

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2022 • ТОМ 7 • №3



Материалы VII Национального конгресса бактериологов,
посвященного 100-летию со дня образования
Государственной санитарной службы России.
г. Санкт-Петербург, 28-30 сентября 2022 г.

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Научно - практический журнал

Главный редактор

И.А.Дятлов, академик РАН, д.м.н., профессор
(Россия)

Ответственный секретарь

И.Г.Говорунов, к.б.н.
(Россия)

Редакционный совет

А.П.Анисимов, д.м.н., проф. (Россия)
С.В.Балахонов, д.м.н., проф. (Россия)
А.Н.Куличенко, член-корр. РАН, д.м.н., проф. (Россия)
В.В.Кутырев, академик РАН, д.м.н., проф. (Россия)
Н.В.Рудаков, д.м.н., проф. (Россия)
Сун Чжичжоу (Китай)

Редколлегия

Адьяасүрэн Зэвиймядагийн, к.м.н. (Монголия)	С.Г.Марданлы, д.м.н. (Россия)
И.А.Базиков, д.м.н., проф. (Россия)	Т.В.Мека-Меченко, д.м.н. (Казахстан)
В.А.Горбунов, к.м.н. (Белоруссия)	В.Л.Мотин, проф. (США)
С.В.Дентовская, д.м.н. (Россия)	Т.В.Припутневич, д.м.н. (Россия)
Л.В.Домотенко, к.х.н. (Россия)	А.Ракин (Германия)
Г.А.Каримова, к.б.н. (Франция)	Э.А.Светоч, д.в.н., проф. (Россия)
А.В.Карлышев, к.х.н., проф. (Англия)	В.Н.Царев, д.м.н., проф. (Россия)
Л.В.Коломбет, д.б.н. (Россия)	Л.Н.Черноусова, д.б.н., проф. (Россия)
М.Косой, к.б.н. (США)	К.Ю.Шаталин, к.б.н. (США)
Ш.Х.О.Курбанов, к.м.н. (Азербайджан)	И.Г.Шемякин, д.б.н., проф. (Россия)
И.Х.Маматкулов, д.м.н., проф. (Узбекистан)	А.П.Шепелин, д.б.н. (Россия)

Учредитель

© Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Адрес учредителя и редакции:

142279, Московская область,
г.о. Серпухов, р.п. Оболенск,
Территория «Квартал А», д. 24,
ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: +7-4967-360003
+7-4967-360046
Факс: +7-4967-360010

E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Издатель

© «Издательство «Династия»



www.phdynasty.ru

117149, г. Москва, ул. Азовская, д. 6, к. 3, этаж 8

Подписано в печать 15.09.2022 г.

Отпечатано: Мастерская печати Old School,
603105, Нижний Новгород, ул. Чачиной, 39а, оф. 5

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Регистрационный номер
ПИ №ФС 77-66792 от 15.08.2016 г.

Журнал «Бактериология»
является рецензируемым изданием.

Выходит четыре раза в год.
Основан в 2016 году.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.

Тираж 1630 экз. Цена свободная.

Отдел рекламы:
Телефон: +7 495 660-6004
E-mail: reklama@phdynasty.ru

Подписной индекс по объединенному
каталогу «Пресса России»: 39920

Приветственное слово руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Анны Юрьевны Поповой к организаторам и участникам VII Национального конгресса бактериологов, посвященного 100-летию со дня образования Государственной санитарной службы России	8
Эндолизины <i>Staphylococcus aureus</i> как инновационные средства против MRSA Абаев И.В.	11
Антибиотикорезистентность грамотрицательной флоры у пациентов с сепсисом Абрамовских О.С., Четвернина Е.А., Савочкина А.Ю., Молчанова И.В.	11
Эндолизины vs бактериофаги: перспективы производства, эффективность и безопасность применения Алешкин А.В., Воробьев А.М., Бочкарева С.С., Новикова Л.И., Анурова М.Н., Киселева И.А., Зулькарнеев Э.Р., Лаишевцев А.И., Багандова К.М., Мизаева Т.Э., Васина Д.В., Антонова Н.П., Гушин В.А.	12
Биотехнологический потенциал использования дальневосточной красной морской водоросли <i>Ahnfeltia tobuchiensis</i> для получения микробиологического агара для культивирования бактерий Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Бынина М.П.	13
Методическое обоснование протокола и выбор лабораторной модели изучения фенотипов некультивируемых форм бактерий Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Ляпун И.Н.	13
Способ динамического моделирования условий и динамики формирования бактериальных биопленок в морских экосистемах Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Ляпун И.Н.	14
Эпидемиологическое значение патогенных энтеробактерий, находящихся в морских экосистемах в некультивируемом состоянии Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф.	15
Анализ этиологической роли бактерий группы ESKAPE при внебольничной пневмонии у коронапозитивных пациентов на фоне разных геновариантов вируса SARS-CoV-2 Аронова Н.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Водопьянов А.С., Гудуева Е.Н., Чемисова О.С., Носков А.К.	15
Клонирование и изучение функциональной активности гена <i>bla</i>_{CTX-M-11} идентифицированного в клинических штаммах <i>Acinetobacter baumannii</i> Асташкин Е.И., Федюкина Г.Н., Хохлова О.Е., Авдеева В.А., Фурсова Н.К.	16
Характеристика нового изолированного бактериофага, активного в отношении <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Багандова К.М., Зулькарнеев Э.Р., Мизаева Т.Э., Воробьев А.М., Киселева И.А., Алешкин А.В.	17
Микробиологическая значимость грибов рода <i>Candida</i> у пациентов с ВИЧ-положительным статусом и вирусными инфекциями различной этиологии Байракова А.Л., Федькина Ю.А., Лахтин В.М.	17
Фенотипические особенности штаммов <i>Yersinia pestis</i>, изолированных в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы Балахонов С.В., Витязева С.А., Ярыгина М.Б., Отгонбаяр Д., Цэрэнноров Д.	18
Организация лаборатории по диагностике COVID-19 в начале эпидемии вируса SARS-CoV-2 Благодатских С.А., Курилова А.Е.	18
Филогенетический анализ штаммов <i>Bacillus anthracis</i>, выделенных в период вспышек сибирской язвы в Республике Дагестан в 2019–2021 годах Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Семенова О.В.	20
Особенности микробиоты при периимплантитах Богачева Н.В., Тунева Н.А.	20
Этиологическая структура пневмоний с летальным исходом в период пандемии новой коронавирусной инфекции Бондаренко А.П., Троценко О.Е., Огиенко О.Н., Голубева А.О., Запрегалова Л.А., Бобровникова М.Ю.	21
Мышиная модель летального листериозного сепсиса, предназначенная для оценки эффективности антибактериальных препаратов Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Перескокова Е.С., Ганина Е.А.	22
Особенности и проблемы микробиологической диагностики бруцеллеза в неэпидемических районах Боронина Л.Г., Саматова Е.В.	22
Физико-химические и бактериологические характеристики питьевой воды различных источников водоснабжения г. Конакри (Гвинейская Республика) Буаро М.И., Камара Т., Константинов О.К., Бумбали С.	23
Лабораторное подтверждение коклюша при стертой клинической картине методом полимеразной цепной реакции Видманова М.В., Большакова Л.Н.	23

