E. coli* к опытной серии эшерихиозного бактериофага

Сапаева Ф.Р.¹, Кахрамонов Ф.О.²,
Джамиллов Д.Д.³, Исхакова Х.И.¹

¹Ташкентский институт усовершенствования врачей,
Ташкент, Республика Узбекистан;

²Ташкентский химико-технологический институт,
Ташкент, Республика Узбекистан;

³Республиканский специализированный научно-
практический медицинский центр, Ташкент,
Республика Узбекистан

На фоне все более расширяющейся устойчивости микроорганизмов к антибиотикам в последние годы резко возрос интерес к лечебным бактериофагам. В Узбекистане, как и в других странах постсоветского пространства, остро стоит вопрос импортозамещения. Применительно к бактериофагам это особенно актуально, поскольку хорошо известно, что активность бактериофагов во многом зависит от региона изготовления. При организации регионального производства, где приготовление фаговых препаратов идет с включением бактериофагов, активных против местных штаммов микроорганизмов, обеспечивается их высокая эффективность. За последние 2 года в республике организовано и функционирует производство стафилококковых и дизентерийных лечебных фагов (ООО «Aziya Immunopreparat»), в процессе разработки сальмонеллезный и эшерихиозный бактериофаги.

Цель исследования. Определить чувствительность местных уропатогенных штаммов *Escherichia coli* к опытной серии эшерихиозного бактериофага регионального производства.

Материалы и методы. Всего был исследован 91 уростамм *E. coli* – изоляты, выделенные в диагностических титрах (10^{4-5} КОЕ и выше) из мочи больных с инфекцией мочевыводящих путей 2 разных лечебных учреждений – Республиканского Центра Урологии МЗРУз (РЦУ) и отделения урологии 1-й городской больницы г. Ташкента. Все культуры были проверены по биохимическим свойствам и чувствительности к антибиотикам. Резистентность к антибиотикам проверялась согласно рекомендациям EUCAST (2018). Чувствительность уропатогенных эшерихий к бактериофагу определялась методом стекающей капли по Отто, концентрация микроорганизмов в инокуляте на плотном питательном агаре составляла $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Для определения специфичности бактериофага применяли тот же метод с музейными клиническими штаммами: *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa*. Оценку активности бактериофага вели согласно Методическим рекомендациям РФ 2014 г. по пятибалльной шкале.

Результаты. Полное отсутствие лизиса при воздействии бактериофага наблюдалось в среднем у 30,8% штаммов эшерихий, неэффективность фага была более высокой в 1-й городской больнице (35,3%) по сравнению с РЦУ (28,1%). Все остальные изоляты *E. coli* обладали разной степенью выраженности лизиса. Известно, что для фаготерапии рекомендуется использовать бактериофаг, вызывающий полный лизис культуры (++++), а также если в зоне лизиса имеются единичные колонии вторичного роста (+++). Такие штаммы составляли около трети испытанных изолятов – в среднем 28,6% (в разных ЛПУ 24,6% и 35,3%). Формирование в зоне лизиса большого количества колоний *E. coli* вторичного роста (++) и (+) наблюдалось в среднем у 40,6% штаммов, причем в РЦУ этот показатель был выше, чем в городской больнице (47,3% и 29,4%). При дальнейшем совершенствовании отечественного эшерихиозного бактериофага надо учитывать этот фактор и адаптировать фаг к изолятам *E. coli*, выделенным от больных из различных областей республики. Большинство исследованных штаммов эшерихий по фенотипу принадлежало к продуцентам бета-лактамаз расширенного спектра, продуценты карбапенемаз встречались значительно реже. Особый интерес вызвали 6 штаммов *E. coli*, выделенные в РЦУ, и 4 штамма от больных городской больницы. Все они были высокочувствительны к бактериофагу и одновременно резистентны к 3 базовым цефалоспорином (цефотаксим, цефтазидим, цефтриаксон) и к двум или трем базовым карбапенемам (имипенем, меропенем, эртапенем). При определении специфичности бактериофаг не лизировал другие грамотрицательные бактерии – 4 вида из семейства *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Вывод. Разрабатываемый в Узбекистане эшерихиозный бактериофаг требует дальнейшего совершенствования путем введения новых местных рас (или адаптации имеющихся) для расширения спектра лизирующей активности и с учетом активности в отношении полирезистентных эшерихий.

Фенотипический полиморфизм бактерий группы кишечной палочки как объективный индикатор изменения качества пресноводных водоемов

Сидорова Н.А., Савушкин А.И., Кучко А.А.

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет», Петрозаводск, Российская Федерация

Эпидемиологическая и экологическая безопасность внутренних водоемов для водопользования складывается из целой серии объективных параметров, среди которых функциональная активность колиформ занимает одно из ведущих мест. В составе водных биоценозов бактерии подвергаются постоянному воздействию комплекса абиотических и биотических факторов, что приводит к фенотипической изменчивости видов и зачастую провоцирует образование новых вариантов возбудителей инфекций [Иванов, Бойцов, 2000].

Для изучения фенотипического полиморфизма колиформ в составе микрофлоры водоемов бассейна Онежского озера

использованы виды родов *Citrobacter*, *Escherichia* и *Klebsiella*, идентифицированные по схеме Комплекса тестов для дифференцировки отдельных родов бактерий группы кишечных палочек (ТИМАЦ) с частичным применением СИБ согласно Инструкции по применению систем бумажных индикаторов для идентификации микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* (2003).

В качестве фенотипических маркеров использованы ключевые ферменты, контролирующие биохимическую активность колиформ, и изоферменты: глутаматоксалаттрансаминаза, эстераза, супероксиддисмутаза, щелочная фосфатаза и алкогольдегидрогеназа. В исследуемых водоемах доля колиформных бактерий рода *Citrobacter* изменялась от 10 до 25%, *Enterobacter* – от 16 до 23%, *Escherichia* – от 4 до 39%, *Klebsiella* – от 11,5 до 22%.

Выделены атипичные по биохимическим свойствам штаммы; анализ изоферментов дал возможность изучить генетическую структуру колиформ и оценить величину генетических различий в пределах вида. Преобладали варианты с выраженной супероксиддисмутазной активностью (38,9%). Наибольшее разнообразие по спектру изоферментов установлено для представителей рода *Escherichia*. Полученные результаты позволяют сделать вывод о серьезной перестройке сообществ бактерий группы кишечной палочки в исследуемых водоемах.

Актуальные вопросы планирования лабораторной базы при возникновении очага холеры в Республике Крым и г. Севастополе

Ситникова А.Л., Зинич Л.С., Пидченко Н.Н., Тихонов С.Н.

ФГКУЗ «Противочумная станция Республики Крым»
Роспотребнадзора, Симферополь, Российская Федерация

Для Республики Крым и г. Севастополя готовность лабораторной базы к репрофилированию на случай проведения лабораторной диагностики в очаге холеры является актуальной из-за возможного заноса токсигенных холерных вибрионов с последующим распространением. Последний завоз токсигенных холерных вибрионов, получивший эпидемическое распространение, в Крыму зарегистрирован в 1994–1995 гг. В 2010 г. в Ялте был обнаружен возбудитель холеры в объектах окружающей среды, без регистрации случаев заболевания у людей.

При проведении оценки готовности бактериологических лабораторий медицинских организаций и филиалов Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Крым и г. Севастополе выявлены проблемные вопросы, которые требуют уточнения при корректировке нормативно-методической документации:

1. Расчет мощности лаборатории. Лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии и филиалов для определения мощности берут за основу свои фактические возможности с увеличением их на 20%, что не может учитывать реальные потребности территории. В бактериологических лабораториях медицинских организаций для расчета мощности используют количество требуемых коек в госпитальной базе (хо-

лерный и провизорный госпиталь, изолятор), при этом существующая формула расчета провизорных коек содержит неточности и приводит к ошибочному определению потребности в койках и, следовательно, в лабораторных исследованиях (целесообразно использовать для расчета провизорных коек среднее количество больных острыми кишечными инфекциями в месяц эпидемического подъема с увеличением примерно на 15%).

2. Определение потребности в кадрах. Из-за недочетов в определении мощности лаборатории потребность в кадрах не соответствует реальным нуждам (чаще занижена). В большинстве бактериологических лабораторий имеется кадровый дефицит для выполнения текущей работы. Усиление кадрового потенциала должно подкрепляться определением мест проживания, договорами с другими организациями, обучением по диагностике холеры.

3. Маршрутизация исследований от больных на кишечные, капельные и другие инфекции, санитарно-гигиенические показатели. Учитывая то, что в планах репрофилирования задействуется весь имеющийся кадровый и материально-технический потенциал лаборатории, необходимо заранее определить места проведения других исследований (кроме холеры), а также определить, какая лаборатория будет проводить исследования на другие кишечные инфекции от больных холерного госпиталя, провизорного госпиталя, при необходимости – изолятора.

Таким образом, для качественного и системного планирования указанные проблемные вопросы требуют детального уточнения в нормативно-методической документации.

Анализ данных ветеринарных лабораторий по заболеваемости животных колибактериозом (эшерихиозом) за 2016–2017 гг.

Скоморина Ю.А.

ФГБУ «Центральная научно-методическая ветеринарная лаборатория», Москва, Российская Федерация

Колибактериоз, также известный как эшерихиоз, – острая инфекционная болезнь молодняка всех видов сельскохозяйственных животных (включая птиц и пушных зверей), возбудителем которой являются патогенные штаммы кишечной палочкой (*Escherichia coli*).

На протяжении многих лет колибактериоз занимает одно из первых мест по распространенности среди болезней молодняка всех сельскохозяйственных животных и регистрируется во всех регионах, независимо от времени года. В 2016 г. ветеринарными лабораториями Российской Федерации было проведено 109 844 исследования на колибактериоз и выделено 12 386 культур *E. coli*, обладающих патогенными свойствами (установлено при постановке биологической пробы и/или при проведении серологических исследований при помощи О-коли-агглютинирующих сывороток); в 2017 г. было проведено 78 609 исследований на колибактериоз и выделено 9815 культур *E. coli*.

Согласно данным ветеринарных лабораторий субъектов Российской Федерации, по результатам проведенной диа-

гностики установлено, что эшерихиоз регистрировался среди животных всех видов: крупный и мелкий рогатый скот, лошади, свиньи, птица и прочие виды животных (в том числе мелкие домашние животные). Первое место по заболеваемости колибактериозом занимают птицы – в 2016 г. из патологического и биологического материала было выделено 2208 культур *E. coli*, а в 2017 г. – 2627 культур *E. coli*, обладающих патогенными свойствами. Второе место по заболеваемости занимает крупный рогатый скот (978 случаев в 2016 г. и 853 случая в 2017 г.). В 2016 и 2017 гг., соответственно, были выделены патогенные *E. coli* у мелкого рогатого скота – 35 и 27 случаев, у пушных зверей – 94 и 33 случая, у лошадей – 5 и 6 случаев.

Распространенность генов вирулентности в клинических штаммах уропатогенных *Escherichia coli*, выделенных в 2004–2019 годах

Слукин П.В.¹, Асташкин Е.И.¹, Ермоленко З.М.¹, Слукина Н.А.¹, Ершова М.Г.², Полетаева Е.Д.², Круглов А.Н.³, Ершова О.Н.⁴, Маликов В.Е.⁵, Перепанова Т.С.⁶, Светоч Э.А.¹, Фурсова Н.К.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация;

²ГБУЗ ЯО «Инфекционная клиническая больница» Правительства Ярославской области, Ярославль, Российская Федерация;

³ООО «Национальное агентство клинической фармакологии и фармации», Москва, Российская Федерация;

⁴ФГАУ «Национальный научно-практический центр нейрохирургии им. академика Н.Н.Бурденко», Москва, Российская Федерация;

⁵ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница № 1» Департамента здравоохранения города Москвы, Москва, Российская Федерация;

⁶НИИ урологии и интервенционной радиологии им. Н.А.Лопаткина, Москва, Российская Федерация

Уропатогенные *Escherichia coli* (УПЭК) – важные патогены человека, несущие генетические детерминанты вирулентности, обеспечивающие колонизацию эпителия уrogenитального тракта, персистенцию и противодействие иммунной системе макроорганизма. Изучение распространенности генов вирулентности у УПЭК важно для расшифровки молекулярно-генетических механизмов патогенеза УПЭК.

Цель исследования. Оценка распространенности 18 генов вирулентности УПЭК и их комбинаций в клинических штаммах *E. coli*, выделенных от пациентов с урологической патологией в 2004–2019 гг.

Материалы и методы. Штаммы *E. coli* ($n = 250$) получены из урологических клиник Москвы и Ярославля, идентифицированы микробиологически и на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия). Гены вирулентности УПЭК (адгезинов *fimH*, *sfaS*, *focG*, *papG*, *afa*, токсинов *hlyA*, *cnf1*, сидерофоров *iroN*, *fyuA*, *iutA*, факторов противодействия иммунной системе макроорганизма *ompT*, *traT*, транспортного белка капсулы *kpsMT*, уропатогенного специфического белка *usp*, коли-

цина *cvaC* и острова патогенности *PAI/malX*) детектировали методом ПЦР.

Результаты. Все штаммы *E. coli* содержали хотя бы один из 18 детектируемых генов вирулентности, которые существенно различались по своей представленности: 92% штаммов содержали *fimH*, 69% – *iutA*, 71% – *traT*, 78% – *fyuA*, 63% – *ompT*, 62% – *PAI*, 52% – *usp*, 46% – *kpsMTII*, 22% – *hlyA*, 19% – *papGII*, 17% – *cnf1*, 18% – *iroN*, 14% – *afa*, 8% – *papGIII*, 6% – *cvaC*, 5% – *sfaS*, 4% – *focG*, 4% – *kpsMTIII*. Выявлено 111 вариантов сочетаний генов вирулентности. Наиболее часто выявлялись два варианта: (*fimH*, *iutA*, *fyuA*, *ompT*, *traT*, *kpsMTII*, *usp*, *PAI*) в 24 штаммах и (*fimH*, *cnf1*, *hlyA*, *iutA*-*fyuA*, *ompT*, *papGII*, *traT*, *kpsMTII*, *usp*, *PAI*) в 12 штаммах, а 67 вариантов были представлены каждый в одном штамме. Подавляющее большинство штаммов (84%) содержали 4–9 генов вирулентности. Самые большие по количеству генов вирулентности наборы, содержащие по 13 генов, детектированы в двух штаммах: в одном (*fimH*, *hlyA*, *cnf1*, *iroN*, *fyuA*, *sfaS*, *focG*, *ompT*, *papGIII*, *traT*, *kpsMTII*, *usp*, *PAI*), в другом – (*fimH*, *hlyA*, *cnf1*, *iroN*, *fyuA*, *sfaS*, *focG*, *ompT*, *papGIII*, *traT*, *kpsMTII*, *usp*, *PAI*).

Выводы. В изучаемых урологических штаммах наиболее часто детектируемым геном среди адгезинов был *fimH*, среди сидерофоров – гены *fyuA* и *iutA*, часто определялись гены противодействия иммунитету – *ompT* и *traT*, а также ген уропатогенного специфического белка *usp*, более половины штаммов несли острова патогенности *PAI/malX*. Только 1/5 часть штаммов имели гены токсинов *hlyA* и *cnf1*. В данном исследовании выявлена значительная генетическая гетерогенность штаммов *E. coli* по представленности генов вирулентности УПЭК, которая отражает широкое внутривидовое разнообразие уропатогенных эшерихий.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Оценка бактерицидной активности наноповерхностей, модифицированных соединениями бора

Слукин П.В., Волошин А.Г., Тедиков В.М., Фурсова Н.К., Игнатов С.Г.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

Разработка и изготовление биосовместимых антибактериальных поверхностей по-прежнему остается актуальной задачей, решение которой позволит значительно улучшить качество здравоохранения и жизни человека.

Цель исследования. Оценка бактерицидной активности наноповерхностей, модифицированных соединениями бора, для госпитальных штаммов.

Материалы и методы. Штаммы *Escherichia coli* K-261 и *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. В эксперименте для каждого штамма использовали 4 типа образцов с разным содержанием бора: (8% В), (11% В), (15% В), (11% В₂O₃). Оценка бактерицидной активности проводили путем высева бактерий на твердые питательные среды с последующим подсче-

том колониеобразующих единиц (КОЕ) и анализом флуоресцентных изображений бактерий, окрашенных акридиновым оранжевым, с помощью микроскопа OLYMPUS BX41. Бактерицидная активность модифицированных образцов оценивалась и по образованию биопленок на поверхности.

Результаты. Для образцов с модификацией бором не обнаружена бактерицидная активность для клеток *E. coli* и *S. aureus*. Модификация поверхности V_2O_3 приводила к полной элиминации бактерий *E. coli* и *S. aureus*. Аналогичные данные были получены при анализе флуоресцентных изображений бактерий, окрашенных акридиновым оранжевым. Плотность КОЕ в биопленке штамма *E. coli* на образцах с бором составляет порядка 10^6 КОЕ/мм². Биопленка штамма *E. coli* на образцах V_2O_3 не зафиксирована. Плотность КОЕ в биопленке штамма *S. aureus* на образцах с бором составляет порядка 10^3 КОЕ/мм². Биопленка штамма *S. aureus* на образцах V_2O_3 не зафиксирована.

Выводы. Модификация наноповерхностей бором при концентрации 8, 11 и 15% не приводила к существенной инактивации бактерий. Модификация наноповерхностей V_2O_3 приводила к проявлению бактерицидного действия на планктонные клетки и биопленки штаммов *E. coli* K-261 и *S. aureus* ATCC25923.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из респираторного тракта

Смирнова М.В.¹, Артемук С.Д.¹, Белькова Е.И.¹, Мельцер А.А.¹, Куготова Д.А.², Козлова Н.С.²

¹СПГБУЗ «Городская Мариинская больница», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Цель исследования. Определить уровень устойчивости к антимикробным препаратам (АМП) штаммов *Klebsiella pneumoniae* в многопрофильном стационаре Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. В исследование включены 207 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из респираторного тракта пациентов многопрофильного стационара в 2018 г. Большая часть проб была представлена мокротой (57,0%), бронхоальвеолярный лаваж составил 42,0%, реже исследовали смывы с бронхов (1,0%). Идентификацию бактерий проводили классическими методами. Определение чувствительности выделенных штаммов к антимикробным препаратам проводили согласно клиническим рекомендациям (2015).

Результаты. Большинство выделенных штаммов *K. pneumoniae* (96,6%) оказались устойчивыми хотя бы к одному АМП, было выявлено только 7 культур (3,4%), чувствительных ко всем исследуемым препаратам. Подавляющее большинство изолятов оказались резистентными к цефалоспо-

ринам (цефотаксиму и цефтазидиму – 95,6%) и фторхинолонам (94,2%). Более двух третей штаммов (70,5%) были нечувствительны к амикацину и почти половина (41,1%) – к карбапенемам (имипенему и меропенему). Большинство выделенных культур (71,0% от числа выделенных штаммов и 73,5% от количества устойчивых изолятов) составили штаммы с множественной лекарственной устойчивостью (MDR-штаммы). Среди клебсиелл было выявлено 9 спектров антибиотикорезистентности. Почти половина штаммов (41,4%) была нечувствительна ко всем изученным АМП, включая карбапенемы, то есть обладала фенотипом экстремальной резистентности. Следующими по распространенности оказались изоляты со спектрами одновременной устойчивости к аминогликозидам, цефалоспорином и фторхинолонам (29,9%) и цефалоспорином и фторхинолонам (22,2%). Значительно реже встречался спектр устойчивости к цефалоспорином, фторхинолонам и карбапенемам (1,9%). Остальные пять спектров антибиотикорезистентности были представлены отдельными штаммами.

Выводы. Большинство штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из респираторного тракта пациентов многопрофильного стационара, оказались антибиотикорезистентными, с преобладанием MDR-культур. Распространение в стационаре клебсиелл с фенотипом экстремальной резистентности является опасным прогностическим признаком, свидетельствующим о значительном сужении группы препаратов выбора для лечения инфекций, вызванных такими штаммами, которые ограничиваются в настоящее время, по данным ряда авторов, всего несколькими АМП, в частности полимиксином, колистином и тигециклином.

Выделение бактериофагов, активных против сальмонелл, вызывающих заболевания птиц на сельскохозяйственных производствах

Соловьянова Н.А.¹, Андреева И.С.¹, Березин С.С.², Боженова М.В.^{1,3}

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор»», р.п. Кольцово, Российская Федерация;

²ООО «Сифаф», р.п. Кольцово, Российская Федерация;

³ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный аграрный университет», Новосибирск, Российская Федерация

Сальмонеллез является наиболее распространенным зооантропонозом. Активная терапия антибиотическими препаратами на животноводческих комплексах приводит к появлению резистентных возбудителей и снижает эффективность лечения сальмонеллезных инфекций. Перспективной альтернативой антибиотикам являются бактериофаги, действие которых основано на лизисе бактерий.

Цель настоящей работы состояла в выделении штаммов бактериофагов, активных против сальмонелл, вызывающих заболевания птиц на птицефабриках.

В работе использовали 7 штаммов бактериофагов, 20 культур энтеробактерий, выделенных из образцов подстилки, применяемой на птицеферме, и типовые тест-

штаммы *Serratia marcescens* B-1, *Salmonella typhimurium* B-581, *Escherichia coli* B-655, *Salmonella abony* B-1364 из состава Коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Бактерии культивировали на жидкой и агаризованной среде LB (США, Difco), при pH среды 7,0–7,2 и температуре 37°C. Антибиотикоустойчивость бактерий определяли диско-диффузионным методом. Идентификацию выделенных культур проводили стандартными методами, используя дифференциально-диагностические среды Эндо, Левина, Плоскирева, SS-агар, висмут-сульфит- и ГРМ-агар. При определении биохимических свойств применяли также молочный и кровяной агары, среды Гисса, Симмонса, МакКонки. Эффективность бактериофагов относительно штаммов сальмонелл определяли титрованием на плотной питательной среде.

Из 20 штаммов выделенных энтеробактерий 11 штаммов были идентифицированы как принадлежащие к роду *Salmonella*. Изолированные из подстилки бактериофаги отличались морфологией негативных колоний и специфической активностью относительно выделенных и типовых культур сальмонелл. Фаг № Ph-04, проявивший литическую активность относительно 12 из 24 использованных в опыте штаммов энтеробактерий разной видовой принадлежности, является наиболее перспективным для дальнейшего изучения в составе комплексных препаратов для подавления и профилактики сальмонеллезных инфекций на сельскохозяйственных производствах.

Работа выполнена в рамках ГЗ 4/19 и договора 06/2018 от 03.10.2018 (ООО «СИБАФ» – ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора).

Разработка мазей на основе липосом, загруженных антимикробной субстанцией штамма *Pseudomonas chlororaphis* VSK26A3

Сомов А.Н., Дунайцев И.А., Клыкова М.В., Жиглецова С.К., Кондрашенко Т.Н., Борзилов А.И.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Российская Федерация

В связи с проблемой антибиотикорезистентности клинически значимых микроорганизмов внимание исследователей привлечено к получению новых антимикробных веществ и созданию новых лекарственных форм, позволяющих пролонгировать действие антимикробных субстанций (АМС) и снижать их дозировку. Распространенным способом защиты АМС от разрушения в биологических средах является инкапсулирование. В последние годы для инкапсулирования различных видов лечебных средств часто используются липосомы.

Из культуральной жидкости (КЖ) почвенной бактерии *Pseudomonas chlororaphis* Vsk-26a3 при помощи эксклюзионной хроматографии на сорбенте Sephacryl S-300HR (GE Healthcare Life Sciences) были выделены две основные активные фракции – β и γ . С привлечением комплекса методов (тонкослойная и газовая хроматографии, ИК- и УФ-

спектрометрия, хроматомасс-спектрометрия) установлено, что основными действующими антимикробными веществами фракций являются диацетилфлороглюцин, феназины, аминокгликозиды, полипептиды.

Имея в виду потребность в новых средствах борьбы с раневыми инфекциями, разработаны экспериментальные образцы мазевых препаратов на основе полимерных гидрогелей, содержащих инкапсулированные в липосомах β - и γ -фракции АМС Vsk26a3, обладающие широким спектром антимикробной активности. Препараты испытаны *in vitro* на культурах *Staphylococcus aureus* и *Xanthomonas campestris*. Полученные результаты свидетельствуют об удовлетворительной диффузии АМС Vsk26a3 как из микрочастиц (липосом) в мазевую основу, так и далее из мазевой основы в среду, контаминированную микробными патогенами.

Разработанные препараты на основе β - и γ -фракций были оценены на мышинной модели кожного поражения патогенным штаммом стафилококка *S. aureus* 783 из коллекции микроорганизмов ФБУН ГНЦ ПМБ. Подкожное введение препарата β -фракции предотвращало образование гнойной раны у 50% мышей, инфицированных *S. aureus* 783. Введение мышам γ -фракции препятствовало генерализации стафилококковой инфекции у 100% леченых мышей.

Таким образом, показана возможность применения полимерных гидрогелей для иммобилизации активных фракций, полученных из КЖ штамма Vsk-26a3, и последующего использования препарата при лечении инфицированных ран и контаминированных бактериями слизистых оболочек. Разработаны лабораторные технологии приготовления иммобилизованных форм антимикробных препаратов на основе АМС Vsk26a3 с использованием липосом. Новая форма липосомального препарата, содержащего АМС Vsk26a3, потенциально представляет практический интерес для лечения раневых поверхностей кожных покровов и слизистых оболочек, контаминированных микробными патогенами, что подтверждено испытаниями *in vivo* на модели кожно-мышечной инфицированной раны у мышей.

Адгезивные свойства пробиотических штаммов *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

Стоянова Л.Г., Дбар С.Д.

ФГОУ ВПО «Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова», Москва, Российская Федерация

Молочнокислые бактерии (МКБ) являются постоянными обитателями желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), способны успешно конкурировать с гнилостными бактериями, обитающими в кишечнике, могут служить альтернативой антибиотикам при борьбе с полирезистентными штаммами – возбудителями госпитальных инфекций.

Цель исследования. Изучение адгезивных свойств пробиотических штаммов *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* при культивировании их на абиотической поверхности.

Материалы и методы. Шесть штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 729, F-116, 4594, 1605, 194С, 194, F-119 и K-205, выделенных из лечебно-профилактических молочных продуктов и полученных методом клеточной инженерии, иден-

тифицированы микробиологическими методами и методом секвенирования гена *p16S*. Пробиотические показатели оценивали по антимикробному действию, устойчивости к условиям ЖКТ и антиоксидантной активности. Для изучения адгезивных свойств лактококки выращивали на плотной питательной среде MRS-агар и жидкой питательной среде MRS-бульон. При исследовании адгезивной способности использовали лабораторную линию CaCo-2 (ATCC HTB 37). При приготовлении монослоя CaCo-2-клеток использовали 6-луночные планшеты со специальной поверхностью для культивирования клеток (Jet Biofil, США). Монослой контролировали подсчетом клеток в камере Горяева. Перед экспериментом среду удаляли и клетки промывали раствором Версена 0,02% (ООО «БиолоТ», СПб). Наличие бактериальной биопленки на абиотических поверхностях фиксировали в соответствии с опубликованным ранее методом Диденко и др., 2015.

Результаты. Изучение антимикробного спектра действия штаммов *L. lactis* ssp. *lactis* показало, что они подавляли рост грамположительных бактерий *Bacillus coagulans*, *Staphylococcus aureus*, грамотрицательных бактерий *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., а также дрожжеподобных грибов *Candida albicans*, что является редким биологическим свойством для природных штаммов этого подвида. Показано, что плотность культуры в MRS-бульоне после 24 ч культивирования в бескислородной среде достигала $\sim 10^8$ КОЕ/мл, а на полипропиленовой поверхности купонов штаммы формировали биопленки, значения плотности КОЕ в которых составляли $\sim 10^2$ – 10^3 КОЕ/мм². Данные по адгезии показали, что штаммы *L. lactis* способны к формированию биопленок с плотностью 10^2 – 10^3 КОЕ/мм² на полипропиленовых поверхностях при культивировании в жидкой питательной среде в бескислородных условиях. Штамм 194 (GenBank: DQ255954.1C), выделенный из коровьего молока Бурятии, формировал биопленку с наибольшей плотностью ($7,17 \times 10^3$ КОЕ/мм²), а штамм 729 (GenBank: EF 102814), выделенный из коровьего молока Московского региона, – с наименьшей плотностью ($1,10 \times 10^2$ КОЕ/мм²).

Выводы. Уникальные свойства лактококков, как-то: широкий спектр бактерицидного и фунгицидного действия, отсутствие токсичности и наличие адгезивных свойств, позволяют рекомендовать их для применения в составе комплексной антибиотикотерапии при борьбе с полирезистентными штаммами госпитальных инфекций.

Использование вертикального электрофореза для определения мажорных антигенов возбудителя *Burkholderia pseudomallei*

Стрельникова О.И.

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Цель исследования. Определение антигенных фракций *Burkholderia pseudomallei* в составе водно-солевых экстрактов (ВСЭ) с помощью электрофореза.

Материалы и методы. Использовали водно-солевые экстракты возбудителя мелиоидоза из коллекции лаборатории иммунодиагностики ФКУЗ Волгоградского научно-исследовательского противочумного института. Для выбранных антигенных препаратов определяли оптическую плотность и концентрацию белка на спектрофотометре Cintral 202. Пробы фракционировали в электрофоретической ячейке из набора «Mini-PROTEAN 3» производства «Bio-Rad Laboratories, inc.» по методу U.K. Laemmli. В качестве стандарта молекулярных масс был выбран набор маркерных белков 14,4–97 kDa (ООО «Хеликон», Москва). Для выявления общего антигенного профиля полученные образцы окрашивали спирто-водным раствором Coomassie R-250 и коммерческим набором нитрата серебра «Silver Staining Kit Protein»® («GE Healthcare», Швеция). Для определения молекулярной массы полученных белковых фракций вычисляли значение электрофоретической подвижности. Электрофореграммы сканировали с помощью «Epson expression™ 10000 XL» («Epson»).

Результаты. Комбинированное окрашивание полиакриламидных гелей растворами Coomassie R-250 и нитратом серебра позволило определить молекулярные массы прошедших электрофоретическое разделение белковых компонентов и выявить наличие в составе всех ВСЭ мажорных антигенов с м.м. около 97, 66,2, 45, 31, 21,5 и 14,4 kDa. В ходе эксперимента отмечено, что белки эффективнее взаимодействуют с нитратом серебра и проявляют более интенсивную окраску белкового профиля.

Выводы. Результаты исследования в области специфичности и чувствительности электрофореза подтвердили эффективность использования данного метода для разделения антигенных препаратов. В последующем рекомендуется продолжить эксперименты для выявления отдельных антигенных фракций методом иммуноблоттинга.

Вопросы совершенствования оценки качества живых бактериальных вакцин при определении их контаминации

Суханова С.М., Саяпина Л.В.

ФГБУ «Научный центр средств экспертизы изделий медицинского применения» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Проведен анализ методик, используемых для оценки отсутствия посторонних микроорганизмов в живых бактериальных вакцинах для парентерального введения. В Российской Федерации зарегистрированы 7 препаратов живых бактериальных вакцин, предназначенных для профилактики чумы, сибирской язвы, бруцеллеза, туляремии и туберкулеза. Учитывая, что безопасность живых бактериальных вакцин, в первую очередь, определяется отсутствием микробной контаминации, при выпуске продукции необходимо строгое соблюдение правил GMP.

В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи (ГФ) СССР отсутствие контаминации в вакцинах определяли по показателю «Стерильность». При оценке качества живых бактериальных вакцин под стерильностью

подразумевают отсутствие контаминации бактериями и грибами. Вместе с тем живая культура вакцинного штамма в питательной среде вызывает специфический рост в виде мутности, осадка и хлопьев, что не соответствует требованиям испытания на стерильность. Анализ ГФ СССР X и XI вып., ГФ РФ XIII, XIV изд. и действующей нормативной документации производителей показал, что для оценки качества бактериальных вакцин в отношении наличия посторонней микрофлоры отсутствует единое наименование показателя («Отсутствие посторонних микроорганизмов», «Отсутствие посторонней микрофлоры» или «Отсутствие посторонних микроорганизмов и грибов»). При этом оценка качества готовых препаратов в отношении отсутствия в них, помимо посторонних бактерий и грибов, других микроорганизмов, в частности вирусов, и микоплазм не предусмотрена. Выявленные несоответствия в наименовании показателя качества и отсутствие детального описания методики и порядка учета результатов приводят к затруднениям при оценке их микробиологического качества. При сравнительном рассмотрении требований фармакопейной статьи (ФС) и нормативной документации (НД) производителей также выявлены методические недоработки и расхождения, затрудняющие проведение оценки и получения объективных результатов.

Таким образом, выявлена необходимость совершенствования нормативной базы в части требований к проведению испытания вакцин по выявлению контаминации посторонними бактериями и грибами. В качестве основных направлений необходимо рассматривать проведение предварительной оценки пригодности выбранной методики, включая определение возможного антимикробного действия исследуемого препарата, а также необходимости пробоподготовки и пересева. Для оценки качества вакцин на отсутствие контаминации бактериями и грибами следует применять требования к порядку учета и интерпретации результатов, позволяющие дифференцировать рост микроорганизмов-контаминантов и вакцинного штамма. В качестве показателя целесообразно использовать единое наименование – «Отсутствие посторонних бактерий и грибов», согласующееся с рекомендациями ВОЗ и Европейской фармакопеи («Bacterial and fungal contamination»).

Апробация экспериментального ПЦР-теста «Реал-Бест *Francisella tularensis*» для выявления ДНК *Francisella tularensis* в полевом материале

Сынгеева А.К.¹, Куликалова Е.С.¹, Бондаренко Е.И.², Мазепа А.В.¹, Наумова К.В.¹

¹ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация;

²АО «Вектор-Бест», Новосибирск, Российская Федерация

Совершенствование лабораторной диагностики инфекционных болезней предусматривает внедрение высокотехнологичных подходов, таких как ПЦР в режиме реального

времени. Предлагаемая лабораторная версия ПЦР-теста «Реал-Бест ДНК *Francisella tularensis*» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) для обнаружения гена *tul4 F. tularensis* в режиме реального времени, имеющая в своем составе готовую реакционную смесь (ГРС) и лишенная недостатков электрофоретических тест-систем, является актуальной для апробации в диагностических целях.

Цель исследования. Провести оценку чувствительности и специфичности тест-системы. Апробировать ПЦР-тест «Реал-Бест ДНК *Francisella tularensis*» для обнаружения ДНК *F. tularensis* в полевом материале.

Объекты исследования. ДНК референсных штаммов и штаммов *F. tularensis*, выделенных на территории Сибири и Дальнего Востока; ДНК гетерологичных штаммов и полевого материала, добытого при мониторинге природных очагов Сибири и Дальнего Востока (100 проб органов мелких млекопитающих, 100 проб воды, 100 проб/1560 экз. клещей, 24 пробы/2400 экз. комаров). Исследуемые образцы ДНК в объеме 30 мкл вносились в пробирки с ГРС и амплифицировались на термоциклере «CFX 1000» («Biorad», США).

Результаты. Оценка концентрационной чувствительности проводилась в концентрации от 10^1 м.к./мл до 10^3 м.к./мл для ДНК 4 референсных штаммов *F. tularensis* четырех подвидов и 5 исследуемых штаммов, выделенных из разных источников. Для концентраций *F. tularensis* до 10^3 м.к./мл включительно чувствительность тест-системы составила 100%, для концентрации 10^2 м.к./мл. – 92%, для концентрации 10^1 м.к./мл. – 46%. Оценка специфичности с 10 гетерологичными к *F. tularensis* штаммами выявила отсутствие характерных кривых разгорания специфического зонда к ДНК возбудителя туляремии, что свидетельствует о 100%-й специфичности данного набора. Выявлено наличие положительных ДНК в пробах органов мелких млекопитающих – 10, клещей – 2, воды – 10, комаров – 9.

Таким образом, использование лабораторной версии ПЦР-теста «Реал-Бест ДНК *Francisella tularensis*» позволяет обнаруживать ДНК-маркер в референсных и музейных штаммах вида *F. tularensis*, а также в полевом материале. Подтверждена высокая чувствительность и специфичность тест-системы.