Полисахарид-деполимеразы бактериофагов <i>Klebsiella pneumoniae</i>: специфичность и антивирулентные свойства Воложанцев Н.В., Красильникова В.М., Вережкин В.В., Борзилов А.И., Денисенко Е.А., Слукин П.В., Макарова М.А., Попова А.В.	24
Ионная и коллоидная формы серебра как альтернатива антибактериальным средствам Гапон М.Н., Лещенко Д.А., Логинов И.А., Тагиров З.Т.	25
Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных от пациентов многопрофильного детского стационара Гладин Д.П., Гончарова А.Р., Королюк А.М., Козлова Н.С., Ананьева О.В., Горбунов О.Г.	25
Обнаружение <i>Klebsiella oxytoca</i> в сливочном масле Глазатова Г.В., Перепелкина А.В., Зайцева Е.Ю.	26
Сравнительный анализ особенностей заболеваемости туляремией в эндемичных регионах Российской Федерации Говорунов И.Г., Фольмер А.В.	26
База данных «Зооантропонозы на Ближнем Востоке» Говорунов И.Г., Фольмер А.В., Храмов М.В.	27
Опыт оценки функциональной активности клинических штаммов <i>Lactobacillus spp.</i> Годовалов А.П., Карпунина Т.И.	27
Мониторинг за циркуляцией антибиотикорезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от пациентов одного из стационаров г. Ростова-на-Дону Голошва Е.В., Маркова К.Г., Алешукина А.В., Жуковская И.В.	28
Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика клинического штамма <i>Candida auris</i> Горемыкина Е.А., Слукин П.В., Подгорная Н.Н., Борзилов А.И., Комбарова Т.И., Фурсова Н.К.	29
Определение доли антибиотикорезистентных штаммов рода <i>Listeria</i>, изолированных из готовой пищевой продукции Деревянченко И.А., Краева Л.А.	29
Определение эффективности алгоритмов машинного обучения при видовой идентификации микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии Детушев К.В., Хамитова М.Д., Богун А.Г.	30
Анализ вариабельности геномов штаммов <i>Bacillus anthracis</i> разных генетических линий Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А., Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Головинская Т.М., Герасименко Д.К., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н.	31
Разработка и использование латексных тест-систем для идентификации патогенных бактерий Ерусланов Б.В., Светоч Э.А., Мицевич И.П., Храмов М.В., Шепелин А.П.	31
Пробоподготовка и обеззараживание суспензий иксодовых клещей для поиска туляремийного антигена Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Остапович В.В., Мироненко Е.А., Рамзаева Ю.С., Коняева О.А.	32
Современное состояние и перспективы развития лабораторной диагностики мелиоидоза Захарова И.Б.	32
Получение гибридом, синтезирующих мышиные моноклональные антитела против легкой цепи ботулотоксина типа А Зенинская Н.А., Марьин М.А., Рябко А.К., Карцева А.С., Силкина М.В., Комбарова Т.И., Романенко Я.О., Шемякин И.Г., Фирстова В.В.	33
Изучение формирования и напряженности поствакцинального гуморального иммунного ответа у перенесших COVID-19 разной степени тяжести Иванова И.А., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Омельченко Н.Д.	33
Серотиповой спектр пневмококков, циркулирующих в 2020–2021 годах в Республике Татарстан среди детей-носителей дошкольного возраста Исаева Г.Ш., Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Хусаинова Р.М., Зарипова А.З., Зиятдинов В.Б.	34
Разработка базы данных «Новые перспективные штаммы-продуценты бактериоцин-подобных соединений и биологически активных веществ» Калмантаев Т.А., Клыкова М.В., Дунайцев И.А., Похиленко В.Д., Жиглецова С.К., Говорунов И.Г.	34
Филогенетический анализ штаммов <i>Yersinia pestis</i> из природных очагов Северного Приаралья по данным полногеномного SNP-типирования Карапетян Л.А., Нарышкина Е.А., Ерошенко Г.А.	35
Анализ молекулярно-генетического разнообразия и эволюционно-географического распространения штаммов возбудителя бруцеллеза на территории Российской Федерации Ковалев Д.А., Писаренко С.В., Пономаренко Д.Г.	36
Частота распространения дрожжевых грибов при антибиотик-ассоциированной диарее Колеватых Е.П., Потехина С.В.	36
Разработка базы данных «Штаммы фосфатрастворяющих микроорганизмов – перспективные продуценты для борьбы с патогенами человека, животных и растений» Кондрашенко Т.Н., Клыкова М.В., Дунайцев И.А., Жиглецова С.К., Говорунов И.Г.	37
Экспресс-метод определения чувствительности к бактериофагам как способ борьбы с антибиотикорезистентностью Конькова Л.С., Краева Л.А.	37
Определение чувствительности <i>Campylobacter spp.</i> к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера–Хинтона различных производителей в рамках программы импортозамещения Косилова И.С., Домотенко Л.В., Шепелин А.П.	38

Опыт применения питательных сред для контроля безопасности пищевой продукции в условиях импортозамещения Котенева Е.А., Волокитина Е.Н.	38
Выявление индивидуальных особенностей биологических свойств штаммов <i>Bacillus anthracis</i> на почвенной среде для оценки их способности завершать полный жизненный цикл в почве Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Калинин А.В., Абрамович А.В., Щербакова В.Ю., Родионов И.С.	39
Особенности смены морфофункциональных форм различных штаммов <i>Bacillus anthracis</i> при развитии бактериальной культуры в условиях, имитирующих <i>in vivo</i> Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Калинин А.В., Щербакова В.Ю., Родионов И.С., Абрамович А.В.	40
Оценка физико-химических и иммунобиологических показателей (аналитические чувствительность и специфичность) эритроцитарного антигенного туляремийного диагностикума лиофилизированного Кошкидько А.Г., Жарникова И.В., Жданова Е.В., Русанова Д.В., Гнусарева О.А.	40
Механизм формирования устойчивости к бактериофагам при фаготерапии клебсиеллезного сепсиса у мышей Красильникова В.М., Веревкин В.В., Денисенко Е.А., Борзилов А.И., Воложанцев Н.В.	41
Уникальный резистом <i>Klebsiella pneumoniae</i>, включающий в себя гены трех карбапенемаз OXA-48, NDM-1 и KPC-, цефалоспорины СТХ-M-15 и интегроны класса 1 Кузина Е.С., Кисличкина А.А., Скрабин Ю.П., Сизова А.А., Новикова Т.С., Асташкин Е.И., Фурсова Н.К.	41
Разработка латексного бруцеллезного антигенного диагностикума Курносина М.М., Жарникова И.В., Кошкидько А.Г., Русанова Д.В.	42
Коммуникации в патогенном микробиоценозе Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л., Давыдкин В.Ю., Комбарова С.Ю.	43
Прогнозирование потенциала активностей белковых гормонов с использованием гликоконъюгатов Лахтин В.М., Лахтин М.В., Комбарова С.Ю.	43
Классификации постковидных синдромов пациентов 65+ Лахтин В.М., Лахтин М.В., Мелихова А.В., Комбарова С.Ю.	44
Генетическое разнообразие нетоксигенных штаммов <i>Vibrio cholerae</i> O, изолированных из водных экосистем Республики Калмыкия в 1999–2021 годах Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ренгач М.В., Горюх А.М.	44
Мониторинг циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций на территории Республики Армения в 2022 году Лисицкая Я.В., Гнусарева О.А., Шапошникова Л.И., Лазаренко Е.В., Волынкина А.С., Оганян Г.С., Сакоян Г.Г., Маркосян Л.Р., Асатрян К.Г., Кулахсян В.В., Манучарян А.Ф.	45
Создание базы данных микромицетов Восточной Палеарктики из коллекции «ГКПМ-Оболенск», антагонистически активных в отношении возбудителя сибирской язвы Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Дунайцев И.А., Говорунов И.Г.	46
Применение многофакторного подхода в ранжировании административных территорий Ростовской области по степени риска осложнения ситуации по сибирской язве Логвин Ф.В., Герасименко Д.К., Рязанова А.Г., Мезенцев В.М., Чмеренко Д.К.	46
Антитела к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотках крови доноров и препаратах иммуноглобулинов Лютюв А.Г., Алешкин В.А., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Кострова О.М.	47
Использование конфокальной микроскопии для изучения формирования бактериальных биопленок Макарова М.А., Воложанцев Н.В., Красильникова В.М., Фирстова В.В.	47
Современные средства и методы индикации бактериальных и вирусных патогенов в санитарной микробиологии Малышев В.В., Азаров И.И., Змеева Т.А.	48
Роль культурального метода в лабораторной диагностике брюшного тифа и паратифа А Марчихина И.И., Полосенко О.В., Шепелин А.П.	49
Бактерицидный потенциал фагоцитов в условиях бруцеллезной суперинфекции Матвиенко А.Д., Логвиненко О.В., Ракина Е.Л., Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г.	49
Короткоцепочечные жирные кислоты в качестве сигнальных молекул биопленок кишечной микрофлоры Матосова Е.В., Бынина М.П., Шеховцова О.А., Андрюков Б.Г., Обухова В.С.	50
Антиадгезивное действие холодной гелиевой плазмы на грибы рода <i>Candida</i> Махрова Т.В., Галка А.Г., Лукова О.А., Заславская М.И.	50
Способность холерных вибрионов различных серогрупп и токсигенности формировать биопленку на поверхности хитинового панциря речного рака Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О.	51
Анализ циркуляции геновариантов новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 на территории Челябинской области Москвица Т.И., Усольцева Н.М., Софьина Н.С., Лебедева Я.Е., Балташева Р.А.	51
Диагностическая ценность реакции коагулирования при лабораторных исследованиях у пациентов с генитальной гонококковой инфекцией Оборин Д.А., Годовалов А.П.	52

Оценка встречаемости и антибиотикорезистентности <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> у детей Петренко Е.А., Зайцева Е.А., Марияш С.С.	53
Анализ исследований гистологического метода определения растительных углеводных и белковых добавок в мясе и мясных продуктах Петрова О.С., Дубовая Н.Н.	53
Микробиологический мониторинг за циркуляцией сальмонелл на территории Челябинской области в 2019–2021 годах Петрова О.С., Терентьева Н.В., Дубовая Н.Н., Мухомедьярова И.И., Лямкина Д.Д., Москвина Т.И.	55
Штаммы <i>Yersinia pestis</i> из природных очагов чумы Кавказа и Закавказья в контексте глобальной эволюции вида Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В.	56
Влияние цистеина гидрохлорида и глутамината на рост <i>Lactobacillus iners</i> Подкопаев Я.В., Домотенко Л.В., Шепелин А.П.	56
Системный подход к определению микробиологических показателей объектов санитарной микробиологии Полосенко О.В., Шепелин А.П.	57
Микробные сообщества поверхностных водоемов в местах выделения микроорганизмов рода <i>Vibrio</i> Пономарева А.С., Миронова Л.В., Галачьянц Ю.П., Балахонов С.В.	57
Иммуноферментный метод в лабораторной диагностике <i>Aspergillus fumigatus</i> Попова С.В., Коротаева К.Н., Зайцева И.В., Поляков Ю.А.	58
Фенотипические особенности биологических свойств <i>Enterococcus faecalis</i>, выделенных из разных биотопов Пушилини А.Д., Зайцева Е.А., Коменкова Т.С., Вайсеро Н.С., Трегубова Т.С., Маркина П.С., Матушинец А.О.	59
Оценка резистентности бактериальных патогенов в отношении нановолокон на основании куркумина Рогачева Е.В., Краева Л.А.	59
Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры озер г. Копейска, Красноармейского района Челябинской области в период 2019–2021 годов Ромазанова Д.К., Щербачева Т.А., Кухранова Л.И.	60
Сравнительная характеристика α- и β-дефензинов при лечении инфицированных ран в эксперименте Рубайло М.В., Базиков И.А., Мальцев А.Н., Боташева В.С.	61
Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями Рудаков Н.В., Шпынов С.Н., Рудакова С.А., Пеньевская Н.А., Штрек С.В., Кумпан Л.В., Санников А.В., Савельев Д.А., Самойленко И.Е., Блох А.И.	62
Свойства асоризина А – многофункционального белка возбудителей аспергиллеза Рябинин И.А.	62
Совершенствование серологической диагностики холеры с помощью липосомальной диагностической тест-системы Савельева И.В., Подопригора Е.И., Савельев В.Н., Куличенко А.Н.	63
Изучение спонтанной зараженности клещей возбудителями инфекций, передающихся клещами Савицкая Т.А., Исаева Г.Ш., Решетникова И.Д., Тюрин Ю.А., Бруслик Н.Л.	64
Изучение сочетанного действия масла чабера горного и химиопрепаратов на рост условно-патогенных микроорганизмов Сатаева Т.П., Логадырь Т.А., Постникова О.Н., Шевкопляс Л.А.	64
Исследование филогении и популяционной структуры <i>Yersinia pestis</i> из природных очагов чумы Прибалхашья методом SNP-анализа Сидорин А.С., Балькова А.Н., Никифоров К.А., Ерошенко Г.А.	65
Проблемы получения и очистки рекомбинантного эндолизина, нового антимикробного средства против штаммов MRSA Скрябин Ю.П., Фурсова А.Д., Коробова О.В., Абаев И.В.	65
Взаимосвязь лабораторных показателей и клинических проявлений новой коронавирусной инфекции (COVID-19) Славнухина Л.В., Зубова М.В., Игнашева Я.С.	66
Оценка вирулентности микроорганизмов III–IV групп патогенности на модели личинок <i>Galleria mellonella</i> Слукин П.В., Горемыкина Е.А., Подгорная Н.Н., Воложанцев Н.В., Абаев И.В., Хохлова О.Е., Фурсова Н.К.	67
Эпидемиологическая ситуация по описторхозу на территории Челябинской области в период 2019–2021 годов Смолина Е.В., Сухоручкина М.С., Колесникова Е.А.	68
Разработка пробиотических препаратов на основе альгинатных микросфер Сомов А.Н., Дунайцев И.А., Похиленко В.Д., Клыкова М.В., Чукина И.А.	69
Некоторые аспекты по организации работы лаборатории особо опасных инфекций в период пандемии новой коронавирусной инфекции Софьина Н.С., Усольцева Н.М., Балташева Р.А.	70
Спектр значимых микроорганизмов в развитии инфекции хирургической акушерской раны Старикова Д.В., Богачева Н.В.	71
Чувствительность к антибиотикам штаммов бактерий, выделенных из крови пациентов стационара Ростова-на-Дону Старовойтова В.О., Козлова Н.С.	72