Бактериальные антигены как активаторы нейтрофилов крови больных атопическим дерматитом

Тарасова М.В.¹, Елистратова И.В.^{1,2}, Морозов С.Г.¹

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Российская Федерация;

²ФГКУЗ «Главный военный клинический госпиталь войск национальной гвардии Российской Федерации», Балашиха, Московская область, Российская Федерация

Нейтрофилы экспрессируют ряд рецепторов, отвечающих на бактериальные антигены, в частности рецепторы TLR4, отвечающие за клиренс бактерий, TREM-1, активируемые бактериальным липополисахаридом, рецепторы FR1 и FR2, определяющие хемотаксис нейтрофилов в ответ на бактери-

альный пептид fmlp (formyl-methionine-leucine-phenile), и другие. При атопическом дерматите (АД) бактерии, контаминирующие кожу больных, оказывают влияние на рецепторы клеток крови, что приводит к активации сигнальных путей и регулирует иммунный ответ, в том числе нарушение соотношения субпопуляций клеток иммунной системы, характерное для АД.

Цель исследования. Измерение экспрессии рецепторов FR1, FR2, TLR4 и TREM-1 на нейтрофилах периферической крови больных АД в стадии обострения.

Методы. 22 донора и 55 больных АД (все – мужчины 18–34 лет) добровольно подписывали форму информированного согласия на анонимное участие в исследовании. Кровь брали натощак в пробирки с ЭДТА, эритроциты лизировали, клетки отмывали, окрашивали моноклональными антителами и анализировали на проточном цитометре FACSCalibur. Экспрессию рецепторов измеряли в гейте нейтрофилов на канале FL-1A, определяли процент антиген-положительных клеток и интенсивность флуоресценции, отражающей относительную плотность рецепторов на клетках (в условных единицах (у.е.)). Результаты статистически обрабатывали по программе ANOVA, данные представлены как $M \pm m$. Для групп с малой выборкой использовали метод непараметрического анализа Ньюмена–Кейлса, при котором достоверные различия между группами даны как $p < 0,05$.

Результаты. Тяжесть течения АД определяли по индексу SCORAD (<20 единиц – легкое течение ($n = 15$), 30–40 единиц – средней тяжести ($n = 26$), 40–60 – тяжелое течение ($n = 14$)). Уровень экспрессии рецептора TREM-1 на нейтрофилах периферической крови был достоверно выше у больных АД легкого течения и средней степени тяжести по сравнению со здоровыми донорами ($p < 0,05$). У больных АД тяжелого течения экспрессия TREM-1 выше, чем у доноров, но ниже, чем у больных АД средней степени тяжести ($p < 0,05$). При подтвержденной бактериальной контаминации кожи у всех больных АД уровень экспрессии рецепторов TREM-1, TLR4, FR1 и FR2 был достоверно выше по сравнению с пациентами без бактериальной контаминации идентичной степени тяжести ($p < 0,05$). Экспрессия рецепторов FR1 и FR2 положительно коррелировала с хемотаксической активностью нейтрофилов периферической крови и была выше у больных АД по сравнению со здоровыми донорами. В ответ на стимуляцию fmlp *ex vivo* нейтрофилы больных АД отвечали повышением генерации супероксидного аниона.

Выводы. Экспрессия рецепторов нейтрофилов TREM-1, TLR4, FR1 и FR2, отвечающих на бактериальные антигены, повышена у больных атопическим дерматитом и положительно коррелирует с тяжестью течения заболевания.

Бактериоцины как средство терапии инфекционных заболеваний, вызываемых антибиотикорезистентными микроорганизмами

Теймуразов М.Г., Борзенков В.М.,
Суровцев В.И., Левчук В.П.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактериоцины – амфифильные пептиды (2–7 кДа), секретируемые некоторыми бактериями и обладающие антимикробными свойствами. Механизм их действия отличен от действия антибиотиков, и они могут уничтожать клетки антибиотикорезистентных штаммов. Они не аллергенны и не реактогенны, а диапазон их концентраций для проявления антибактериальной активности на два-три порядка меньше, чем у антибиотиков. Мы полагаем, что одной из основных причин, по которой они до сих пор не используются для борьбы с болезнетворными антибиотикорезистентными микроорганизмами, является очень низкий выход при получении высокоочищенных бактериоцинов (от долей до 3–4 мг на 1 л культуральной жидкости).

Цель исследования. Получение электрофоретически чистого бактериоцина, секретируемого клетками *Enterococcus faecium* и обладающего бактерицидным действием на культуру *Listeria monocytogenes* шт. 776, с выходом ~70% от общей активности в культуральной жидкости.

Материалы и методы. Культуру клеток продуцента бактериоцина *E. faecium* 1073 и тест-культуру *L. monocytogenes* 776 выращивали на MRS-среде. Для выделения и очистки бактериоцина последовательно использовали: концентрирование на полых волокнах, центрифугирование, выдерживание раствора с бактериоцином при pH 2,7, обработку изопропанолом, выпаривание спирта на роторном испарителе при 55°C и высокоэффективную жидкостную хроматографию. Для проверки чистоты бактериоцина применяли методы электрофореза и масс-спектрометрии.

Результаты. Показано, что использование методов, основанных на устойчивости бактериоцина к денатурационным воздействиям (во всех ранее опубликованных работах применяли методы, основанные на очистке белков, с выходом 3–4%), дало возможность получить высокоочищенный бактериоцин с выходом 70% от общей активности в культуральной жидкости (40 мг/1л), действующий на клетки *L. monocytogenes* шт. 776. Кроме того, в опытах *in vitro* бактериоцин уничтожал клетки 8 других штаммов *L. monocytogenes* из музея культур ГНЦ ПМБ.

Заключение. Полученные данные позволяют утверждать, что и другие бактериоцины, учитывая близость их физико-химических свойств, могут быть очищены с высоким выходом методами, основанными на устойчивости к денатурации, а сами бактериоцины могут применяться в качестве эффективного средства против инфекционных заболеваний, вызываемых антибиотикорезистентными микроорганизмами.

Оценка перспектив разработки отечественных наборов для количественного определения специфических антител к *Francisella tularensis* в сыворотках крови методом ИФА

Титарева Г.М.¹, Горбатов А.А.¹, Сибяева Э.И.², Шайхутдинова Р.З.¹, Кравченко Т.Б.¹, Нафеев А.А.², Бикетов С.Ф.¹, Мокриевич А.Н.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области», Ульяновск, Российская Федерация

В последние десятилетия наблюдаются как спорадические случаи, так и эпидемические вспышки заболевания туляремией. В отечественной практике для постановки диагноза используются серологические методы – реакция агглютинации (РА) и реакция непрямой гемагглютинации (РНГА), недостатками которых являются невысокая чувствительность и перекрестные реакции с возбудителем бруцеллеза.

Референс-центр по мониторингу за туляремией на базе ФБУН ГНЦ ПМБ решает вопросы по верификации результатов исследований, проведенных в территориальных и региональных медицинских учреждениях. Как правило, для этих целей мы используем иммуноферментный анализ, дот-иммуноанализ или дот-блот-анализ.

В октябре 2018 г. в референс-центр из ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ульяновской области» поступили сыворотки лиц с положительными серологическими результатами на туляремию для подтверждения результатов, проведенных традиционными методами РА и РНГА. Сыворотки были исследованы иммуноферментным методом с использованием в качестве антигена липополисахарида (ЛПС) туляремийного микроба, применяемого в нашем Центре для исследования сывороток людей и экспериментальных животных. Согласно нашим данным, метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью. Дополнительно сыворотки были исследованы с помощью коммерческой ИФА-тест-системы «ELISA classic *Francisella tularensis* IgG», (SERION, Германия), которая была использована в качестве референсной. Были получены сопоставимые результаты. Следует отметить, что формат коммерческих наборов SERION, позволяющий определять концентрацию антител в образцах сывороток, имеет существенные преимущества перед иммуноферментным анализом в формате определения титров антител в сыворотках. Поскольку основным компонентом коммерческой ИФА-тест-системы SERION для определения специфических антител является ЛПС туляремийного микроба, который используется и нами для сорбирования на иммунологических планшетах, очевидно, что разработка экспериментальных тестов, аналогичных тест-системе SERION, была бы целесообразна как для повышения уровня лабораторных исследований медицинских учреждениях территориального и регионального уровней, так и для создания наборов, имеющих импортозамещающее значение для отечественного рынка.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Оценка возможности использования различных линий мышей для оценки иммунопротективных свойств вакцинных штаммов *Bacillus anthracis*, имеющих различный плазмидный состав

Титарева Г.М., Комбарова Т.И., Миронова Р.И., Бахтеева И.В., Кравченко Т.Б., Гончарова Ю.О., Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Моделирование процессов сибиреязвенной инфекции на животных является актуальной проблемой. С одной стороны, у экспериментаторов ограничено количество видов лабораторных животных, на которых возможно изучать инфекционный процесс при сибирской язве, с другой – только мышинная модель позволяет проводить иммунологические исследования, направленные на выявление механизмов иммунопатогенеза. Чувствительность различных линий мышей к *Bacillus anthracis* исследовалась ранее. Было показано, что наиболее устойчивы к вакцинным штаммам мыши линии BALB/c, а мыши линии C57/BL более чувствительны. Традиционно вирулентность штаммов *B. anthracis* проверяется на нелинейных мышах, которые по чувствительности сравнимы с мышами C57/BL.

Среди вакцинных штаммов *B. anthracis* большинство имеют только плазмиду рХО1, обеспечивающую токсигенность, и лишь небольшое количество штаммов со сниженной вирулентностью обладает двумя плазмидами (рХО1 и рХО2). Считается, что иммунизация живой вакциной приводит к формированию антитоксического, антиспорового, а в случае иммунизации двухплазмидным штаммом – и антикапсульного иммунитета.

Двукратная последовательная иммунизация одноплазмидным штаммом СТИ-1 (рХО1+рХО2–) *B. anthracis* в дозе 10^3 и 10^6 КОЕ эффективно защищает от последующего заражения двухплазмидным штаммом 71/12(рХО1+рХО2+) в дозе 10^3 КОЕ мышей линии BALB/c, нелинейных мышей и мышей линии C57/BL защищает только в 46,7 и 66,7% соответственно. Иммунизация штаммом 71/12 в дозе 10 спор на мышь для нелинейных мышей и мышей линии C57/BL неэффективна, вторая иммунизация в дозе 100 спор вызывает почти 90%-ю гибель. В отличие от них мыши линии BALB/c в условиях такого же эксперимента выживают в 70%.

Таким образом, в качестве мышинной модели при исследовании иммунопатогенеза сибирской язвы оптимально использование мышей линии BALB/c, обладающих определенной устойчивостью к штаммам *B. anthracis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Экспериментальная оценка эффективности применения антисептических гелевых форм в отношении приоритетных представителей пародонтопатогенной инфекции

Трефилова Ю.А., Подпорин М.С., Ильясова С.Т., Ахмедов Г.Д., Ипполитов Е.В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Основным фактором возникновения пародонтита и гингивита большинство исследователей считают бактериальную биопленку и колонизирующую ее пародонтопатогенную микробиоту. Местное медикаментозное лечение является важным составным компонентом комплексного лечения многих стоматологических заболеваний. На современном фармацевтическом рынке существует большое количество местных и системных лекарственных препаратов, которые, обладая достаточным фармакологическим эффектом, не всегда соответствуют надлежащим потребительским свойствам, вследствие этого итоговый фармакологический эффект, которого ожидает врач, не достигается. В связи с этим весьма актуальным является исследование характеристик стоматологических гелей, их возможных комбинаций, а также качества деконтаминирующего действия в отношении приоритетных пародонтопатогенов.

Цель исследования. Экспериментальная оценка эффективности применения антисептических гелевых форм, содержащих лактоферрин и перекись водорода, в отношении приоритетных представителей пародонтопатогенной инфекции полости рта.

Материал и методы. В исследовании приняли участие 50 пациентов в возрасте от 35 до 55 лет, страдающих хроническим пародонтитом; в соответствии с критериями включения/невключения/исключения были сформированы 2 группы: 1-я контрольная (19 человек), 2-я основная (21 человек). Всем пациентам был поставлен диагноз «хронический генерализованный пародонтит» и проведено удаление зубов по показаниям. Взятие исследуемого материала для бактериологического исследования в обеих группах проводили из пародонтального кармана до операции удаления зуба, с использованием транспортной системы. Культивирование микроорганизмов проводили в биореакторе «Реверс-Спиннер RTS-1» с добавлением различных антисептических гелей. Для каждого эксперимента проводился бактериологический контроль, путем посева микробной суспензии на плотные питательные среды. Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Манна–Уитни с помощью программного пакета Biostat 9.0.

Результаты. По результатам автоматического культивирования микробных популяций отмечалось достоверное снижение прироста бактериальных клеток с добавлением различных исследуемых образцов. При применении разных антисептических гелей показатели оптической плотности развития культуры были индивидуальны для каждого микроорганизма на разных временных промежутках. Применение

комбинаций различных препаратов позволило снизить концентрацию каждого в отдельности, а также существенно минимизировать показатели резистентных штаммов. Оптимальный эффект в отношении всех пародонтопатогенных видов, включая *Porphyromonas gingivalis*, мультирезистентного штамма *Staphylococcus aureus* и дрожжевых грибов *Candida albicans* показали гели, содержащие рекомбинантный человеческий лактоферрин – фактор врожденного иммунитета, полученный методами генной инженерии (ООО «Трансгенфарма», Россия). Введение в состав геля перекиси водорода в минимальной концентрации существенно повышало активность препарата. Установлена более высокая антимикробная активность данного препарата по сравнению с традиционным бычьим лактоферрином, а также гелями, содержащими только перекись водорода.

Выводы. Полученные в ходе экспериментов данные можно использовать как обоснование тактики местного антимикробного лечения инфекционно-воспалительных заболеваний полости рта либо коррекции уже начатого лечения. Результаты эксперимента подтвердили различную эффективность исследуемых образцов в концентрациях, предлагаемых в аптечной сети. Экспериментально была показана высокая эффективность рекомбинантного человеческого лактоферрина и его комбинации с перекисью водорода в отношении изучаемых пародонтопатогенов, мультирезистентного штамма *S. aureus* и дрожжевых грибов *C. albicans*.

Культивирование штамма-продуцента и очистка автотранспортного белка YарF чумного микроба

Трунякова А.С.^{1,2}, Светоч Т.Э.¹, Шайхутдинова Р.З.¹, Копылов П.Х.¹, Дентовская С.В.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация; ²ФБОУ ВО «Пушинский государственный естественно-научный институт», Пушино, Московская область, Российская Федерация

Важную роль в стимуляции Т-клеточного иммунного ответа при чумной инфекции могут играть автотранспортеры – белки *Yersinia pestis*, способные самостоятельно экспортироваться на поверхность наружной мембраны или во внеклеточное пространство. Известно, что «passenger»-домен автотранспортеров определяет такие важнейшие функции белка, как адгезия, протеолизис, гемагглютинация. В настоящее время из группы десяти идентифицированных автотранспортеров *Y. pestis* охарактеризованы только несколько отдельных белков. Открытая рамка считывания YPO0606 штамма *Y. pestis* CO92 (2286 п.о.) кодирует YарF. Последовательность «passenger»-домена белка клонировали в составе экспрессирующего вектора pET32b(+) (Novagen) с использованием праймеров, содержащих сайты для эндонуклеаз рестрикции NdeI и XhoI, чтобы получить рекомбинантный белок с полигистидиновой концевой последовательностью, необходимой для иммунодетекции и последую-

щей очистки методом аффинной хроматографии. Созданную рекомбинантную плазмиду вводили в клетки *Escherichia coli* BL21(DE3).

При аналитической индукции клоны-продуценты YарF анализировали методом ДСН-ПААГ в восстанавливающих условиях. Было показано наличие целевого белка как в растворимой части, так и в осадке. Для получения препаративных количеств белка выбранный продуцент культивировали в лабораторном ферментере NewBrunswick объемом 2 л при температуре 37°C в жидкой аэрируемой среде LB. Клетки осаждали центрифугированием, лизировали ультразвуком и надосадочную часть в одном эксперименте и, соответственно, фракцию осадка, растворенную в 8 М мочеvine, в другом эксперименте пропускали через колонку, упакованную 25 мл TOYOPEARL Ni⁺⁺-AF-Chelate-650M с последующей элюцией целевого белка буферными растворами, содержащими имидазол. При масштабировании культивирования клеток с последующей индукцией более 90% YарF содержалось во фракции осадка, поэтому рекомбинантный белок выделяли хроматографией в растворах, содержащих 6M мочеvinu, после чего ренатурировали путем диализа и получали в растворимом виде. Пробы анализировали с помощью ДСН-ПААГ, иммуноблота и хранили при температуре –80°C. После размораживания белок терял растворимость и переходил в осадок с выраженными адгезивными свойствами суспензии в отношении гидрофобных поверхностей. Получены препаративные количества очищенного белка для изучения его протективности.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Частота встречаемости гена *rmpA* в штаммах *Klebsiella* spp., выделенных в марте 2019 года

Устюжанин А.В., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И.

ФГБУ «Уральский научно-исследовательский институт охраны материнства и младенчества» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Екатеринбург, Российская Федерация

Klebsiella spp. – условно-патогенные микроорганизмы. Ген *rmpA* связан с повышенным образованием слизи – фактором вирулентности. Так, гипермукоидный фенотип *K. pneumoniae* (*rmpA*+) в 2017 г. вызвал менингит в неонатальном отделении в г. Казани [Khaertynov K.S., 2017]. В литературе описаны случаи развития абсцессов печени, ассоциированные с выделением *rmpA*+-штаммов.

Цель исследования. Определить частоту встречаемости гена *rmpA* в штаммах *Klebsiella* spp., выделенных от детей (пробы фекалий (6)) и беременных женщин (пробы отделяемого женских половых органов (8)), обследованных в период с 11 по 29 марта 2019 г.