Проблема сохранения лечебно-профилактических свойств молозива здоровых коров в процессе его сбора и хранения Танькова Н.Л., Алешкин А.В., Мизаева Т.Э., Багандова К.М., Зулькарнеев Э.Р., Воробьев А.М., Киселева И.А., Ефимова О.Г.	73
Видовое разнообразие бактерий рода <i>Lactobacillus</i>, изолированных из нижних дыхательных путей ковидпозитивных пациентов Ташланова В.В., Катаева Л.В., Степанова Т.Ф.	73
Методические подходы к разработке инновационных подходов к санитарно-микробиологическому контролю прибрежных рекреационных зон морских экосистем залива Петра Великого Японского моря Тимченко Н.Ф., Андрюков Б.Г.	74
Сохранение холерных вибрионов в биопленках на пластиковом субстрате в условиях эксперимента Титова С.В., Меньшикова Е.А., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Бородина О.В., Селянская Н.А.	74
Микробиологический контроль качества воды Северо-Крымского канала Тихонов С.Н., Пеньковская Н.А., Листопад С.А., Ситникова А.Л., Василенко К.А.	75
Оценка фармакокинетики экспериментального коктейля холерных фагов на модели лабораторных животных Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Омельченко Н.Д., Пасюкова Н.И.	75
Анализ устойчивости к дезинфектантам бактерий рода <i>Enterococcus</i>, выделенных из водных объектов г. Владивостока Ускова С.С., Мартынова А.В.	76
Молекулярно-клеточные механизмы взаимоотношения <i>Mycobacterium tuberculosis</i> с альвеолярными макрофагами – хозяевами инфекции в легких пациентов, больных туберкулезом Уфимцева Е.Г., Еремеева Н.И.	77
Вспышки пищевых инфекций и эксфолиативного дерматита в период с 2018 по 2022 год в регионах Российской Федерации Фурсова А.Д., Скрябин Ю.П., Мицевич И.П., Абаев И.В.	77
Некультивируемые формы бактерий Хайтович А.Б.	78
Спектр антител классов А, М, G к <i>Rickettsia conorii</i> у пациентов с подтвержденным методом ПЦР диагнозом «астраханская пятнистая лихорадка» Чеканова Т.А., Неталиева С.Ж., Петремгдлишвили К., Бабаева М.А.	78
Генетические варианты вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулировавшие на территории Ставропольского края в 2016–2021 годах Чекрыгина Е.В., Тищенко И.В., Ростовцева Д.В., Лисицкая Я.В., Василенко Е.И., Речицкая Н.О., Волынкина А.С.	79
Оценка антибиотикорезистентности токсигенных штаммов <i>Vibrio cholerae</i> Чемисова О.С., Цырулина О.А., Сагакянц М.М., Селянская Н.А., Тришина А.В., Носков А.К.	80
Питательные среды для индикации и идентификации возбудителя холеры Шепелин А.П., Полосенко О.В., Шолохова Л.П., Марчихина И.И.	80
Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры воды озер г. Челябинска за 2019–2021 годы Щербакова Т.А., Ромазанова Д.К., Кухранова Л.И., Москвина Т.И., Петрова О.С.	81
Анализ зараженности клещей, снятых с людей в Подмоскowie, возбудителями боррелиоза Щит И.Ю., Решетняк Т.В., Говорунов И.Г., Фольмер А.В., Бикетов С.Ф.	82

Экспериментальные статьи / Experimental Articles

Проблемы учета заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации с использованием баз данных / Problems of recording the incidence of tularemia in the Russian Federation using databases И.Г.Говорунов / I.G.Govorunov	83
---	----

Оценка некоторых эксплуатационных характеристик инженерных систем биологической безопасности бактериологических лабораторий различных уровней защиты / Evaluation of some operating characteristics of engineering biological safety systems of bacteriological laboratories with different protection levels Е.А.Тюрин, О.Б.Шишкина, С.А.Благодатских / E.A.Tyurin, O.B.Shishkina, S.A.Blagodatskikh.	88
--	----

Обзорная статья / Review Article

<i>Clostridioides difficile</i> – возбудитель антибиотик-ассоциированной диареи и псевдомембранозного колита (часть 2) / <i>Clostridioides difficile</i> is the causative agent of antibiotic-associated diarrhea and pseudomembranous colitis (part 2) Б.В.Ерусланов, Э.А.Светоч, И.П.Мицевич, Н.К.Фурсова / B.V.Eruslanov, E.A.Svetoch, I.P.Mitsevich, N.K.Fursova	94
---	----

Правила оформления статей / Instructions for Authors	110
--	-----

BACTERIOLOGY

Scientific and Practical Journal

Editor-in-Chief

I.A.Dyatlov, academician of RAS
(Russia)

Executive Secretary

I.G.Govorunov, PhD
(Russia)

Editorial Council

A.P.Anisimov, Sc.D., prof. (Russia)
S.V.Balakhonov, Sc.D., prof. (Russia)
A.N.Kulichenko, corr. member of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
V.V.Kutyrev, academician of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
N.V.Rudakov, Sc.D., prof. (Russia)
Sun Chzhichzhou (China)

Editorial Board

Ad"yaasyren Zeviiymadagiin, PhD (Mongolia)	I.Kh.Mamatkulov, Sc.D., prof. (Uzbekistan)
I.A.Bazikov, Sc.D., prof. (Russia)	S.G.Mardanly, Sc.D. (Russia)
L.N.Chernousova, Sc.D., prof. (Russia)	T.V.Meka-Mechenko, Sc.D. (Kazakhstan)
S.V.Dentovskaya, Sc.D. (Russia)	V.L.Motin, prof. (USA)
L.V.Domotenko, PhD (Russia)	T.V.Priputnevich, ScD (Russia)
V.A.Gorbunov, PhD (Belarus)	A.Rakin (Germany)
G.A.Karimova, PhD (France)	K.Yu.Shatalin, PhD (USA)
A.V.Karlyshev, PhD, prof. (England)	I.G.Shemyakin, Sc.D., prof. (Russia)
L.V.Kolombet, Sc.D. (Russia)	A.P.Shepelin, Sc.D. (Russia)
M.Kosoi, PhD (USA)	E.A.Svetoch, Sc.D., prof. (Russia)
Sh.Kh.O.Kurbanov, PhD (Azerbaijan)	V.N.Tsarev, Sc.D., prof. (Russia)

Founder and Publisher

© State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Editorial Office:

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Obolensk, Moscow region, 142279
Phone: +7-4967-360003, +7-4967-360046
Fax: +7-4967-360010
E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Publisher

© «Dynasty» Publishing House



www.phdynasty.ru

Advertising Department:

Phone: +7 495 660 6004; e-mail: reklama@phdynasty.ru

Приветственное слово руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Анны Юрьевны Поповой к организаторам и участникам VII Национального конгресса бактериологов, посвященного 100-летию со дня образования Государственной санитарной службы России (28–30 сентября 2022 г., г. Санкт-Петербург)



Уважаемые коллеги!