Материалы и методы. Исследовано 10 штаммов *K. pneumoniae* и 4 штамма *K. oxytoca*. Наличие гена *rmpA* определяли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием праймеров 5'-ACTGGG STACCTCTTGCTTCA-3' и 5'-CTTGCATGAGCCATCTTTCA-3'

(ООО «Синтол»). Детекцию продуктов амплификации осуществляли с помощью интеркалирующего красителя SYBR Green I. ДНК бактериальных клеток выделяли из взвеси суточной культуры с использованием набора ДНК-экстракт-2 (ООО «Синтол») согласно инструкции производителя.

Результаты. Ген *rmpA* обнаружен у 2 из 10 *K. pneumoniae* и не детектирован ни у одного из штаммов *K. oxytoca*. Оба штамма, обладающие геном *rmpA*, были выделены от беременных женщин, но только один из них проявлял повышенную гиперпродукцию слизи, выявленную фенотипическим методом. Оба штамма были чувствительны к тестируемым антибактериальным препаратам (ампициллин сульбактам, амоксициллин, цефотаксим, цефтазидим, гентамицин, имипенем, ципрофлоксацин), поэтому лечением врачом была назначена эффективная антибиотикотерапия, закончившаяся эрадикацией микроорганизма (повторное микробиологическое исследование после антибиотикотерапии не выявило *K. pneumoniae*).

Таким образом, выявлены 2 штамма, обладающие патогенным потенциалом. Анализ исследуемой выборки из-за ее малочисленности не позволяет делать вывод о степени распространенности *rmpA*+-штаммов в отделениях учреждения, но свидетельствует о существовании реальной возможности оперативного молекулярно-генетического мониторинга за распространением *Klebsiella* spp. с генетически детерминированными факторами вирулентности.

Оценка скорости обнаружения бактериофагов в биологических средах при профилактическом приеме секстафага беременными женщинами

Функнер Е.В.¹, Захарова Ю.А.², Федотова О.С.², Бажанова У.А.²

¹Филиал акционерного общества «Научно-производственное объединение по медицинским иммунобиологическим препаратам «Микроген» в г. Пермь «Пермское научно-производственное объединение «Биомед», Пермь, Российская Федерация;

²ФБУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Российская Федерация

Несмотря на последние достижения в родовспоможении и широкое использование современных антибиотиков, количество осложнений после оперативного родоразрешения, вызванных условно-патогенными микроорганизмами, не имеет тенденции к снижению. Гнойно-септические осложнения после кесарева сечения возникают в 13,3–54,3% случаев. В настоящее время профилактика осложнений в основном заключается в применении антибактериальных препаратов. Однако появление и широкая циркуляция антибиотикорезистентных штаммов, недостаточный эффект в отношении патогенной госпитальной микрофлоры, негативное влияние антибиотиков на состояние микробиоценоза, возможность развития лекарственной аллергии обуславливают поиск альтернативных методов профилактики гнойно-септических осложнений после абдоминального родоразре-

шения, в частности использования бактериофагов. Достоинство препаратов бактериофагов заключается в специфичности действия на соответствующие бактерии, отсутствии побочных эффектов и нарушений нормальной микрофлоры больного. Пока наибольшее распространение бактериофаги нашли в лечении кишечных инфекций, урологических заболеваний, в гнойной хирургии, но область их клинического применения постепенно расширяется. Эффективность проводимой профилактики и терапии во многом зависит от скорости достижения лечебным препаратом объекта повышенного инфекционного риска (в оперативном акушерстве органом-мишенью является матка).

Целью нашей работы явилось изучение динамики обнаружения бактериофагов в биологических жидкостях при профилактическом приеме комбинированного бактериофага беременными женщинами до операции кесарева сечения.

Материалы и методы. Применяли комбинированный бактериофаг – секстафаг (пиобактериофаг поливалентный жидкий), отвечающий требованиям ФС 42-3898-99, который представляет собой смесь фильтратов фаголизатов бактерий *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* с титром не менее 10^5 для каждого фага (производитель ФГУП «Пермское НПО «Биомед»). На наличие бактериофага исследовали кровь, мочу и околоплодные воды после профилактического приема секстафага беременными женщинами до оперативного родоразрешения (*per os* 40 мл). Забор крови производился стерильно. Для подавления роста посторонней микрофлоры в околоплодных водах и моче добавляли хлороформ, 0,25 мл на 5 мл пробы. В пробах определяли наличие фагов к 6 индикаторным культурам: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Proteus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli* по Аппельману и на твердой агаровой среде. Для усиления активности фагов в пробах использовали метод обогащения. Обнаружение бактериофагов в исследуемых пробах на твердой среде проводили по стандартной методике. Учет реакции оценивали через 18–20 ч: при наличии в исследуемой пробе бактериофага в этом месте образовывалось пятно лизиса или отдельные негативные колонии.

Результаты. На основании проведенных исследований выявилась определенная закономерность динамики выведения бактериофага через организм беременных женщин после профилактического применения секстафага до родов. В крови бактериофаги начинают обнаруживаться уже через 1 ч после приема препарата и сохраняют свою активность на протяжении 14–15 ч. В околоплодных водах бактериофаги начинают выявляться через 1 ч от приема секстафага, наибольшее их количество зафиксировано через 2 ч, и они продолжают выделяться в течение 15 часов с уменьшающейся концентрацией. В моче через 2 ч от приема препарата фаги практически не определяются, массивное их выделение с мочой происходит через 14–15 ч. Надо отметить, что не во всех пробах определяются все компоненты секстафага. Это, по-видимому, связано с лабильностью некоторых фагов и их инактивацией соляной кислотой желудочного сока, кислой рН мочи.

Таким образом, на клиническом примере показано, что при приеме секстафага *per os* бактериофаги, поступая в

кровь, быстро достигают органа воздействия – матки, а затем выделяются через мочевыводящие пути с мочой.

Полученные данные позволяют предложить применение комбинированных бактериофагов для профилактической дородовой санации беременных женщин с целью снижения послеродовых инфекций.

Анализ полногеномной последовательности уропатогенного штамма *Klebsiella pneumoniae* KPX-1

Фурсов М.В., Кисличкина А.А., Карцев Н.Н., Воложанцев Н.В., Фурсова Н.К.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Klebsiella pneumoniae – один из возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМП) у взрослых и детей. Постепенное распространение множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) к антимикробным препаратам среди уропатогенов в последние десятилетия является проблемой здравоохранения во всем мире. Анализ полногеномной последовательности позволяет создать геномный портрет штамма и оценить его патогенетический потенциал.

Цель исследования. Анализ полногеномной последовательности уропатогенного штамма *K. pneumoniae* KPX-1, выделенного от пациента с урологической инфекцией в 2016 г., для выявления генов антибиотикорезистентности, факторов вирулентности и капсульного типа.

Материалы и методы. Штамм *K. pneumoniae* KPX-1 выделен от мужчины 23 лет с хроническим воспалением мочевого пузыря. Видовую идентификацию проводили на приборах VITEK-2 (bioMérieux, France) и MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Germany). Фенотип антибиотикорезистентности определяли на приборе VITEK-2 (bioMérieux, France). Полногеномное секвенирование проводили на платформе Illumina MiSeq с использованием набора MiSeq Reagent Kits v3 (Illumina, США). Последовательности ДНК анализировали с помощью программ LaserGene (DNASTAR, США) и BLAST (blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) и ресурсов Центра геномной эпидемиологии (Center for Genomic Epidemiology, <http://www.genomicepidemiology.org/>).

Результаты. Показано, что штамм *K. pneumoniae* KPX-1 имел фенотип МЛУ, был устойчив к 7 функциональным классам антибактериальных препаратов – бета-лактамам, аминогликозидам, хинолонам, тетрациклину, нитрофурантоину, хлорамфениколу и триметоприму/сульфаметоксазолу; чувствителен к цефокситину, карбапенемам и тигециклину. В геноме обнаружены генетические детерминанты устойчивости к аминогликозидам (*rmtB*), бета-лактамам (*bla_{CTX-M-15}*, *bla_{TEM-1B}*, *bla_{SHV-33}*), фторхинолонам (*oqxA*, *oqxB*, *qepA*, *qnrS1*), фосфомицину (*fosA*), фениколам (*catA2*), сульфаниламидам (*sul2*) и тетрациклинам (*tetA*). Выявлены плазмидные репликоны: Col440I, IncFIA(HI1), IncFII, IncFII(K), IncR. Идентифицированы генетические детерминанты систем рестрикции-модификации: I типа *StySKI*, *M.Sen19211* и II типа *M.Kpn34618Dcm*. Данный штамм отнесен к категории пато-

генных микроорганизмов с вероятностью 89,4%, так как в его геноме идентифицированы 335 семейств патогенных белков (адгезины, сидерофоры и транспортные системы) и 16 – непатогенных. Определена принадлежность штамма *K. pneumoniae* KPX-1 к сиквенс-типу ST218 (аллельный профиль *gapA2*, *infB3*, *mdh1*, *pgi1*, *phoE9*, *rpoB4*, *tonB12*) и капсульному типу K57 (*wzi77*). Известно, что генетическая линия *K. pneumoniae* ST218^{K57} относится к числу широко распространенных в мире, вызывающих разные типы инфекций.

Выводы. На основании анализа полногеномной последовательности установлено, что МЛУ-фенотип уропатогенного штамма *K. pneumoniae* KPX-1 сиквенс-типа ST218, капсульного типа K57 обеспечивается наличием генов бета-лактамаз *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1B} и *bla*_{SHV-33}; 16S рРНК метилтрансферазы *rmtB*; глутатионтрансферазы *fosA*; хлорамфениколацетилтрансферазы *catA2*; дигидроптероатсинтетазы *sul2*; плазмидных детерминант резистентности к фторхинолонам *qnrS1* и эффлюксных насосов *oqxA*, *oqxB*, *qepA* и *tetA*.

Исследование выполнено в рамках гранта РНФ 15-15-00058-Р.

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, в молекулярно-генетическом аспекте

Хабалова Н.Р.¹, Кафтырева Л.А.², Бутаев А.К.¹

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РСО-Алания», Владикавказ, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Широкое распространение в лечебно-профилактических учреждениях возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), проявляющих устойчивость к антибактериальным препаратам различных групп, требует более детального изучения механизмов резистентности с помощью молекулярно-генетических методов диагностики. Наиболее уязвимой группой риска остаются пациенты отделений реанимации и интенсивной терапии и хирургических стационаров. Они чаще других категорий пациентов подвержены инвазивным вмешательствам с диагностической и лечебной целью, длительной антибактериальной терапии, что, на фоне сниженного иммунитета, повышает риск возникновения гнойно-септических осложнений, вызванных условно-патогенными микроорганизмами с выраженной антибиотикорезистентностью.

Ведущими возбудителями в этиологической структуре гнойно-септических инфекций, зарегистрированных в Республике Северная Осетия – Алания, являются *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa*, на долю которых приходится в хирургических отделениях 90,1%, в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) – 78,2%. ИСМП в хирургических отделениях и ОРИТ вызывали как чувствительные, так и резистентные штаммы микроорганизмов. Установлена высокая доля (73,9%) нечувствительных к АМП штаммов возбудителей ИСМП. В штам-

мах ведущих возбудителей ИСМП выявлена устойчивость к препаратам выбора для лечения тяжелых инфекций: 44,9% штаммов *Ps. aeruginosa* нечувствительны к карбапенемам; 25,7% штаммов *Enterobacteriaceae* – к цефалоспорином расширенного спектра; 15,6% штаммов *Staphylococcus* spp. относились к группе метициллин-резистентных и были устойчивы ко всем бета-лактамам антибиотикам. Выявлен высокий уровень резистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* к цефалоспорином 3–4-го поколения за счет продукции бета-лактамаз расширенного спектра генетической группы CTX-M1 (54,5 и 22,6% соответственно). Штаммы *Enterobacteriaceae*, возбудители ИСМП, характеризовались внутривидовой гетерогенностью по спектру резистентности к антимикробным препаратам и PFGE-профилям.

Этиологическая характеристика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в Республике Северная Осетия – Алания

Хабалова Н.Р.¹, Кафтырева Л.А.², Бутаев А.К.¹

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РСО-Алания», Владикавказ, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В Республике Северная Осетия – Алания инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), ежегодно регистрируются в виде гнойно-септических инфекций (ГСИ) новорожденных, ГСИ родильниц, послеоперационных и постинъекционных инфекций, острых кишечных заболеваний, инфекций мочевыводящих путей, вирусных гепатитов В и С, сальмонеллезных инфекций, прочих инфекционных заболеваний. Показатель заболеваемости на 1000 госпитализированных составил 0,96, что ниже данных по отдельным регионам Российской Федерации. Заболеваемость в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) и хирургических стационарах составила 31,5% от всех ИСМП и 36,4% от числа ИСМП, регистрируемых в учреждениях стационарного типа. За последние годы наблюдалась тенденция к повышению заболеваемости среди пациентов ОРИТ и хирургических стационаров. В ОРИТ и стационарах хирургического профиля послеоперационные инфекции составили 52,8% от числа ГСИ, постинъекционные инфекционные осложнения – 20,4%, внутрибольничные пневмонии, инфицирования трахеостомических отверстий и верхних дыхательных путей – 17,5%, инфекции мочевыводящих путей – 9,3%. В ОРИТ из проб биоматериала пациентов достоверно чаще изолировались штаммы *Pseudomonas aeruginosa* (45,9 из 100 исследований), бактерии рода *Staphylococcus* (20,9 из 100 исследований) и микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* (11,4 из 100 исследований). В ОРИТ суммарно на эти микроорганизмы приходилось более 2/3 всех находок на 100 исследованных проб. На другие микроорганизмы приходилось менее 2 находок на 100 исследований. В хирургиче-

ских отделениях частота выделения из биоматериала *Staphylococcus* spp. и *Enterobacteriaceae* была выше (38,7 и 37,9 из 100 исследований соответственно). Штаммы *P. aeruginosa* выделяли в 13,5 из 100 исследований, то есть в 3,5 раза реже, чем в ОРИТ. Спектр ведущих микроорганизмов отличался в зависимости от исследованного биоматериала. Из отделяемого верхних дыхательных путей чаще выделяли *P. aeruginosa* (36 из 100 исследований), *Staphylococcus aureus* (16,9) и *Escherichia coli* (9,8). Из ран чаще изолировали *S. aureus* (38,7 на 100 исследований), *E. coli* (19,3), *P. aeruginosa* (13,5), *Proteus mirabilis* (9,6), *Enterococcus* spp. (7,7) и *Klebsiella pneumoniae* (3,6). Бактериологическое исследование проб крови показало, что наиболее значимыми возбудителями являются коагулазоотрицательные стафилококки (КОС) (63,2 на 100 исследований), *P. aeruginosa* (15,2), энтеробактерии (8,6) и *S. aureus* (6,3). Ведущими микроорганизмами, выделенными при исследовании мочи, являлись: *E. coli* (18,2), *Enterococcus* spp. (17,1), КОС (16,0), *P. aeruginosa* (11,4), *S. aureus* (8,5), *K. pneumoniae* (7,4) и *P. mirabilis* (4,1 на 100 исследований).

Чувствительность к антимикробным препаратам ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в Республике Северная Осетия – Алания

Хабалова Н.Р.¹, Кафтырева Л.А.², Бутаев А.К.¹

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РСО-Алания», Владикавказ, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Ведущими возбудителями в этиологической структуре гнойно-септических инфекций (ГСИ), зарегистрированных в Республике Северная Осетия – Алания, являются *Staphylococcus* spp., *Enterobacteriaceae* и *Pseudomonas aeruginosa*, на долю которых приходится в хирургических отделениях 90,1%, в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) – 78,2%. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), в хирургических отделениях и ОРИТ вызывали как чувствительные, так и резистентные штаммы микроорганизмов. Установлена высокая доля (73,9%) нечувствительных к антимикробным препаратам (АМП) штаммов возбудителей ИСМП, зарегистрированных в РСО-Алания. 161 штамм микроорганизмов, выделенные из очагов ГСИ, были детально изучены на предмет чувствительности к АМП различных групп, рекомендованным для тестирования в соответствии с методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам от 2004 г. и CLSI от 2012 г. в НИИ ЭМ им. Пастера, с целью выявления ведущих механизмов резистентности. Исследование показало, что 26,1% штаммов были чувствительны к соответствующим АМП, 73,9% – устойчивы к одному и более АМП. Структура чувствительности 49 изученных штаммов *P. aeruginosa* пред-

ставлена пятью фенотипами резистентности. 4,1% штаммов характеризовались монорезистентностью к ципрофлоксацину; 2,0% – к карбапенемам; 34,7% – к ципрофлоксацину и карбапенемам; 4,1% штаммов обладали выраженной множественной резистентностью ко всем тестируемым АМП, за исключением амикацина. Среди энтеробактерий устойчивостью только к одному классу АМП характеризовались около 30%, к двум классам – 22,2%. Множественной устойчивостью к 3 и более классам АМП обладали 52,0%. Штаммы, устойчивые к цефалоспорином расширенного спектра (продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС)), характеризовались множественной резистентностью к 2–7 классам препаратов. Наиболее широким спектром резистентности обладали штаммы *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие БЛРС. Единственными активными АМП в отношении таких штаммов оставались карбапенемы.

Профилактика бешенства на территории Республики Северная Осетия – Алания

Хабалова Н.Р.¹, Кафтырева Л.А.², Бутаев А.К.¹

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РСО-Алания», Владикавказ, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

На территории Республики Северная Осетия – Алания заболеваемость бешенством среди людей не регистрируется с 2008 г. Ежегодно по поводу укусов животных обращаются более 3 тыс. человек, показатель заболеваемости на 100 тыс. населения – 516,8. Число укусов дикими животными в 2014 г. составило 97, в 2015 г. – 120, в 2016 г. – 108. В г. Владикавказ в 2016 г. за антирабической помощью обратилось 1488 человек (показатель заболеваемости 456,0 на 100 тыс. населения), из них детей до 17 лет – 583 (показатель заболеваемости 852,7 на 100 тыс. населения), в том числе: до 14 лет – 510 (показатель заболеваемости 879,2 на 100 тыс. населения), до 1 года – 3 (показатель заболеваемости 67,0 на 100 тыс. населения), от 1 до 2 лет включительно – 36 (показатель заболеваемости 412,2 на 100 тыс. населения), от 3 до 6 лет – 132 (показатель заболеваемости 837,1 на 100 тыс. населения), из них посещающих детские дошкольные учреждения – 73 (показатель заболеваемости 700,1 на 100 тыс. населения). Благодаря активной профилактической работе процент самовольного прерывания курса антирабической вакцинопрофилактики снизился с 18 до 2%. Среди животных, наносивших повреждения и осложнения пострадавшим, преимущественно встречались домашние декоративные грызуны (мыши, крысы, хомячки, морские свинки, кролики, нутрии и др.), обитатели зоопарков (обезьяны, медведи, гепарды, кабаны, пони, дельфины и др.), лесные животные (ежи, лисы, волки, белки, зайцы, барсуки и др.). Часто повреждения наносят домашние сельскохозяйственные животные (коровы, свиньи, лошади и др.). Из числа лиц, пострадавших от укусов животных и обратившихся за медицинской помощью в ЛПУ республики, антирабической помощью в 2016 г. было охвачено 3074 чел.

(85,7%). На стационарном лечении находились 432 человека с более тяжелыми повреждениями. Полный курс антирабиической вакцинации получили 871 чел., неполный – 1771 чел., комбинированный – 432 чел. Из числа подлежащих вакцинации (3582) самовольно прекратили вакцинацию 455 чел., из них 411 чел. – жители г. Владикавказа (за 2015 г. соответственно 490 и 443), категорически отказались от антирабиической вакцинации – 53 чел., против 70 чел. в 2015 г. За 2016 г. в республике зарегистрировано 16 очагов бешенства. Бешенство диагностировано: у 4 КРС, у 5 домашних и 2 безнадзорных собак, у 1 домашней и 2 неизвестных кошек, 1 хомяка, 1 крысы.

Изучение бактерицидной активности кожи рук после применения антисептика

Хиштова Н.С., Шеуджен А.А., Дивенко В.А., Гюлюмян Ю.Г., Толочкова А.В., Ашканов И.А.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Адыгея», Майкоп, Российская Федерация; ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», Майкоп, Российская Федерация

Прямое действие антибактериальных препаратов снижает бактерицидную активность кожи.

Оценивали бактерицидное действие кожи рук до и после воздействия антисептического препарата с экспозицией на них микроорганизмов, не свойственных биоптату. На кожу пальцев рук наносили культуры микроорганизмов в концентрации 10^8 КОЕ. Посев производился прикосновением кожи пальцев руки к плотной питательной среде через 5 и 30 минут после нанесения культур: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*.

Результаты.

1. Без применения антисептика среднее количество колоний *E. coli* после 5 и 30 минут составило 10,6 и 1,2; с применением антисептика – 16,9 и 2,6 соответственно. Произошло снижения роста микроорганизмов в 8,3 раза без антисептика и 6,5 раза с антисептиком. Бактерицидное действие кожи рук после обработки антисептиком ниже в 1,3 раза.

2. Среднее количество колоний *C. albicans* после 5 минут составило 5,1, после 30 мин – 1,0; с применением антисептика – 19,0 и 4,3 соответственно. Произошло снижение роста микроорганизмов без антисептика в 5,1 раза, с применением антисептика – в 4,4 раза. Бактерицидное действие кожи рук после обработки антисептиком ниже в 1,2 раза.

3. Среднее количество колоний *P. vulgaris* после 5 минут составило 29,1, после 30 мин – 13,9, с применением антисептика – 45,1 и 30,2 соответственно. Произошло снижение роста микроорганизмов в 2,1 раза, с антисептиком – в 1,5 раза. Бактерицидное действие кожи рук после обработки антисептиком ниже в 1,4 раза.

4. Среднее количество колоний *S. aureus* после 5 минут составило 20,8, после 30 мин – 12,4, с антисептиком – 2,1 и 0,4 соответственно. Произошло снижение роста микроорганизмов в 1,7 раза, с антисептиком – в 5,3 раза. Бактерицид-

ное действие кожи рук после обработки антисептиком выше в 3,1 раза.

Вывод. Бактерицидное действие кожи рук после их обработки антисептиком ниже в отношении грамотрицательных микроорганизмов и дрожжеподобных грибов и выше в отношении грамположительных микроорганизмов.

Особенности взятия материала и микробиологическая характеристика острого и хронического дакриоцистита

Царева В.В.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

Дакриоцистит – гнойно-воспалительное заболевание слезных желез, обусловленное нарушением проходимости слезных путей, нередко проявляющее тенденцию к хроническому течению и требующее достаточно сложных хирургических вмешательств (например, операция эндоназальной дакриориностомии).

Цель исследования. Сравнительное изучение состава микробиоты слезных путей и ее чувствительности к антибиотикам для оптимизации комплексного лечения пациентов.

Материалы и методы. Проведено исследование материалов у 60 пациентов (66 глаз), в том числе 32 с острым и 28 – с хроническим дакриоцититом. У 18 пациентов проведено хирургическое лечение – эндоскопическая риноцистостомия. Взятие материала проводили специальным адсорбером, представляющим собой эндодонтический гуттаперчевый штифт. Бактериологическое исследование включало как качественное, так и количественное исследование с использованием техники анаэробного культивирования. Основные питательные среды: 5%-й кровяной агар с геминном, хромогенные среды для аэробных бактерий и грибов (Производство Himedia Labs, Индия). Определение чувствительности к антибиотикам проводили традиционным методом дисков той же фирмы.

Результаты. Использование стандартного абсорбера для взятия материала у пациентов позволило получить сравнимые данные о количественной обсемененности материала. При остром дакриоцитите микробное число составляло $10^7 \pm 10^2$ КОЕ, при хроническом оно было почти в 2 раза ниже – $10^4 \pm 10^2$ КОЕ ($p < 0,05$). Получены также различия качественного (видового) состава микробиоты. В целом от 60 пациентов выделены представители 21 таксономической группы микроорганизмов, включая аэробных и анаэробных бактерий и дрожжевых грибов.

При исследовании гнойного экссудата, полученного у больных острым дакриоцититом, доминирующими возбудителями оказались: грамположительные кокки из группы микроаэрофильных стрептококков (21,9%), стафилококки *S. aureus* (15,6%) и *S. epidermidis* (9,4%), грамотрицательные палочки *Klebsiella* spp. (12,5%) и другие *Enterobacteriaceae* sp. (9,4%). Среди анаэробных видов преобладали грамположительные пептострептококки *P. anaerobius* (12,5%) и грамотрицательные представители родов

Porphyromonas spp. и *Prevotella* spp. (всего 9,4%). Дрожжевые грибы не выделены.

При хроническом дакриоцистите доминирующими возбудителями являлись: грамположительные кокки из группы микроаэрофильных стрептококков (25%), стафилококки (17%), грамотрицательные палочки *Klebsiella* spp. (10%) и другие *Enterobacteriaceae* sp. (10%). Среди анаэробных видов преобладали грамположительные пептострептококки *P. anaerobius* (17%) и грамотрицательные представители родов *Porphyromonas* spp. и *Prevotella* spp. (всего 28,6%). Дрожжевые грибы *Candida* spp. определены у 21,4% пациентов. Перечисленные различия были статистически достоверны ($p = 0,012-0,018$).

Все изоляты *S. aureus* были чувствительны к линезолиду, левофлоксацину, ципрофлоксацину, хлорамфениколу, ко-тримоксазолу, клиндамицину и ванкомицину, но только 90% были чувствительны к ампициллину, оксациллину и 95% – к амоксициллину/клавуланату. Все изоляты *Streptococcus* spp. были чувствительны к линезолиду, левофлоксацину, ванкомицину, но только 85,7; 85,7; 71,4 и 28,6% этих изолятов были чувствительны к ципрофлоксацину, хлорамфениколу, пенициллину и ко-тримоксазолу соответственно. Все грамотрицательные бактерии были чувствительны к цефтазидиму, а 93,9% – к ципрофлоксацину. Все изоляты *Pseudomonas aeruginosa* были чувствительны к цефтазидиму, левофлоксацину, ципрофлоксацину, гентамицину и меропенему. Все изоляты *Haemophilus influenzae* были чувствительны к цефтазидиму, хлорамфениколу и ципрофлоксацину, тогда как 90,9% – к ампициллину и амоксициллину/клавуланату, а 54,5% – к ко-тримоксазолу.

Левофлоксацин и ципрофлоксацин оказались наиболее эффективными препаратами (100,0 и 93,8% соответственно) по чувствительности как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Против грамположительных организмов наиболее эффективными были линезолид и ванкомицин (100%), за которыми следовали левофлоксацин, ципрофлоксацин и хлорамфеникол (93,3%).

Заключение. В результате микробиологического исследования с использованием специального абсорбера для взятия материала из слезных путей установлены существенные различия как по частоте выделения приоритетных патогенов, так и по степени количественной обсемененности при остром и хроническом дакриоцистите. Микробное число было достоверно выше при остром дакриоцистите, а частота выделения анаэробов, напротив, почти в 2,5 раза больше при хроническом процессе. При остром дакриоцистите грибы не обнаружены, а при хроническом выделены у 1/5 пациентов. Это позволило скорректировать назначение антибактериального препарата для периоперационной профилактики при операции эндоскопической эндоназальной дакриориностомии. Препаратами выбора с учетом чувствительности были: амоксициллин/клавулат (капсулы 875/125 мг), левофлоксацин, хлорамфеникол (глазные капли), флуконазол (400 мг) при выявлении дрожжевых грибов.

Алгоритм получения вегетативных культур *Bacillus anthracis* для экстракции протеомного комплекса, лишённого споровых белков

Цыганкова О.И., Котенева Е.А.,
Калинин А.В., Абрамович А.В.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Получение культур *Bacillus anthracis*, не содержащих спор даже на начальных стадиях формирования, диктуется необходимостью исключения споровых компонентов при получении белкового комплекса вегетативных форм бацилл для последующего изучения протеомных профилей различных штаммов.

Цель исследования. Подбор условий получения вегетативной культуры различных штаммов *B. anthracis*, не содержащей спор.

Объектом исследования служили вакцинные штаммы *B. anthracis* СТИ, 228/8, Sterne 34 F2, 55, СТИ-ПР и их культуральные варианты Δ СТИ, СТИ-II, Δ Sterne 34 F2, 228/8-II, 228/4. Спорообразование при посеве контролировали визуально в окрашенных мазках, приготовленных из культур на различных средах (LB-бульон, LB-агар, LB-агар с 5% крови, LB-агар с 4% глицерина, LB-агар с 10% инактивированной сыворотки) на определенных этапах выращивания. Определяли процентное содержание бациллярных клеток, содержащих формирующиеся споры и внеклеточно расположенные споры.

Первоначально схема включала посев спор на LB-агар (20 ч) для отбора изолированных колоний и последовательные пересевы в LB-бульон (18 ч) и на LB-агар (20 ч). Мазки, приготовленные из культуры на последнем этапе, выявили значительные различия штаммов по скорости спорообразования. У 2–16% бактериальных клеток штаммов *B. anthracis* 55, СТИ, СТИ-II, СТИ-ПР, 228/8-II, 228/4, Δ Sterne наблюдалось начало формирования спор, в то же время у штаммов Sterne 34 F2 и Δ СТИ достаточно сформированные споры наблюдались не только у 82–88% бацилл, но и располагались вне клеток.

Для дальнейшей работы были выбраны штаммы *B. anthracis* 55, Sterne 34F2, СТИ, СТИ-II с различной скоростью спорообразования. Споры засеивали в LB-бульон и помещали на 6 ч при 37°C, после чего культуру пересевали в новую порцию LB-бульона и помещали на 18 ч при 37°C. На следующий день 18-часовую бульонную культуру высевали на плотные питательные среды, инкубировали 6 ч при 37°C. При микроскопии окрашенных мазков 6-часовых культур со всех сред споры не были выявлены ни у одного из штаммов. После этого из культур готовили взвеси в дистиллированной воде и помещали при –20°C на ночь для дальнейшей обработки проб в соответствии с задачами методов.

Представленная схема обеспечивает отсутствие споровых маркеров, повышая достоверность результатов изучения протеомного комплекса вегетативных культур различных по биологическим свойствам штаммов *B. anthracis*.

Влияние индивидуальных особенностей штаммов *Bacillus anthracis* на эффективность экстракции внутриклеточных белков

Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Калинин А.В.,
Абрамович А.В., Радионов И.С.

ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Особенности строения клеточной стенки бацилл, к которым относится и возбудитель сибирской язвы – *Bacillus anthracis*, а также индивидуальные особенности поверхностных структур у отдельных штаммов и способность некоторых из них формировать капсулу на обычных питательных средах в атмосфере воздуха – все это позволяет предположить неодинаковую чувствительность к различным комбинациям воздействия на бактериальные клетки таких факторов, как ферментативное воздействие лизоцимом, лизирующие буферные растворы, содержащие поверхностно-активные и хаотропные вещества,

Цель исследования. Оценка роли индивидуальных биологических свойств штаммов *B. anthracis* в эффективности экстракции внутриклеточных белков.

Материалы и методы. В работе были использованы штаммы *B. anthracis* 1(CO), 1(CO)-5-1SM, 1(CO)-24 и ΔСТИ, которые различались по генетическим характеристикам и фенотипическим свойствам.

Нативную и предварительно обработанную лизоцимом бактериальную взвесь 20-часовой культуры лизировали в буферах, содержащих гуанидина тиоцианат или мочевины. Эффективность деструкции бактериальных клеток оценивали визуально по состоянию культуры в окрашенных мазках на различных этапах подготовки материала, а эффективность экстракции клеточного протеома – методом одномерного электрофореза по количеству полос и их интенсивности.

Результаты. Установлено, что более эффективным способом пробоподготовки была поэтапная обработка лизоцимом, отмывка от фермента культуры и ее лизис гуанидином. При использовании лизирующего буфера, содержащего мочевины/тиомочевину, предварительная обработка культуры лизоцимом уменьшала количество белковых фракций на электрофореграмме. Наиболее полно лизировались культуры: ΔСТИ, обладающий ранним спорообразованием, типичный по фенотипическим свойствам 1(CO) и его вариант 1(CO)-5-1, образующий капсулу на воздухе на обычных питательных средах. Все способы лизиса культуры 1(CO)-24, выделенного по признаку фагорезистентности к бактериофагу BA-9, были малоэффективны.

Выявленные особенности, вероятно, соответствуют различиям в физиологической фазе культур (штамм ΔСТИ находился в активной фазе спорообразования и аутолиза бактериальных клеток), особенностям поверхностных структур бактериальных клеток (фагорезистентный штамм 1(CO)-24). Культура 1(CO)-5-1 в капсульной форме не отличалась по изученным свойствам от исходного штамма 1(CO). Таким образом, необходимо учитывать индивидуальные особенности культур при выборе схемы экстракции внутриклеточных белков.

Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных из пищевых продуктов на территории Свердловской области

Чернышева О.С., Лутова А.С.,
Скорюнова Т.В., Киячина А.С.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области», Екатеринбург, Российская Федерация

Бессистемный и неоправданный прием населением антибиотиков, широкое использование антибиотиков, которые после попадают в продукты питания, в животноводстве приводят к формированию супербактерий, панрезистентных к антибиотикам. Изучение антибиотикочувствительности штаммов патогенных микроорганизмов, циркулирующих в объектах окружающей среды (ООС), в частности в продуктах питания, является одной из приоритетных задач, стоящих перед микробиологическим звеном санэпидслужбы.

Цель исследования. Изучить антибиотикочувствительность выделенных из пищевых продуктов сальмонелл.

Материалы и методы. Объектами исследования послужили 282 штамма *Salmonella* spp., выделенных из мяса птицы (67,3%), мясных полуфабрикатов (31,2%), прочих пищевых продуктов (2,5%) в 2017–2018 гг. на территории Свердловской области. Среди выделенных культур преобладали сальмонеллы гр. С (50%) и сальмонеллы гр. Д (36,2%). Выделение сальмонелл проводилось по утвержденным методикам с использованием питательных сред производства ГНЦ ПМБ г. Оболенск. Чувствительность к антибиотикам определялась на приборе Vitek 2 compact version 2.03 с применением карт AST-N102, БиоМерье, Франция и диско-диффузионным методом.

Результаты. 73,4% изученных культур сальмонелл были чувствительны к ампициллину, 92,9% – к ингибиторозащищенным пенициллинам, 97,2–98,2% – к цефалоспорином III поколения, 99,3% – к цефепиму, 97,2–99,6% – к карбапенемам, 81,6% – к фторхинолонам, 86,5% – к сульфаниламидам. Самая низкая чувствительность отмечалась к цефалоспорином I поколения (цефазолину) и аминогликозидам (гентамицину, амикацину, нетилмицину): доля резистентных штаммов составила от 96,1 до 97,2% соответственно. β-лактамазы расширенного спектра были выявлены у одного штамма *S. infantis*. Специфических случаев резистентности сальмонелл к антибактериальным препаратам не отмечено.

Выводы. Для установления определенных тенденций в формировании механизмов устойчивости патогенных бактерий к антибактериальным препаратам необходим постоянный мониторинг вышеуказанных процессов в рутинной лабораторной практике.

Перспективы использования моноклональных антител в пробоподготовке на иммуномагнитных частицах при обнаружении *F. tularensis* с помощью изотермической амплификации ДНК

Шевяков А.Г., Щит И.Ю., Ветчинин С.С., Бикетов С.Ф.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Вследствие чрезвычайно низкой заражающей дозы возбудителя туляремии решение задач по его обнаружению в различных образцах (почва, вода, животные, продукты питания), в частности, при проведении мониторинга природных очагов и расшифровке вспышек, требует от применяющихся микробиологических, генетических и иммунологических методов достижения наивысшей аналитической чувствительности. Цель настоящей работы состояла в повышении чувствительности анализа на наличие *Francisella tularensis* методом изотермической амплификации ДНК LAMP (Loop-mediate isothermal amplification) путем введения пробоподготовки с использованием иммуномагнитного концентрирования патогена на основе моноклональных антител. В работе использовались образцы с концентрацией клеток *F. tularensis* 15/10 от 10^5 до 10^0 клеток/мл. Оптимальная концентрация иммуномагнитных частиц (ИМЧ) для пробоподготовки, обеспечивающая максимальную чувствительность изотермической амплификации, составила 50 мкг на мл образца. Время инкубации с ИМЧ составило 45 минут при температуре 37°C. После осаждения ИМЧ магнитным полем проводили выделение ДНК с помощью коммерческого набора «Рибо-сорб». Для постановки LAMP использовали наборы праймеров ISFtu2. Подобраны оптимальные условия реакции (температура, концентрация и соотношение праймеров). Визуализацию результатов реакции проводили с помощью горизонтального электрофореза в агарозном геле. Чувствительность LAMP без пробоподготовки на ИМЧ составила 10^2 клеток/мл образца. Пробоподготовка на иммуномагнитных частицах позволила повысить чувствительность до 10^0 клеток/мл (единичные клетки).