От имени Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека приветствую вас на очередном VII Национальном конгрессе бактериологов.

Ежегодно проводимый конгресс становится ярким и важным событием в жизни бактериологов нашей страны и ближнего зарубежья, всех тех, кто интересуется проблемами медицинской микробиологии: современными нормативными требованиями и методами проведения исследований при лабораторной диагностике инфекционных болезней, при санитарно-бактериологических исследованиях качества и безопасности пищевых продуктов, воды, кормов для животных и других объектов окружающей среды, при санитарно-микробиологическом мониторинге в системе эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями.

VII Национальный конгресс бактериологов проходит в юбилейный год для Государственной санитарно-эпидемиологической службы России. Советом Народных Комиссаров РСФСР 15 сентября 1922 г. был издан декрет «О санитарных органах республики». За вековой период своего развития Государственная санитарно-эпидемиологическая служба России преобразовалась в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор), обеспечивающую контроль за санитарно-эпидемиологической обстановкой в стране, сдерживание ее ухудшения, снижение общей и инфекционной заболеваемости населения и смертности от инфекционных болезней, предотвращение распространения особо опасных инфекций. Деятельность Роспотребнадзора не ограничивается границами Российской Федерации – развивается и укрепляется сотрудничество с международными организациями, а также ведомствами иностранных государств, ответственными за обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения.

Роспотребнадзор является ключевым ведомством в области контроля за биологической безопасностью в России. Служба занимается мониторингом ситуации в мире, участвует в международных группах и организациях, специалисты Роспотребнадзора оказывают помощь, в том числе проводят лабораторные исследования в случае эпидемий в различных странах, например в Монголии, Гвинее, Вьетнаме, Таиланде.

Роспотребнадзор инициирует и проводит научно-исследовательские работы во многих смежных областях своей деятельности. Наиболее значимыми научными направлениями деятельности Службы являются вопросы обеспечения биологической безопасности Российской Федерации, реализации федерального проекта «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья», государственной программы «Обеспечение химической и биологической безопасности Российской Федерации». Основные задачи научной деятельности Роспотребнадзора – совершенствование эпидемиологического надзора, лабораторной диагностики, защиты населения страны от патогенных биологических агентов, вредных факторов окружающей среды.

Бактериологические исследования в последние годы занимают значительное место в решении медицинских проблем, связанных с появлением новой коронавирусной инфекции. Это вызвано увеличением количества бактериальных осложнений у больных. Ситуация усугубляется нарастанием лекарственной устойчивости патогенных микроорганизмов – возбудителей осложнений, прежде всего к антибиотикам и дезинфицирующим средствам. Мониторинг резистентности, выявление генетической детерминированности фенотипического проявления устойчивости патогенов к лекарственным средствам являются основой для выбора рациональной антибактериальной терапии при купировании осложнений после коронавирусной инфекции.

Научное сопровождение деятельности Роспотребнадзора осуществляется целым рядом подведомственных научно-исследовательских институтов и противочумных учреждений, представители которых собрались сегодня для участия в работе конгресса. В этих организациях проводятся исследования мирового уровня на самом современном оборудовании всемирно известными учеными. С 2019 г. три научно-исследовательских института Роспотребнадзора включены в состав Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости, который создан и функционирует в рамках Национального проекта «Наука» и Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 гг. В Программе создания и развития Центра большая часть исследований и разработок посвящена сфере медицинской микробиологии. Это разработки в области создания новых рекомбинантных вакцин против бактериальных особо опасных инфекций, новых средств и методов борьбы с антибиотикорезистентностью, основанных на создании генно-инженерных биологических препаратов: рекомбинантных ферментов бактериофагов и природных бактериоцинов. Значительное место в работе Центра занимает создание «Национального интерактивного каталога патогенных микроорганизмов и биотоксинов», призванного решать задачи молекулярной эпидемиологии и сохранения биоразнообразия патогенов, ускоренного выявления и идентификации выделяемых культур возбудителей инфекционных болезней. Существенно продвинулись исследования в области создания человеческих моноклональных антител для купирования состояний, вызванных токсинами биологического происхождения. Нет сомнений, что поставленные задачи федеральных проектов и государственных программ будут успешно решены.

На предстоящем научном форуме будут подведены итоги выполненных в стране исследований в области бактериологической науки, отмечены наиболее перспективные и значимые разработки по созданию диагностических препаратов, средств специфической профилактики и лечения инфекционных болезней, выявлены наиболее важные направления исследований, в том числе те, которые помогут здравоохранению справиться с коронавирусной инфекцией и ее осложнениями.

Выражаю свою уверенность в том, что VII Национальный конгресс бактериологов даст возможность специалистам, работающим в данной области, передать друг другу накопленный опыт, сформировать новые направления исследований, которые будут способствовать существенному улучшению санитарно-эпидемиологической обстановки в стране.

Желаю организаторам и участникам конгресса здоровья, успешной работы и новых творческих достижений.

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



Состав организационного комитета VII Национального конгресса бактериологов

г. Санкт-Петербург, 28–30 сентября 2022 г.

Председатель

Попова Анна Юрьевна

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор)

Заместители председателя

Дятлов Иван Алексеевич

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

Башкетова Наталья Семеновна

Руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по г. Санкт-Петербургу, Главный государственный санитарный врач по г. Санкт-Петербургу

Члены оргкомитета

Кутырев Владимир Викторович

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

Тотолян Арег Артемович

Директор ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, академик РАН, д.м.н., профессор

Куличенко Александр Николаевич

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

Комбарова Светлана Юрьевна

Директор ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, д.б.н. профессор

Рудаков Николай Викторович

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

Фридман Роман Кириллович

Главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург», к.м.н.

Гречанинова Татьяна Александровна

Заместитель главного врача ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербург»

Шепелин Анатолий Прокопьевич

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

Секретариат

Домотенко Любовь Викторовна

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

Говорунов Игорь Геннадиевич

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

Материалы

VII Национального конгресса бактериологов

г. Санкт-Петербург, 28–30 сентября 2022 г.

Эндолизины *Staphylococcus aureus* как инновационные средства против MRSA

Абаев И.В.