Таким образом, пробоподготовка с использованием иммуномагнитных частиц позволяет значительно повысить аналитическую чувствительность реакции LAMP при обнаружении *F. tularensis*.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Идентификация протеев на отечественных питательных средах

Шепелин А.П., Полосенко О.В.

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Бактериологический метод – основной и наиболее достоверный метод диагностики протейной инфекции.

Цель исследования. Разработка новых питательных сред «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения протеев» и «Фенилаланинагар» во ФБУН ГНЦ ПМБ, определение культурально-морфологических и биохимических свойств бактерий рода *Proteus*.

Материалы и методы. Исследовано 55 тест-штаммов микроорганизмов, полученных из специализированной коллекции ГКПМ-Оболенск: 40 тест-штаммов энтеробактерий, включая *P. vulgaris*, *P. inconstans*, *P. alcalifaciens*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, 15 грамположительных тест-штаммов.

Результаты. При выделении чистых культур на плотных питательных средах возникают затруднения из-за феномена «роения», поэтому используют высокоселективные питательные среды.

Новая «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения протеев» на основе панкреатического гидролизата рыбной муки обеспечивает рост всех видов протей и четкую внутривидовую дифференциацию через 24 ч культивирования без роения в виде светло-желтых или бесцветных колоний диаметром 2–3 мм с черным центром. Желчные кислоты и полимиксин М подавляют рост микробов-ассоциантов.

Важнейший признак протеев, отличающий их от прочих энтеробактерий, – способность дезаминировать фенилаланин. Питательная среда «Фенилаланинагар» используется для дифференциации *Proteus* spp., *Providencia* spp. и *Morganella* spp. от других энтеробактерий по признаку дезаминирования фенилаланина до фенилпировиноградной кислоты. Культуры микроорганизмов, дезаминирующие фенилаланин, после внесения треххлористого железа изменяют цвет поверхности среды и конденсата на дне пробирки со светло-желтого на зеленый; не дезаминирующие фенилаланин не изменяют цвета среды и конденсата.

Заключение. Новые высокоэффективные отечественные питательные среды для выделения протеев прошли испытания на расширенном наборе музейных тест-штаммов и рекомендованы для проведения бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии.

Анализ результатов регионального мониторинга чувствительности к дезинфектантам в медицинских организациях

Широкова И.Ю., Ковалишена О.В., Саперкин Н.В.,
Беянина Н.А.

ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Университетская клиника НИИ профилактической медицины, Нижний Новгород, Российская Федерация

Устойчивость микроорганизмов (м/о) к дезинфицирующим средствам (ДС) является одним из факторов, определяющих эпидемическое неблагополучие территории. С целью изучения устойчивости к ДС на региональном уровне с 2009 г. организован центр мониторинга на базе Научно-исследовательского института профилактической медицины ФГБОУ ВО «ПИМУ» МЗ РФ (далее НИИ ПМ). В настоящее время в эту работу вовлечено более 50 медицинских организаций (МО) г. Н. Новгорода и Нижегородской области. Для формирования информационной базы в ряде МО внедрены базы данных WHONET.

Цель исследования. Оценить структуру и чувствительность применяемых ДС в МО на региональном уровне.

Материалы и методы. На базе отдела лабораторных исследований НИИ ПМ проведено изучение чувствительности к ДС м/о, полученных от больных и с объектов внешней среды. Исследовано 623 клинических изолята и 40 коммерческих наименований ДС. Видовая идентификация м/о выполнялась на масс-спектрометре MALDI-TOF MS (Германия). Изучение чувствительности к ДС осуществлялось согласно МУ 3.5.1.3439-17.3.5.1 «Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях» и ФКР от апреля 2015 г. «Способ определения чувствительности бактерий к дезинфицирующим средствам при мониторинге устойчивости к антимикробным препаратам в медицинских организациях».

Результаты. Ежегодно в мониторинге участвуют от 25 до 50 МО, а в 2018 г. было охвачено 28 организаций. В структуре применяемых ДС изучено 6 химических групп, 34 группы с учетом композиций. Наиболее популярная и часто используемая группа – ЧАС со всевозможными композициями (56,63%), далее гуанидины (ГУ) с композициями (15,98%) и хлорсодержащие (ХДС) в сочетании с ПАВ (12,98%). ХДС обладали 100%-й чувствительностью к м/о, среди ЧАС и ХДС в композиции с ПАВ доля чувствительных составила 92,3 и 91,18% соответственно. Менее чувствительными оказались ГУ и ЧАС (60,55 и 53,12%). Прослеживается нарастание устойчивости м/о к группам кислородсодержащих и ЧАС. В структуре чувствительности м/о к ДС чаще встречались не полностью чувствительные и устойчивые штаммы: среди НГОБ – 42,9%, *Staphylococcus* spp. – 20,0%, *Enterococcus* spp. – 16,7%, грибов рода *Candida* – 12,0%. В семействе *Enterobacteriaceae* на их долю пришлось 19%, 2/3 всех культур составила *Klebsiella pneumoniae*.

Выводы. Выделено 6 химических групп ДС, включенных в 40 коммерческих наименований. Лидирующие позиции по

чувствительности занимают ХДС (100%). Наибольшая доля устойчивых штаммов к ДС выделена у НГОБ – 3,2%, *Staphylococcus* spp. – 2,4%.

Диагностическое значение выявления маркеров герпесвирусов при патологии пародонта

Ягодина Е.А.

ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова», Москва, Российская Федерация

По данным современной литературы, в последние годы выделение пародонтопатогенных анаэробных бактерий из пародонтального кармана нередко сочетается с вирусным герпес-ассоциированным повреждением пародонта – по некоторым источникам, в 50–60% случаев. Переход из латентной фазы в активную герпесвирусную инфекцию (ГВИ) приводит к транзиторной локальной иммуносупрессии и прогрессированию деструктивных процессов в пародонте, что может иметь негативные последствия при проведении внутриротовой дентальной имплантации у данной группы пациентов. Вместе с тем следует учитывать, что семейство герпесвирусов включает разных по своей природе и вирулентным свойствам представителей – вирусы простого герпеса 1-го и 2-го типа (ВПГ), вирус Эпштейна–Барр (ЭБВ), цитомегаловирус (ЦМВ) и другие, роль которых при патологии полости рта не доказана.

Цель исследования. Совершенствование этиологической диагностики хронической персистирующей герпесвирусной инфекции у пациентов с клиническими проявлениями в пародонте с учетом фактора риска (курение).

Материалы и методы. Обследованы 927 человек в возрасте от 18 до 75 лет – 493 (53%) женщины и 434 (46%) мужчины. Из них выделены 4 группы больных: 1) гингивитом (122 чел.), 2) хроническим генерализованным пародонтитом (ХП) (654 чел.), 3) со здоровым интактным пародонтом (151 чел.). Отдельно рассматривались подгруппы пациентов-курильщиков. Лабораторное исследование включало традиционные методы молекулярного исследования: определение содержания противовирусных антител против ВПГ-1, -2, ЦМВ и ЭБВ: IgG и IgM в сыворотке периферической крови с помощью твердофазного ИФА (тест-наборы «Вектор-Бест») и генетических маркеров перечисленных вирусов. Результаты исследований обработаны методами вариационной статистики с проведением корреляционного анализа.

Результаты. Общая инфицированность (ОИ) герпесвирусами, оцениваемая по наличию антител (АТ) IgM и/или IgG класса разной avidности в сыворотках крови больных и здоровых людей хотя бы к одному из возбудителей ГВИ – ВПГ-1, -2, ЦМВ и ЭБВ, варьировала от 91% у людей со здоровым пародонтом до 96% у больных гингивитом и ХП разных степеней тяжести. В биопленках пародонтальных карманов больных с воспалительными заболеваниями тканей пародонта чаще всего, в 22–25% случаев, определяют ДНК ВПГ-1 и ЭБВ, реже ВПГ-2 и ЦМВ. В то же время

только у 3% людей со здоровым интактным пародонтом выявлена ДНК ВПГ-1, ЦМВ либо ЭБВ. У 95% обследованных больных, страдающих хроническим пародонтитом, которые курили свыше 4 лет, выявлены антитела класса IgG к ВПГ 1-го или 2-го типа, причем у 80% обследованных отмечены очень высокие титры АТ к ВПГ (1:1600–1:12800). У 86% пациентов выявлены IgG-АТ к ЦМВ, но только у 5% – IgM-АТ. У 50% пациентов найдены антитела к ядерному белку EBNA-1 p72 ЭБВ. Наличие IgM-АТ к ЦМВ и АТ к ядерному белку ЭБВ расценивалось как обострение персистирующей ЦМВ- и ЭБВ-инфекции, что подтверждалось данными ПЦР-диагностики. Полученные результаты указывают на наличие латентной вирусной полиинфекции или реактивацию вирусных агентов у иммунокомпроментированных пациентов с хроническим пародонтитом. Одновременное инфицирование пародонтального кармана вирусами нескольких типов наблюдалось с частотой от 0,8 до 5%. Относительная частота выявления ДНК всех типов вирусов у пациентов с легкой степенью тяжести практически не отличалась от показателей пациентов со средней степенью тяжести ХП. Для повышения эффективности и контроля лечения воспалительных заболеваний тканей пародонта можно рекомендовать определение ДНК вирусов семейства *Herpesviridae* (ВПГ-1, -2, ЦМВ и ЭБВ) в биопленках зубодесневой борозды с помощью ПЦР в сочетании с серологическими маркерами, характеризующими формы ГВИ: антитела IgM класса к ВПГ-1, -2, IgG класса к ВПГ-1 и ВПГ-2, IgM класса к ЦМВ, IgG-антитела к предраннему антигену IEA ЦМВ, поздние IgG к ЦМВ, IgM класса к капсидному антигену VCA ЭБВ, IgG – к VCA ЭБВ, IgG антитела к ядерному антигену EBNA ЭБВ. Выявлены ассоциации пародонтопатогенных бактерий *Porphyromonas gingivalis* с ВПГ-1, -2 и ЦМВ при гингивите и ХП, в том числе хронический панкреатит средней тяжести (ХПС) и ХПТ; *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* и ВПГ-2 при гингивите и ХПТ, ЦМВ у здоровых людей, ЭБВ при гингивите и ХП всех степеней тяжести; *Treponema denticola* и ВПГ-2 при гингивите и ХПТ; *Prevotella intermedia* и ЭБВ при гингивите и ХП всех степеней тяжести. Ассоциаций герпесвирусов и *Tannerella forsythia* не установлено.

Выводы:

1. В обследованной части популяции Московского региона выявлены высокие уровни концентрации противовирусных антител в сыворотке крови больных гингивитом и ХП различных степеней тяжести как с литическим, так и с латентным течением ГВИ.

2. Компоненты орального микробиома – герпесвирусы – можно рассматривать в качестве значимого фактора риска развития хронического пародонтита. Степень риска повышается у курильщиков.

3. Перед хирургическим лечением пародонтита, выполнением дентальной имплантации показано обследование пациента с помощью иммуноферментного и молекулярно-генетического метода (ПЦР-диагностика) для выявления маркеров семейства герпесвирусов как фактора риска развития инфекционно-воспалительных осложнений и периимплантита с последующим назначением (в случае необходимости) противовирусной и иммуномодулирующей терапии.

К вопросу о роли бактерий рода *Campylobacter* в этиологии воспалительных заболеваний кишечника

Ярмухаметова Э.Д.^{1,2}, Мавзютов А.Р.¹, Минина Н.Н.², Цекин В.С.¹, Бижбалова Л.О.¹

¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Российская Федерация;

²Бирский филиал ФГБОУ ВО «Башкирский государственный университет», Бирск, Российская Федерация

В настоящее время не вызывает сомнения то, что в этиологии воспалительных заболеваний кишечника (неспецифический язвенный колит, болезнь Крона и др.) наиболее значимым является бактериальный компонент (Campieri M. et al., 2001; Sellon R.K. et al., 1998). Однако касательно роли конкретных видов бактерий единого мнения нет, тогда как видовая идентификация возбудителя может стать основой для оптимизации этиотропной терапии и, соответственно, повышения ее эффективности. В этой связи особый интерес представляют единичные сообщения об обнаружении при указанной патологии бактерий рода *Campylobacter* (Zhang L. et al., 2009), что, однако, не имеет пока достаточной доказательной базы ввиду сложности обнаружения указанных микроорганизмов в чистой культуре непосредственно в биоптатах пораженных отделов кишки.

Цель исследования. Разработка способа выявления *Campylobacter* spp. в биоптатах кишки пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и оценка частоты их встречаемости при данной патологии.

Материалы и методы. Методом ПЦР исследованы 54 образца кала и 41 послеоперационный биоптат толстой кишки пациентов с неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона. Для выделения ДНК из парафиновых блоков использовали оптимизированный метод выделения ДНК, который включал этап депарафинизации. Амплификацию проводили с применением синтезированных родоспецифичных (*Campylobacter* spp.) праймеров (Евроген, Россия) с последующей электрофоретической детекцией результатов.

Результаты. Родоспецифичные фрагменты ДНК *Campylobacter* spp. были выявлены в 100% исследованных послеоперационных биоптатов (парафиновых блоков) толстой кишки пациентов с неспецифическим язвенным колитом и болезнью Крона и ни в одном из исследованных образцов кала данных пациентов.

Бактериологическое исследование крови и стерильных биологических жидкостей

Чжоу Ядан

Scenker Biotechnology Co. Ltd., Китай

Кровь является одним из наиболее распространенных образцов биоматериала, исследуемых в бактериологической лаборатории. Исследование крови на стерильность является важнейшим методом лабораторного исследования.

Когда микроорганизмы проникают в кровеносную систему и быстро размножаются за пределами возможностей иммунитета к борьбе, возникает бактериемия и фунгемиа. Инфекция кровотока является одним из наиболее распространенных серьезных, критических и неотложных заболеваний в клинике, а уровень смертности при ней достигает 20–50%. Число смертей, вызванных инфекциями кровотока, больше, чем от рака легких, рака простаты и ВИЧ/СПИД во всем мире каждый год. В среднем от инфекций кровотока умирают около 14 человек в минуту.

Гемокультивирование является в настоящее время «золотым стандартом» в диагностике септицемии. Оно позволяет обнаружить микроорганизмы в кровеносной системе, определить патогенные микроорганизмы, назначить лечение антибиотиками и дать прогноз.

К группам высокого риска инфицирования кровотока относятся:

- Ранние стадии общих или местных инфекций, таких как менингит, пневмония и т. д.
- Операции на загрязненных участках, такие как абдоминальная хирургия, трансуретральная простатэктомия и т.д.
- Инфекционный эндокардит, инфекционные аневризмы и другие внутрисосудистые инфекции.
- Своевременно не вскрытый абсцесс.
- Внутривенные катетеры.

Общие клинические показания к посеву крови:

- Повышенная ($\geq 38^\circ$) или низкая ($\leq 36^\circ$) температура.
- Гранулоцитопения.
- Тромбоцитопения.
- Геморрагия.
- Аномальное ускорение сердечного ритма.
- Рост показателей С-реактивного белка и процентного объема тромбоцитов в крови.
- Частота дыхания и т.д.

Посев крови необходим, когда один или несколько из перечисленных выше клинических признаков встречаются в группе повышенного риска. Повышенная температура является одним из важных признаков.

Бактериологический анализатор для культивирования крови и биологических жидкостей организма «Лабстар 50», «Лабстар 100».

Анализатор для культивирования крови обеспечивает постоянную температуру, покачивание флакона, постоянный мониторинг роста и автоматическую систему оповещения. По сравнению с ручным культивированием крови имеет значительные преимущества: увеличение частоты положительного обнаружения, сокращение времени положительного сигнала тревоги при обнаружении, приблизительно 80% положительных образцов можно идентифицировать в течение 24 часов.

Анализатор для культивирования крови «Лабстар-50» компании Scenker является первым бактериологическим анализатором в Китае, он был включен в Государственную программу «863», план развития высоких технологий, инициированный правительством Китайской народной республики. Программа направлена на стимулирование развития передовых технологий в различных областях исследований. Основная цель программы «863» – независимость государства от импорта зарубежных технологий, при взаимодействии с Медицинским колледжем Пекинского союза и была успешно завершена.

Флаконы для гемокультивирования выпускаются нескольких видов:

- Стандартный флакон для обогащения аэробов.
- Флакон с нейтрализаторами антибиотиков для аэробов.
- Флакон с нейтрализаторами антибиотиков для анаэробов.
- Флакон с нейтрализаторами антибиотиков для детей.

Имеют широкий спектр применения, подходят для культивирования крови и биологических жидкостей организма, таких как спинномозговая жидкость, асцит и т. д.

Флакон для культивирования изготовлен из поликарбоната без риска фрагментации. В дно флакона встроен сверхчувствительный датчик, способный обнаружить низкий уровень CO_2 . Макропористые смолы оказывают хорошее адсорбционное действие на антибиотики в крови.

Питательная среда предназначена для большинства клинически значимых бактерий и прихотливых микроорганизмов.

Заключение. Система культивирования Scenker полностью соответствует потребностям лаборатории.

Содержание

Эпидемиологическая характеристика штаммов <i>Staphylococcus aureus</i> с точки зрения геномной структуры и токсинообразования Абаев И.В., Скрыбин Ю.П.	6	Особенности микробиома пародонта в норме и при патологии по данным методов метагеномики и метаболомики Балмасова И.П., Царёв В.Н., Арутюнов С.Д., Бабаев Э.А., Олехнович Е.И., Габитов А.Г.	14
База данных «Клинические штаммы <i>Staphylococcus aureus</i>, выделенные в центральном регионе России» Абаев И.В., Скрыбин Ю.П., Говорунов И.Г.	6	Лабораторная диагностика листериоза в современных условиях Баранова О.П., Герасимова Н.Ю., Даренская А.Н.	15
Использование энтероцина E28 для элиминации <i>Listeria monocytogenes</i> из мясных полуфабрикатов Абаимова А.А., Теймуразов М.Г., Светоч Э.А.	7	Разработка алгоритма оценки вирулентности штаммов <i>Bacillus anthracis</i> на перевиваемой линии мышинных макрофагов <i>in vitro</i> Бахтеева И.В., Гончарова Ю.О., Титарева Г.М., Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С.	16
Генетические особенности метициллинрезистентных <i>Staphylococcus aureus</i>, выделенных от лиц, находящихся в пеницициарном учреждении Акушева Д.Н., Хохлова О.Е., Абарникова О.В., Корецкая Н.М., Перьянова О.В., Белоусова Ю.Н., Саламатина О.В., Королькова Е.К., Кондрашева И.С., Лустов Ю.В., Поткина Н.К., Петров А.М., Ямамото Т.	7	Изучение профиля антибиотикоустойчивости назофарингеальных штаммов пневмококков при бактерионосительстве Баязитова Л.Т., Зарипова А.З., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Исаева Г.Ш.	16
Заблеваемость сельскохозяйственных животных листериозом и обсемененность пищевых продуктов листериями в Российской Федерации в 2016–2018 гг. Александрова Я.Р., Фурсова Н.К.	8	Циркуляция <i>Staphylococcus epidermidis</i> среди новорожденных в детском стационаре Беляева Е.В., Борискина Е.В., Ермолина Г.Б., Шкуркина И.С.	17
Удельный вес условно-патогенных энтеробактерий, выделенных в Узбекистане при острых кишечных инфекциях за 10 лет Алматов Б.И., Абдуллаев А.О., Ли Л.Т.	8	Эффективность антиретровирусной и иммунокорректирующей терапии у больных ВИЧ/СПИД в Узбекистане Бердиева З.И., Игнатов П.Е., Маматкулов И.Х.	17
Антимикробная активность водных и водно-этанольных экстрактов из растений <i>Monarda fistulosa</i>, культивируемых в Новосибирской области Андреева И.С., Высочина Г.И., Лобанова И.Е., Сароян Т.А.	9	Возможности улучшения эффективности антиретровирусной терапии у ВИЧ-инфицированных больных Бердиева З.И., Игнатов П.Е., Маматкулов И.Х., Джурабаева Н.Б.	18
Ингибирование размножения вирусов гриппа А/Н5N1, А/Н3N2 и А/Н1N1 препаратами на основе штамма бактерии <i>Bacillus thuringiensis</i> Cb-527 Андреева И.С., Мазуркова Н.А., Пучкова Л.И., Филиппова Е.И., Закабуни А.И., Сафатов А.С.	10	Эффективность бактериофага Pm3 при лечении летальной инфекции у мышей, обусловленной <i>Proteus mirabilis</i> Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Верёвкин В.В., Красильникова В.М., Воложанцев Н.В.	18
Контроль эффективности дезинфекции эндоскопов Анфилофьева Т.А., Волокитина Е.Н.	10	Состояние лабораторной диагностики дифтерийной инфекции в Российской Федерации Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Чагина И.А., Кафарская Л.И.	19
Совершенствование лабораторной диагностики бруцеллеза Аракелян П.К., Трегубов А.Н., Руденко А.В., Вергун А.А., Ильин Е.Н., Христенко Н.В., Димова А.С., Димов С.К., Янченко Т.А., Рудаков Н.В.	11	Эпидемии холеры в Гвинейской Республике: эпидемиология, меры борьбы и профилактики Буаро М.И., Константинов О.К., Бумбали С., Лама Н.Е.	19
Молекулярно-генетические особенности штаммов <i>Listeria monocytogenes</i>, выделенных от людей и из продуктов питания Асташкин Е.И., Борзенков В.Н., Фурсова Н.К., Алексеева Е.А., Светоч Э.А.	11	Изучение резистентности патогенных бактерий к антибиотикам в лечебных учреждениях Гвинейской Республики Буаро М.И., Константинов О.К., Бумбали С., Лама Н., Диалло Д.М.	20
Микробиота, выделенная у пациентов с инфекциями, связанными с оказанием медицинской помощи Бадамшина Г.Г., Гафарова Л.Ф., Зиатдинов В.Б.	12	Структура патогенных микроорганизмов у пациентов отделения гнойной хирургии Будаев Г.Е., Провадо А.И., Росеева К.В., Серов Н.С., Черных Д.А.	20
Заблеваемость инфекционными заболеваниями медицинского персонала Бадамшина Г.Г., Зиатдинов В.Б., Фатхутдинова Л.М., Гафарова Л.Ф., Севастьянова Т.И., Гилязиев А.Д.	12	Позиционное IS100-типирование как метод внутривидовой дифференциации возбудителя чумы Вагайская А.С., Гапельченкова Т.В., Красильникова Е.А., Дентовская С.В., Анисимов А.П.	20
SNP-типирование штаммов <i>Yersinia pestis</i>, выделенных на монгольской территории трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы Балахонов С.В., Гладких А.С., Миронова Л.В., Рождественский Е.Н., Феранчук С.И., Бочалгин Н.О., Отгонбаяр Д.	13	Создание штаммов <i>Francisella tularensis</i> 15 НИИЭГ с флюоресцирующими белками в желтой и красной областях спектра: YFP и NirFP Вахрамеева Г.М., Павлов В.М., Мокриевич А.Н.	21
Характеристика штаммов чумного микроба, изолированных в монгольской части трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы в 2018 году Балахонов С.В., Косилко С.А., Отгонбаяр Д., Уржих Ч., Витязева С.А., Ярыгина М.Б., Рождественский Е.Н., Токмакова Е.Г., Корзун В.М.	13	Особенности переноса плазмид в бактерии вакцинного штамма <i>Francisella tularensis</i> Вахрамеева Г.М., Шишкова Н.А., Павлов В.М., Мокриевич А.Н.	21
		Активность бактериофага ECD4 на биопленке, формируемой бактериями <i>Escherichia coli</i> серотипа O104:H4 Верёвкин В.В., Красильникова В.М., Мясина В.П., Денисенко Е.А., Воложанцев Н.В.	22

Выделение и идентификация биопленкообразующих микробов в атеросклеротических бляшках Витович М.В.	22	Использование масс-спектрометрии для выявления видового разнообразия почвенных бацилл Калинин А.В., Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Абрамович А.В.	32
Бактериофаги как средство индикации и идентификации патогенных энтеробактерий Воложанцев Н.В., Мякина В.П., Верёвкин В.В., Красильникова В.М., Денисенко Е.А., Качёв А.Ю., Светоч Э.А.	23	Роль иммунных клеток в ранозаживлении бактериальных осложнений щелочных ожогов роговицы при использовании наносомального геля в эксперименте Калинкина Н.И., Базиков И.А.	32
Воздействие ампициллина на клетки <i>Escherichia coli</i>: динамика изменений электрооптических и морфометрических параметров суспензии микроорганизмов Волошин А.Г., Слукин П.В., Тедиков В.М., Игнатов С.Г., Фурсова Н.К.	24	Изучение микрофлоры слизистых глаз у животных с бактериальными осложнениями щелочных ожогов роговицы Калинкина Н.И., Базиков И.А.	33
Результаты профилактических исследований на носительство <i>Staphylococcus aureus</i> в г. Воронеже за 2015–2017 гг. Галушкин А.В., Холодова Л.А., Макатовчук П.И., Стёпкин Ю.И.	24	Распространенность инфекций, вызванных <i>Mycoplasma pneumoniae</i> и <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>, у детей Колпинского района Санкт-Петербурга в 2014–2019 гг. Каменева О.А., Косякова К.Г., Мельникова Г.С., Морозова С.Е.	34
Практический опыт выделения <i>Francisella tularensis</i> из полевого материала природного очага туляремии степного типа в условиях локальных и разлитых эпизоотий Гнусарева О.А., Зайцев А.А., Агапитов Д.С., Царева Н.С., Остапович В.В., Дубянский В.М.	25	Разработка комплекса бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными нанотекстурированными поверхностями из алюминия, способствующего снижению риска распространения ESKAPE-патогенов Каминский В.В., Алёшкин А.В., Киселёва И.А., Зулькарнеев Э.Р., Ефимова О.Г., Бойнович Л.Б., Емельяненко К.А., Емельяненко А.М.	34
Выявление и антибиотикорезистентность редко встречающихся видов коагулазонегативных стафилококков у кардиохирургических пациентов Граничная Н.В., Зайцева Е.А.	25	Характеристика полирезистентных госпитальных штаммов <i>Acinetobacter baumannii</i>, выделенных в отделении торакальной хирургии Канашенко М.Е., Асташкин Е.И., Мицевич И.П., Мухина Т.Н., Храмов М.В.	35
Опыт участия в межлабораторных сравнительных испытаниях бактериологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области» в 2011–2018 гг. Дегтярева И.М., Коцкая Е.Н., Стёпкин Ю.И.	26	Характеристика эстремально резистентных госпитальных культур <i>Klebsiella pneumoniae</i>, несущих ген карбапенемазы OXA 48 Канашенко М.Е., Асташкин Е.И., Мицевич И.П., Федюкина Г.Н., Мухина Т.Н., Храмов М.В.	35
Исследование антибактериальной активности дезсредств различных классов на штаммы <i>Staphylococcus aureus</i>, возбудителя стафилококковых инфекций Детушева Е.В., Колчанова А.Д., Абаев И.В., Фурсова Н.К.	27	Анализ результатов санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды и пищевых продуктов Катаева Л.В., Вакарина А.А., Посоюзных О.В., Степанова Т.Ф., Колотова О.Н., Кошкарёва И.И.	36
Антибактериальная активность препарата «Носолин-ультра, капли назальные» против возбудителей ЛОР-инфекций Детушева Е.В., Фурсова Н.К., Коровкин С.А.	27	Характеристика генов вирулентности штаммов <i>Escherichia coli</i>, изолированных от больных хроническими воспалительными заболеваниями желудочно-кишечного тракта Катаева Л.В., Степанова Т.Ф., Кисличкина А.А., Богун А.Г., Вакарина А.А.	36
Особенности лабораторной диагностики возбудителя сибирской язвы во время вспышки в Республике Тыва в 2018 году Дугаржапова З.Ф., Кравец Е.В., Иванова Т.А., Чеснокова М.В.	28	Методы молекулярного субтипирования возбудителей брюшного тифа и паратифа В Кафтырева Л.А., Кулешов К.В., Егорова С.А.	37
Эффективность антимикробной субстанции штамма <i>Pseudomonas chlororaphis</i> VSK-26A3 против листериоза у мышей Дунайцев И.А., Сомов А.Н., Клыкова М.В., Жиглецова С.К., Борзилов А.И., Кондрашенко Т.Н., Буданова Н.Ю., Жумакаев Р.Х.	28	Брюшной тиф в Российской Федерации Кафтырева Л.А., Матвеева З.Н.	38
Влияние бактерий кожи на экспрессию белков теплового шока в клетках крови больных atopическим дерматитом Елистратова И.В., Морозов С.Г.	29	Влияние мирамистина и амфотерицина В на грибы рода <i>Candida</i> Кирсанова М.А., Криворученко Ю.Л., Андроновская И.Б.	38
Дифференцированный подход к диагностике и лечению у детей инфекции мочевыводящих путей, ассоциированной с <i>Enterococcus faecalis</i> Зайцева Е.А., Мельникова Е.А., Коменкова Т.С.	30	Определение кластера генов, кодирующих синтез О-полисахарида штамма <i>Yersinia massiliensis</i> В-3986 (664) Кисличкина А.А., Майская Н.В., Платонов М.Е., Богун А.Г., Дентовская С.В.	39
Авидность специфических <i>igg</i> как дополнительный критерий для лабораторного подтверждения диагноза лихорадки Западного Нила Замарина Т.В., Пименова Е.В., Тетерятникова Н.Н.	30	Сальмонеллы в психиатрической больнице Козлова Н.С., Пилипенко С.Б., Мамонова Е.А., Голубева Ю.Г., Григорьева Л.Г., Метляева А.В.	40
Молекулярно-генетическая детекция фрагментов ДНК островка генотоксичности (pks) Зигангирова Н.Н., Закирова Г.Н., Мавзютов А.Р., Исламова А.А.	31	Диареогенные эшерихии в психиатрической больнице Козлова Н.С., Пилипенко С.Б., Мамонова Е.А., Голубева Ю.Г., Григорьева Л.Г., Метляева А.В.	40
Выявление <i>Legionella pneumophila</i> в искусственных водных объектах г. Ташкента и Ташкентской области Исхакова Х.И., Эшназаров С.Э.	31	Устойчивость к аминогликозидам у штаммов <i>Enterococcus faecalis</i>, выделенных при инфекции мочевых путей на Дальнем Востоке России Коменкова Т.С., Пушилина А.Д., Зайцева Е.А., Стрельникова Н.В., Бледных Л.А.	41

Сравнение данных мультиплексного анализа и метода полимеразной цепной реакции в реальном времени при оценке бактериальной контаминации кожи перед проведением операции абдоминопластики Копасов А.Е., Иванченко О.Б., Морозов С.Г.	41	Лектиновые системы и биологические активности терапевтических белков на примере эритропоэтинов человека Лахтин В.М., Лахтин М.В., Миронов А.Ю., Афанасьев С.С., Алёшкин В.А.	51
Исследование микрофлоры кожи у больных базалиомой Королькова В.И., Базиков И.А.	42	Влияние золя диоксида марганца на кинетику роста некоторых возбудителей инфекционных заболеваний Леонова Л.В., Черепанов Д.В., Шиманова В.С., Леонов В.В.	52
Доклинические исследования антимикробного ниосомального геля с доксорубицином Королькова В.И., Базиков И.А.	42	Сравнительный анализ разрабатываемых наборов реагентов для количественной оценки антибиотикочувствительности бактерий с зарубежными аналогами Лихачев И.В., Самойлова А.А., Кафтырева Л.А.	52
Синтетическая биология: вопросы нормативно-правового регулирования Корсакова И.И., Топорков А.В., Викторов Д.В.	43	Выделение изолятов вируса лихорадки Западного Нила из комаров рода <i>Culex</i>, отловленных в Волгоградской области в 2018 г. Лучинин Д.Н., Негоденко А.О., Прилепская Д.Р., Молчанова Е.В., Бородай Н.В., Бондарева О.С., Батурин А.А.	53
Изучение элементного состава агара Мюллера–Хинтона Косилова И.С., Домотенко Л.В., Шепелин А.П.	44	Современная лабораторная диагностика острых кишечных инфекций бактериальной этиологии Макарова М.А.	53
Изменение свойств <i>Proteus mirabilis</i> при определении МПК хлоргексидина Косьякова К.Г., Каменева О.А., Эсауленко Н.Б., Дубинина А.Ю., Мезина Е.Ю.	44	Молекулярно-генетические и микробиологические методы в объективизации контаминации больничной среды лечебного учреждения бактериями и вирусами Малышев В.В., Разумова Д.В., Гумилевский Б.Ю.	54
Оценка эффективности применения метода масс-спектрометрии для внутривидовой дифференциации вегетативных и споровых культур <i>Bacillus anthracis</i> с различными фенотипами и генетическими характеристиками Котенева Е.А., Калинин А.В., Цыганкова О.И., Абрамович А.В.	45	Совершенствование системы специфической лабораторной диагностики острых кишечных инфекций в организованных коллективах взрослых в Кыргызской Республике Малышев В.В., Шаяхметов Л.К., Аминов Р.М.	55
Оценка антибактериальной активности трех новых классов соединений в отношении бактерий рода <i>Klebsiella</i> Краева Л.А., Рогачева Е.В., Хамдулаева Г.Н., Кунилова Е.С.	45	Адаптивные свойства и антибиотикоустойчивость стафилококков, изолированных из наземных соляных сооружений Маммаева М.Г., Коноплева М.А., Нестерова Л.Ю., Кузнецова М.В.	55
Бактериофаги, специфичные для <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> серотипа <i>Infantis</i> Красильникова В.М., Верёвкин В.В., Мякина В.П., Денисенко Е.А., Воложанцев Н.В.	46	Индифицированность клещей бактериями вида <i>Listeria monocytogenes</i> Мельникова Н.Н., Зайцева Е.А., Киняк Т.В.	56
Некоторые аспекты исследования кормов в Российской Федерации в 2016–2018 гг. Кремлева А.А.	46	Эффективность технологии обработки воздушного пространства помещений Михайлова Е.Г., Чубатова О.И., Скрипникова Е.В., Доброхотский О.Н., Борзенкова Т.Х.	56
Выделение поверхностных антигенов <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> O:1b с использованием бактерицидного действия мочевины Крюкова А.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Попова Ю.О., Климов В.Т., Игумнова С.В., Уланская А.В., Андреевская Н.М., Загоскина Т.Ю., Чеснокова М.В.	47	Использование комплекса питательных сред для анализа молочнокислых продуктов Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Детушев К.В., Шепелин А.П.	57
Туляремия в прилегающих к России государствах Кудрявцева Т.Ю., Мокриевич А.Н.	47	Анализ мониторинговых исследований на иерсинии в г. Челябинске Москвина Т.И., Щербакова Т.А., Иванова Н.П., Петрова О.С., Терентьева Н.В., Мухомедьярова И.И.	57
Использование аэрозолей дезинфектантов для обработки помещений против бактерий – возбудителей внутрибольничных инфекций Кузин В.В., Фурсов М.В., Грищенко Н.С., Рудницкая Т.И., Шматко Э.Б., Потапов В.Д.	48	Выживаемость сальмонеллезных бактериофагов в условиях имитации кишечных и желудочных жидкостей человека Мякина В.П., Верёвкин В.В., Левчук В.П., Сомов А.Н., Похиленко В.Д., Воложанцев Н.В., Перельгин В.В.	58
Детекция бессимптомного носительства грамотрицательных бактерий у сотрудников микробиологической лаборатории Кузина Е.С., Новикова Т.С., Детушев К.В., Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Царёв В.Н., Фурсова Н.К.	48	База данных «Коллекция бактериофагов ФБУН ГНЦ ПМБ» Мякина В.П., Воложанцев Н.В., Денисенко Е.А., Говорунов И.Г.	58
Оптимизация диагностики выделения клинических штаммов <i>Helicobacter pylori</i> в лабораторных условиях Кутлиева Г.Дж., Элова Н.А., Джуманиязов Дж.А.	49	Взаимосвязь сердечно-сосудистых заболеваний с анаэробными патогенами субингибальной биопленки Николаева Е.Н., Ипполитов Е.В., Царёв В.Н.	59
Применение насыщенного раствора окиси азота и перекиси водорода для антисептической обработки гнойной раны под контролем лазерно-флуоресцентной спектроскопии Лабазанов А.А.	50	Чувствительность к антимикробным препаратам <i>Salmonella</i> spp., выделенных от промышленной птицы в Российской Федерации и Республике Казахстан Новикова Т.С., Теймуразов М.Г., Тазина О.И., Фурсова Н.К., Светоч Э.А.	60
Влияние эндогенных бактериофагов на течение гнойно-воспалительных осложнений у реанимационных больных Лазарева Е.Б., Черненькая Т.В., Евдокимова Н.В., Жиленков Е.Л., Шабанов А.К., Годков М.А., Петриков С.С.	51	Антибиотикорезистентность уропатогенных <i>Klebsiella</i> spp. Обухова Е.С., Образцова А.М., Рожина А.М.	60