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

Эндолизины – это литические ферменты бактериофагов грамположительных бактерий, способные при применении *in vivo* убивать антибиотикорезистентные штаммы, в том числе и при инфекциях, ассоциированных с биопленками. Эндолизины принципиально отличаются от антибиотиков по ряду параметров. В основе литического действия эндолизинов лежит осмотический лизис грамположительных бактерий за счет гидролиза различных ковалентных пептидных и амидных связей пептидогликана. Наиболее разработанными для практического применения в медицине являются эндолизины бактериофагов *Staphylococcus aureus*. Такие эндолизины одинаково успешно действуют против MRSA и MSSA. Действие эндолизинов не зависит от метаболизма бактерий, что приводит к важным последствиям. Эндолизины эффективны против биопленок и персистирующих клеток. Неизвестны случаи появления устойчивых к действию эндолизинов штаммов *S. aureus*. При совместном использовании эндолизинов и антибиотиков наблюдается синергизм. Показано, что применение эндолизинов с антибиотиками резко повышает вероятность и скорость излечения инвазивных инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами *S. aureus*. Неэффективные концентрации антибиотика при совместном применении с эндолизином снова приобретают активность в отношении MRSA-штаммов. Показана высокая результативность лечения системных инфекций, ассоциированных с биопленками *S. aureus*, при комплексном использовании эндолизинов и антибиотиков.

На первом этапе разработка антистафилококковых средств на основе рекомбинантных эндолизинов велась при сохранении нативной конструкции белка. В настоящее время ведутся исследования по конструированию антистафилококковых препаратов на основе рекомбинантных эндолизинов с заданными свойствами и измененной конструкцией литического белка. Для этого используют библиотеки охарактеризованных клонированных каталитических и рецепторных доменов эндолизинов различных типов. При создании новых конструкций эндолизинов используют такие подходы, как измененная конструкция, новая комбинация до-

менов, использование мутаций с повышением или изменением эффективности каталитической активности, включение модулей, способных придать рекомбинантному эндолизину новые функциональные свойства.

Важным этапом разработки антистафилококковых средств на основе рекомбинантных эндолизинов является масштабирование технологии очистки литического рекомбинантного белка. Уже на этапе культивирования штамма-продуцента *Escherichia coli* необходимо учитывать жесткие ограничения по температуре и времени культивирования, что связано с формированием телец включения при суперэкспрессии эндолизина. При очистке рекомбинантного эндолизина необходимо избегать стадии денатурации белка из-за нестабильности литического белка после ренатурации. Популярная при лабораторных исследованиях металл-хелатная аффинная хроматография недостаточно эффективна при работе с рекомбинантными эндолизинами. Наиболее перспективна разработка очистки рекомбинантного эндолизина методами ионообменной хроматографии. Существенным моментом при получении рекомбинантного эндолизина является контроль качества продукции. Этот этап должен включать турбидиметрическое тестирование кинетики литической активности рекомбинантного эндолизина на живых клетках клинических штаммов *S. aureus*. Наиболее адекватным тестом на активность рекомбинантного эндолизина является модель лечения стафилококковой инфекции у лабораторных животных.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение №075-15-2019-1671).

Антибиотикорезистентность грамотрицательной флоры у пациентов с сепсисом

Абрамовских О.С., Четвернина Е.А., Савочкина А.Ю., Молчанова И.В.

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Челябинск, Российская Федерация

Сепсис характеризуется резистентностью и полирезистентностью возбудителей к антибиотикам. Грамотрицательные микроорганизмы обладают разными видами и механизмами резистентности к используемым антибактери-

альным средствам, представляя существенную проблему для общественного здравоохранения.

Цель исследования – провести анализ спектра выделенных грамотрицательных микроорганизмов и чувствительности полученных штаммов к антибактериальным препаратам у пациентов с сепсисом.

Материалы и методы. Проведен анализ результатов микробиологического исследования крови пациентов в возрасте от 28 до 82 лет, пролеченных в ОРИТ ГБУЗ ЧОКБ (Челябинск). Микробиологическая диагностика осуществлялась в лаборатории клинической микробиологии ГБУЗ ЧОКБ с использованием автоматизированной системы BacT/ALERT3D60 (BioMérieux, Франция). Для посева крови использовались стандартные коммерческие флаконы с готовой питательной средой. Идентификация выделенных микроорганизмов проводилась с помощью рутинных микробиологических методов и анализатора VITEK 2 Compact (BioMérieux, Франция). Определение чувствительности выделенных микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводилось с помощью анализатора VITEK 2 Compact. Определение чувствительности к тайгециклину проводилось с помощью анализатора VITEK 2 Compact. Определение чувствительности к тайгециклину проводилось с помощью анализатора VITEK 2 Compact. Определение чувствительности к тайгециклину проводилось с помощью анализатора VITEK 2 Compact.

Результаты. У 48,8% ($n = 22$) пациентов с сепсисом была положительная гемокультура, в 59,1% ($n = 13$) случаев обнаруживались грамотрицательные микроорганизмы. Наиболее часто выделялись штаммы *Klebsiella pneumoniae* (38,5%), *Escherichia coli* (38,5%), *Proteus mirabilis* (15,4%), *Serratia marcescens* (7,7%). *K. pneumoniae* была резистентна к различным антибиотикам, в том числе к цефепиму, цефтазидиму, меропенему. *E. coli* наиболее часто проявляла резистентность к цефепиму, цефтазидиму и цiproфлоксацину. Штаммы *P. mirabilis* отличались высокой устойчивостью к ампицилину, цiproфлоксацину, колистину, гентамицину, нетилмицину. Штаммы *S. marcescens* обладали резистентностью в отношении цефазолина, нетилмицина и колистина. Колистин проявлял наибольшую активность в отношении исследованных штаммов *K. pneumoniae* и *E. coli*. Все штаммы *E. coli* были чувствительны к меропенему и имипенему (из группы карбапенемов). *K. pneumoniae* обладала высокой чувствительностью к гентамицину и тигециклину. Высокий уровень активности против *P. mirabilis* наблюдался при использовании меропинема, фосфомицина, амикацина.

Заключение. Определение чувствительности к антибиотикам исследованных штаммов показало, что при высеве представителей семейства *Enterobacteriaceae* у пациентов с сепсисом до получения результатов оценки антибиотико-чувствительности возбудителей с высокой вероятностью успеха можно использовать карбапенемы (меропенем, имепенем) и колистин.

Эндолизины vs бактериофаги: перспективы производства, эффективность и безопасность применения

Алешкин А.В.¹, Воробьев А.М.¹, Бочкарева С.С.¹, Новикова Л.И.¹, Анурова М.Н.², Киселева И.А.¹, Зулкарнеев Э.Р.¹, Лаишевцев А.И.³, Багандова К.М.¹, Мизаева Т.Э.¹, Васина Д.В.⁴, Антонова Н.П.⁴, Гущин В.А.⁴

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

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация;

³ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И.Скрябина и Я.Р.Коваленко» РАН, Москва, Российская Федерация;

⁴ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Непрекращающийся рост числа микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью ставит перед научным сообществом ряд важнейших задач по поиску альтернативных способов борьбы с такими микроорганизмами. По данным ряда медицинских общественных организаций, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), поражают в среднем 5–15% госпитализированных пациентов, а в отделениях высокого риска – до 40% больных. Социальный и экономический ущерб, наносимый ИСМП, ежегодно составляет в США около 55–60 млрд долл.; в странах ЕЭС – 13–24 млрд евро; в России – 10–15 млрд руб.