Анализ результатов мониторинга холерных вибрионов в водных объектах окружающей среды на территории Калужской области Овсянникова Л.В., Полякова С.В., Габараева Е.А., Винникова О.Н., Дичковский Л.И.	61	Современные подходы к лабораторной диагностике, мониторингу природных очагов и профилактике клещевых трансмиссивных инфекций Рудаков Н.В., Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Штрек С.В., Теслова О.Е., Блох А.И., Савельев Д.А., Зеликман С.Ю.	69
Часто встречаемые в Приморском крае возбудители заразных кожных заболеваний Олейник С.А., Зайцева Е.А.	61	К вопросу о лабораторной диагностике и верификации клещевых риккетсиозов Рудаков Н.В., Штрек С.В., Шпынов С.Н., Кумпан Л.В., Самойленко И.Е., Решетникова Т.А., Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Зеликман С.Ю.	69
Масс-спектрометрические характеристики штаммов <i>Yersinia pestis</i> из Салюйемского трансграничного природного очага чумы Остяк А.С., Балахонов С.В.	62	Оценка чувствительности уропатогенных <i>E. coli</i> к опытной серии эшерихиозного бактериофага Сапаева Ф.Р., Кахрамонов Ф.О., Джамиллов Д.Д., Исхакова Х.И.	70
Анализ распространения нетифоидных полирезистентных штаммов сальмонелл на территории Российской Федерации за 2016–2018 гг. Павлова А.С., Гусева А.Н., Кулешов К.В., Акулова Н.К., Кожанметова Т.А., Рожнова С.Ш., Подколзин А.Т.	62	Фенотипический полиморфизм бактерий группы кишечной палочки как объективный индикатор изменения качества пресноводных водоемов Сидорова Н.А., Савушкин А.И., Кучко А.А.	70
Физико-химические и биологические свойства антимикробного соединения, произведенного штаммом <i>Bacillus subtilis</i> ПСФ-19 Перельгин В.В., Похиленко В.Д., Калмантаев Т.А., Детушев К.В., Чукина И.А.	63	Актуальные вопросы планирования лабораторной базы при возникновении очага холеры в Республике Крым и г. Севастополе Ситникова А.Л., Зинич Л.С., Пидченко Н.Н., Тихонов С.Н.	71
Оценка информативности результатов иммуноферментного анализа, полученных с помощью отечественных и зарубежной тест-систем для выявления антител к вирусу Западного Нила Пименова Е.В., Замарина Т.В., Тетерятникова Н.Н.	63	Анализ данных ветеринарных лабораторий по заболеваемости животных колибактериозом (эшерихиозом) за 2016–2017 гг. Скоморина Ю.А.	71
Создание штамма <i>Yersinia pestis</i>, способного к биолюминесценции Платонов М.Е., Дентовская С.В., Иванов С.А., Анисимов А.П.	64	Распространенность генов вирулентности в клинических штаммах уропатогенных <i>Escherichia coli</i>, выделенных в 2004–2019 годах Слукин П.В., Асташкин Е.И., Ермоленко З.М., Слукина Н.А., Ершова М.Г., Полетаева Е.Д., Круглов А.Н., Ершова О.Н., Маликов В.Е., Перепанова Т.С., Светоч Э.А., Фурсова Н.К.	72
Чувствительность условно-патогенных бактерий влагилица к поликомпонентным бактериофагам Полищук И.С., Алешукина А.В., Алешукина И.С.	64	Оценка бактерицидной активности наноповрхностей, модифицированных соединениями бора Слукин П.В., Волошин А.Г., Тедиков В.М., Фурсова Н.К., Игнатов С.Г.	72
Инфицированность бройлеров термотолерантными кампилобактерами при использовании различных технологий содержания птицы Порин А.А., Новикова О.Б., Павлова М.А.	65	Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов <i>Klebsiella pneumoniae</i>, выделенных из респираторного тракта Смирнова М.В., Артемук С.Д., Белькова Е.И., Мельцер А.А., Куготова Д.А., Козлова Н.С.	73
Биологические свойства <i>S. aureus</i>. Образование биопленок Постникова О.Н., Чепурина Д.В., Шевкопляс Л.А., Хакимов Т.	65	Выделение бактериофагов, активных против сальмонелл, вызывающих заболевания птиц на сельскохозяйственных производствах Соловьянова Н.А., Андреева И.С., Березин С.С., Боженова М.В.	73
Штамм <i>Bacillus subtilis</i> ПСФ-19 – продуцент веществ, обладающих антилистериозной активностью Похиленко В.Д., Перельгин В.В., Детушев К.В., Чукина И.А., Калмантаев Т.А.	66	Разработка мазей на основе липосом, загруженных антимикробной субстанцией штамма <i>Pseudomonas chlororaphis</i> VSK26A3 Сомов А.Н., Дунайцев И.А., Клыкова М.В., Жиглецова С.К., Кондрашенко Т.Н., Борзилов А.И.	74
Влияние кластерного серебра на антибактериальную активность антибиотика грамицидин С, стабилизированного поливинилпирролидоном в водном растворе Пугачёв В.Г., Тотменина О.Д., Бурьлин С.Ю.	66	Адгезивные свойства пробиотических штаммов <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> Стоянова Л.Г., Дбар С.Д.	74
Изучение противовирусной активности образцов на основе бактерий в отношении вируса осповакцины (<i>Vaccinia virus</i>) в культуре клеток Vero Пучкова Л.И., Андреева И.С., Мазуркова Н.А., Филиппова Е.И., Шишкина Л.Н.	67	Использование вертикального электрофореза для определения мажорных антигенов возбудителя <i>Burkholderia pseudomallei</i> Стрельникова О.И.	75
Регистрация случая внутриамниотической инфекции у новорожденного, вызванной возбудителем <i>Listeria monocytogenes</i> Ракова Л.В., Астафьева Л.В.	67	Вопросы совершенствования оценки качества живых бактериальных вакцин при определении их контаминации Суханова С.М., Саяпина Л.В.	75
Гетерогенность изолятов нетифоидных сальмонелл из различных источников выделения в Российской Федерации в 2010–2019 гг. Рожнова С.Ш., Кулешов К.В., Гусева А.Н., Павлова Д.Х., Кожанметова Т.А., Акулова Н.К., Подколзин А.Т.	68	Апробация экспериментального ПЦР-теста «Реал-Бест <i>Francisella tularensis</i>» для выявления ДНК <i>Francisella tularensis</i> в полевом материале Сынгеева А.К., Куликалова Е.С., Бондаренко Е.И., Мазепа А.В., Наумова К.В.	76
Условно-патогенные энтеробактерии в микробиоценозах организма больных ревматоидным артритом Романов В.А., Гульнева М.Ю., Малафеева Э.В.	68	Бактериальные антигены как активаторы нейтрофилов крови больных атопическим дерматитом Тарасова М.В., Елистратова И.В., Морозов С.Г.	76

Бактериоцины как средство терапии инфекционных заболеваний, вызываемых антибиотикорезистентными микроорганизмами Теймуразов М.Г., Борзенков В.М., Суровцев В.И., Левчук В.П.	77	Профилактика бешенства на территории Республики Северная Осетия – Алания Хабалова Н.Р., Кафтырева Л.А., Бутаев А.К.	83
Оценка перспектив разработки отечественных наборов для количественного определения специфических антител к <i>Francisella tularensis</i> в сыворотках крови методом ИФА Титарева Г.М., Горбатов А.А., Сибяева Э.И., Шайхутдинова Р.З., Кравченко Т.Б., Нафеев А.А., Бикетов С.Ф., Мокриевич А.Н.	78	Изучение бактерицидной активности кожи рук после применения антисептика Хиштова Н.С., Шеуджен А.А., Дивенко В.А., Гюлумян Ю.Г., Толокнова А.В., Ашканов И.А.	84
Оценка возможности использования различных линий мышей для оценки иммунопротективных свойств вакцинных штаммов <i>Bacillus anthracis</i>, имеющих различный плазмидный состав Титарева Г.М., Комбарова Т.И., Миронова Р.И., Бахтеева И.В., Кравченко Т.Б., Гончарова Ю.О., Мокриевич А.Н., Тимофеев В.С.	78	Особенности взятия материала и микробиологическая характеристика острого и хронического дакриоцистита Царева В.В.	84
Экспериментальная оценка эффективности применения антисептических гелевых форм в отношении приоритетных представителей пародонтопатогенной инфекции Трефилова Ю.А., Подпорин М.С., Ильясова С.Т., Ахмедов Г.Д., Ипполитов Е.В.	79	Алгоритм получения вегетативных культур <i>Bacillus anthracis</i> для экстракции протеомного комплекса, лишённого спорных белков Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Калинин А.В., Абрамович А.В.	85
Культивирование штамма-продуцента и очистка автотранспортного белка YарF чумного микроба Трунякова А.С., Светоч Т.Э., Шайхутдинова Р.З., Копылов П.Х., Дентовская С.В.	79	Влияние индивидуальных особенностей штаммов <i>Bacillus anthracis</i> на эффективность экстракции внутриклеточных белков Цыганкова О.И., Котенева Е.А., Калинин А.В., Абрамович А.В., Радионов И.С.	86
Частота встречаемости гена <i>rmpA</i> в штаммах <i>Klebsiella spp.</i>, выделенных в марте 2019 года Устюжанин А.В., Чистякова Г.Н., Ремизова И.И.	80	Изучение антибиотикорезистентности сальмонелл, выделенных из пищевых продуктов на территории Свердловской области Чернышева О.С., Лутова А.С., Скорюнова Т.В., Киячина А.С.	86
Оценка скорости обнаружения бактериофагов в биологических средах при профилактическом приеме секстафага беременными женщинами Функнер Е.В., Захарова Ю.А., Федотова О.С., Бажанова У.А.	80	Перспективы использования моноклональных антител в пробоподготовке на иммуномагнитных частицах при обнаружении <i>F. tularensis</i> с помощью изотермической амплификации ДНК Шевяков А.Г., Щит И.Ю., Ветчинин С.С., Бикетов С.Ф.	87
Анализ полногеномной последовательности уропатогенного штамма <i>Klebsiella pneumoniae</i> КРХ-1 Фурсов М.В., Кисличкина А.А., Карцев Н.Н., Воложанцев Н.В., Фурсова Н.К.	81	Идентификация протеов на отечественных питательных средах Шепелин А.П., Полосенко О.В.	87
Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, в молекулярно-генетическом аспекте Хабалова Н.Р., Кафтырева Л.А., Бутаев А.К.	82	Анализ результатов регионального мониторинга чувствительности к дезинфектантам в медицинских организациях Широкова И.Ю., Ковалишена О.В., Саперкин Н.В., Белянина Н.А.	88
Этиологическая характеристика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в Республике Северная Осетия – Алания Хабалова Н.Р., Кафтырева Л.А., Бутаев А.К.	82	Диагностическое значение выявления маркеров герпесвирусов при патологии пародонта Ягодина Е.А.	88
Чувствительность к антимикробным препаратам ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в Республике Северная Осетия – Алания Хабалова Н.Р., Кафтырева Л.А., Бутаев А.К.	83	К вопросу о роли бактерий рода <i>Campylobacter</i> в этиологии воспалительных заболеваний кишечника Ярмухаметова Э.Д., Мавзютов А.Р., Минаева Н.Н., Щекин В.С., Бицбалова Л.О.	89
		Бактериологическое исследование крови и стерильных биологических жидкостей Чжоу Ядан	89

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2019 • том 4 • №1

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology

Научно - практический журнал

Главный редактор

академик РАН, профессор И.А.Дятлов

Директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Заместитель главного редактора

доктор биологических наук А.П.Шепелин

заместитель директора по научно-производственной работе
ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Инициатор и учредитель журнала «Бактериология» – ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, имеющий большие традиции в области медицинской бактериологии. Журнал освещает медицинские проблемы в бактериологии. Разработки в области использования высокотехнологичных методов исследования, таких как клеточный сортинг, масс-спектрометрия, полногеномное секвенирование, протеомные подходы и другие, чрезвычайно востребованы сейчас при расшифровке всплеск инфекционных болезней, так как существенно повышают эффективность диагностики и позволяют пополнять коллекции живых культур для решения в дальнейшем задач молекулярной эпидемиологии.

Большой раздел современной микробиологии, связанный с изучением биологически активных компонентов микробных клеток непатогенных и условно патогенных бактерий, имеет существенное фундаментальное значение и может использоваться как для медицинских целей (например, создание антимикробных средств), так и для решения биотехнологических задач. Развитие концепции «микробиома» макроорганизма также ставит задачу, прежде всего перед бактериологами, по выявлению симбиотических взаимоотношений между прокариотами, влиянию этих процессов на общее состояние организма человека и возникновение соматических заболеваний.

Журнал представлен в Российском индексе научного цитирования, Ulrich's periodical directory, Crossref и Google scholar.

Формат: А4 • Тираж: от 2500 экземпляров • Объем: от 80 страниц • Периодичность: 4 раза в год • Печать: полноцветная

Распространение: адресная рассылка; подписка; распространение на специализированных форумах и выставках

Электронное распространение: www.elibrary.ru; www.eastview.com

On-line версия www.phdynasty.ru

Государственная коллекция патогенных микроорганизмов и клеточных культур

Список услуг,
предоставляемых ГКПМ-Оболensk

ГКПМ-Оболensk

ГКПМ-Оболensk – специализированная коллекция, основными видами деятельности которой являются сбор, хранение и изучение патогенных штаммов бактерий, а также бактериофагов, грибов и клеточных линий.

Коллекция оказывает услуги:

- депонирование (в том числе для целей национальной патентной процедуры) различных микроорганизмов;
- предоставление тестовых штаммов (тест-культур, контрольных штаммов, референс-штаммов, стандартных эталонных штаммов), предназначенных для контроля качества питательных сред;
- идентификация и изучение микроорганизмов.

Руководитель ГКПМ-Оболensk – директор ФБУН ГНЦ ПМБ, академик РАН, д.м.н., профессор Дятлов Иван Алексеевич

Подразделение, ответственное за осуществление деятельности
ГКПМ-Оболensk – отдел коллекционных культур ФБУН ГНЦ ПМБ

Заведующий отделом
коллекционных культур – к.б.н.
Богун Александр Геннадьевич
Тел.: +7 (4967) 36-00-00

Выдача* типовых (тестовых)
штаммов микроорганизмов
– Галкина Елена Вячеславовна
Тел.: +7 (4967) 31-21-56

*Для получения штаммов микроорганизмов необходимо подать заявку на бланке организации-заявителя. Заявка должна быть заверена подписью руководителя организации, приобретающей штамм и печатью организации. К заявке необходимо приложить копию лицензии на право работы с патогенными биологическими агентами. Для укоренения процедуры получения штаммов ГКПМ-Оболensk рассматривает факсимильные и электронные копии документов. Заявки необходимо отправлять на факс +7 (4967) 36-00-03 или электронный адрес info@obolensk.org. В заявке желательно указать контактные данные сотрудника, заинтересованного в получении штамма.

п/п	Наименование	Цена
1.	Выдача типовых штаммов микроорганизмов в лиофилизированном состоянии	2500 рублей за ампулу
2.	Депонирование штамма микроорганизма для целей национальной патентной процедуры	бесплатно
3.	Депонирование клеточной линии для целей национальной патентной процедуры	бесплатно
4.	Выдача депозитору образца депонированного штамма	500 рублей
5.	Идентификация микроорганизмов на системе MALDI-Biotyper:	
	1-3 культуры	1000 рублей за культуру
	4-10 культур	750 рублей за культуру
	≥11 культур	500 рублей за культуру
6.	Идентификация микроорганизмов по последовательности 16SrRNA и на системе MALDI-Biotyper:	
	1-3 культуры	7000 рублей за культуру
	4-10 культур	6000 рублей за культуру
	≥11 культур	5000 рублей за культуру
7.	Идентификация микроорганизмов на основании биохимических признаков с использованием системы микроб-автомат	по договоренности
8.	Идентификация микроорганизмов на основании биохимических признаков с использованием системы Biolog	по договоренности
9.	Идентификация микроорганизмов на основании биохимических признаков с использованием системы Vitek	по договоренности
10.	Определение метаболического профиля микроорганизма на системе Biolog	по договоренности
11.	Секвенирование генома микроорганизма на системах MiSeq и/или IonTorrent PGM (работы включают выделение ДНК микроорганизма, приготовление библиотеки, секвенирование, первичный биоинформационный анализ)	от 30 000 рублей за геном
12.	Наработка инактивированной биомассы микроорганизма	по договоренности
13.	Наработка препарата ДНК микроорганизма	по договоренности
14.	Другие исследования	по договоренности