Среди множества альтернативных путей борьбы с бактериальными инфекциями широкое распространение получили бактериофаги, эффективные в отношении резистентных штаммов бактерий и обладающие высокой специфичностью действия.

Авторами разработана и запатентована технология получения фильтратов фаголизатов с содержанием вирусных частиц 10^{12} БОЕ/мл и содержанием эндотоксинов <50 ЕЭ/мл.

Разработана концепция персонализированного подхода к фаготерапии ИСМП, в результате использования которой эффективность санации локусов, инфицированных возбудителями с множественной лекарственной устойчивостью, повысилась на 50%, составляя в среднем в участвующих в инициативном исследовании клиниках 84%.

При анализе антифагового гуморального иммунитета у пациентов обнаружено, что пероральный прием бактериофагов приводит к образованию через 2–3 нед. IgG-антител, сохраняющихся в титрах 1:16–1:4096 по крайней мере до года. Повторный курс сопровождается более быстрым подъемом уровня соответствующих антител.

Следующим шагом в применении бактериофагов могут стать рекомбинантные эндолизины – ферменты бактериофагов, которые синтезируются в конце литического цикла и разрушают клеточную стенку бактерий, способствуя высвобождению фагового потомства.

Определен спектр противомикробной активности пяти эндолизинов в отношении 120 штаммов микроорганизмов *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Campylobacter jejuni* и *Enterobacter* spp. Показан более широкий спектр действия эндолизинов по сравнению с бактериофагами, разработаны препараты на основе эндолизинов в форме геля и спрея, показана их эффективность на модели раневой инфекции у кроликов и отсутствие иммунного ответа, что делает их перспективными кандидатами для разработки антибактериальных препаратов.

Более широкий спектр активности позволяет исключить алгоритм персонализированного подбора действующих веществ и избежать применения многокомпонентных смесей в случае комбинированной инфекции, а отсутствие иммунного ответа может обеспечить эффективность их повторного применения.

Также эффективными могут оказаться применение бактериофагов и эндолизинов в комбинации, например при образовании возбудителем биопленок, и реверс-инжиниринг, подразумевающий создание генно-модифицированных бактериофагов, дополнительно синтезирующих заданный эндолизин.

Биотехнологический потенциал использования дальневосточной красной морской водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* для получения микробиологического агара для культивирования бактерий

Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Бынина М.П.

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

В последние годы биополимеры морских водорослей, такие как агар и агароза, вызывают значительный интерес с точки зрения их использования в фармакологии и медицине, привлекая значительное внимание из-за практически неисчерпаемости природных ресурсов и их естественной доступности. Кроме того, их универсальные биологические свойства, такие как нетоксичность, биосовместимость, биоразлагаемость и гибкость, обеспечивают значительную эффективность использования при многофункциональных приложениях.

Мировым биотехнологическим природным ресурсом агара в основном являются морские красные водоросли семейства *Gracilariaceae* (порядок *Gelidiales*). Однако активное использование этих водорослей во многих странах мира для промышленного производства агара привело к истощению их запасов и значительному росту мировых цен на микробиологический агар.

В дальневосточных морях Российской Федерации сосредоточены значительные ресурсы других красных водорослей – семейства *Ahnfeltiaceae* рода *Ahnfeltia* (в частности, его дальневосточного вида – *A. tobuchiensis*), активная добыча которых в промысловых зонах может быть увеличена

за счет сбора штормовых выбросов. В настоящее время в России производство микробиологического агара и агарозы из анфельции отсутствует, а биотехнологический потенциал этой водоросли недооценен, несмотря на наличие запаса этого ценного сырья и потребностей внутреннего рынка, что в условиях интенсификации процесса импортозамещения приобретает особую актуальность.

Целью работы являлось создание эффективной и безопасной технологии получения микробиологического агара из дальневосточной красной морской водоросли *A. tobuchiensis* для культивирования бактерий.

При планировании работы были проанализированы недостатки известных способов получения агаров из морских водорослей и на основании полученных результатов, с учетом особенностей химического строения *A. tobuchiensis* были модифицированы ряд технологических операций, включая экстрагирование (соотношение сырья и экстрагента, температуры, времени, метода и кратности экстракции). Особое значение придавалось технологии десульфатирования, обеспечивающей содержание сульфатов в агаре – критическую характеристику конечного продукта, составляющую по мировым стандартам до 0,6% для микробиологических агаров. Из опыта отечественной и зарубежной практики известно, что при автоклавировании агара, содержащего избыточное количество сульфатов, снижаются его ростовые характеристики. Поэтому авторы использовали в качестве десульфуратора на этапе очистки перекись водорода, которая к тому же, с учетом ее отбеливающих свойств, существенно улучшала качество конечного продукта. В итоге содержание сульфатов в конечном продукте не превышало 0,3%.

Лабораторные испытания полученного агара в качестве основы для приготовления питательных агаров в сравнении с зарубежными коммерческими синтетическими аналогами показали идентичность скорости роста, характеристик колоний и выросших тестовых культур грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Работа выполнена в рамках Госзадания
AAAA-A19-119011090003-7.

Методическое обоснование протокола и выбор лабораторной модели изучения фенотипов некультивируемых форм бактерий

Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Ляпун И.Н.

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

Методологической основой настоящего исследования стала современная концепция о гетерогенности популяции – надорганизменном свойстве бактерий, способствующем их адаптации к условиям окружающей среды на популяционно-коммуникативном уровне. Изучение и анализ литературных источников, результаты экспериментальных исследований некультивируемых (устойчивых) форм бактерий, а также

выбор лабораторной модели убедили в актуальности и перспективности избранного направления исследования.

Планируя исследование, авторы ставили целью создание лабораторной модели не только индукции формирования устойчивых фенотипов, но и многолетнего пребывания экспериментальных изолятов микроорганизмов в анабиотическом состоянии. В подавляющем большинстве современных исследований, направленных на изучение бактериальных фенотипов, находящихся в жизнеспособном, но некультивируемом (viable but nonculturable/VBNC) состоянии, используются протоколы индукции состояния клеточного покоя путем воздействия на вегетативные клетки бактерий различных стрессоров, моделируя возможные влияния на микроорганизмы абиотических факторов среды обитания.

Анализ используемых в России и за рубежом лабораторных моделей индукции *in vitro* у бактериальных клеток состояния VBNC показал, что многие авторы отмечают их основным недостатком кратковременность воздействия стрессоров. При этом абсолютное большинство протоколов включали в себя проведение этапа дифференциации некультивируемых, вегетативных и мертвых клеток. Как правило, для этой цели рекомендуются методы оценки жизнеспособности клеток: культивирование на питательных средах; полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (EMA- и PMA-qPCR); а также прямой подсчет клеток VBNC: LIVE/DEAD BacLight в сочетании с эпифлуоресцентной микроскопией; DVC (CTC-DAPI) или LIVE/DEAD BacLight с проточной цитометрией.

Завершающие этапы исследований, как правило, включали оценку вирулентности реверсивных клеток бактерий. Чаще всего с этой целью проводилось выявление экспрессии генов, детерминирующих синтез специфических белков – факторов патогенности бактерий. В эту группу могли входить, например, гены *hly* или *inv*, кодирующие синтез токсина *Listeriolysin O* у *Listeria* spp. или белка инвазина у *Yersinia* spp. соответственно. Выявленная экспрессия генов предполагает наличие потенциальной вирулентности VBNC-клеток этих патогенов.

Однако результаты генетических исследований вирулентности в лабораторных моделях *in vitro* оцениваются неоднозначно. Поэтому VBNC-клетки дополнительно тестируются в экспериментах *in vivo* на моделях животных (путем их инъекции, как правило, мышам) для доказательства патогенности путем выявления индикаторов развития инфекционного процесса, например колонизации внутренних органов.

В значительной степени особенности предлагаемой лабораторной модели использования периодических культур длительного хранения опосредуются преимуществами и ограничениями разработанного протокола перед традиционными схемами, являющимися распространенными для изучения бактериальных фенотипов, находящихся в статусе VBNC.

Работа выполнена в рамках Госзадания
AAAA-A19-119011090003-7.

Способ динамического моделирования условий и динамики формирования бактериальных биопленок в морских экосистемах

Андрюков Б.Г., Матосова Е.В., Ляпун И.Н.

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

Интерес к изучению механизмов адаптации патогенных микроорганизмов в последние годы вырос в связи с изменением климата и потеплением Мирового океана. Это привело к расширению зон обитания патогенных бактерий, являющихся агентами инфекционных заболеваний человека. Ранее считалось, что патогенные бактерии, как правило, ориентированы на оптимальную для них температуру существования, близкую к температуре тела теплокровных организмов.

Появившаяся к концу XX века концепция биопленочных инфекций стала не только общепризнанной медицинской проблемой, но и расширилась до понимания биопленки как многоклеточной адаптационной стратегии бактерий для защиты от неблагоприятных условий окружающей среды.

Исследования, проведенные в последние десятилетия, показали, что при попадании в морские экосистемы со сточной или речной водой патогенные энтеробактерии сталкиваются с многопараметрическими условиями, включающими биотические и абиотические факторы, оказывающие влияние на реализацию их адаптационного потенциала и способности формировать биопленки.

Исследование условий и динамики формирования этих высокоустойчивых надклеточных сообществ является актуальной задачей и проводится во многих научных лабораториях мира. Описание динамики роста и развития биологических сообществ в статических условиях лабораторного культивирования сложно по ряду причин. В значительной степени это связано с отдаленным приближением к условиям морских экосистем, которые отличаются динамичностью, наличием изменяющихся температур, запасов пищевых ресурсов, конкуренции со стороны морских бактерий. Перечисленные причины делают невозможным достоверный прогноз динамики формирования биопленки с участием различных таксонов бактерий при использовании традиционных статических методов культивирования.

Целью настоящего исследования было создание модельной системы, позволяющей изменять абиотические условия формирования биопленки энтеропатогенных бактерий в морской среде с регулируемой имитацией морского течения.

В целях регуляции скорости течения жидкости (0–100 мл/мин) использовались проточная камера и перистальтический насос. Стандартизации процесса биопленкообразования добивались путем использования в качестве абиотической подложки слайдов Thermo Fisher Scientific 25 × 75 × 1,0 мм с активированной поверхностью (с электростатическим зарядом и биохимическим покрытием, улучшающими адгезию бактериальных клеток). Это позволяло оценивать характер влияния на процесс каждого физико-химического параметра в

отдельности. Толщину биопленки оценивали путем измерения оптической плотности окрашенных слайдов по методу Sternheimer–Malbin с последующим изменением экстинкции на вертикальном спектрофотометре (светофильтр 585 нм).

Данная модельная система использована для изучения условий и динамики формирования биопленки патогенными энтеробактериями в прибрежных морских рекреациях.

*Работа выполнена в рамках Госзадания
AAAA-A19-119011090003-7.*

Эпидемиологическое значение патогенных энтеробактерий, находящихся в морских экосистемах в некультивируемом состоянии

Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф.

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

Культивирование индикаторных бактерий на питательных средах является ключевой стратегией санитарно-микробиологического контроля морской воды для установления органического загрязнения (МУ 4.2.2959-11), а также критерием их присутствия и жизнеспособности. Однако, оказавшись в стрессовых условиях морских экосистем, многие бактерии реализуют одну из своих стратегий выживания – впадают в жизнеспособное, но некультивируемое (*viable but nonculturable/VBNC*) состояние, являющееся универсальной защитной стратегией и проявляющееся у широкого круга микробных таксонов.

Для патогенных энтеробактерий такими стрессорами могут быть воздействие биотических и абиотических факторов морских экосистем: солнечного излучения, субоптимальной температуры, солёности, pH, гидростатического давления, а также недостатка питательных веществ и конкурентного взаимодействия с морскими микроорганизмами. Находящиеся в этом состоянии бактерии характеризуются низкой метаболической и репродуктивной активностью и не могут быть идентифицированы микробиологическими методами. Кроме того, у VBNC-бактерий наблюдается замедление скорости дыхания, транспорта питательных веществ и синтеза макромолекул. Однако данный феномен может представлять реальную угрозу общественному здравоохранению, поскольку в некультивируемом состоянии бактерии сохраняют свой патогенный потенциал. При наступлении благоприятных условий, например при попадании внутрь организма, эти микроорганизмы способны вновь вернуться в культивируемое состояние.

Следовательно, изучение состояния VBNC как одной из адаптационных стратегий патогенов при попадании в морские экосистемы имеет не только фундаментальное, но и важное эпидемиологическое значение. В настоящее время становится все более очевидным, что в состоянии VBNC бактериальные клетки сохраняются в виде биопленок, которые обеспечивают временную или длительную среду обитания. Установлено, что ряд патогенных энтеробактерий, на-

ходящихся в состоянии VBNC в морских прибрежных рекреационных зонах, в течение недель, месяцев и лет могут оставаться источником инфицирования отдыхающих.

В лаборатории кишечных инфекций НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова в 2019–2021 гг. проводился эксперимент, в ходе которого в периодических культурах клинических изолятов *Yersinia pseudotuberculosis* (512-1b и 3515-1), находящихся на хранении в течении 10 лет (с 2010 г.) при 4–6°C в состоянии гипоксии и дефицита питательных веществ, бактерии перешли в состояние VBNC. Они не росли на твердых и жидких питательных средах, имели характерные морфологические признаки, демонстрировали отсутствие биохимической активности, но сохраняли жизнеспособность, которая была подтверждена суправитальным окрашиванием (LIVE/DEAD BacLight) и ПЦР-тестированием. Экспериментальное заражение теплокровных животных (мышей) VBNC-клетками *Y. pseudotuberculosis* вызвало реверсию и восстановление морфологических, тинкториальных, культуральных и биохимических свойств, а также спустя 32 сут. после инокуляции развитие инфекционного процесса.

*Работа выполнена в рамках Госзадания
AAAA-A19-119011090003-7.*

Анализ этиологической роли бактерий группы ESKAPE при внебольничной пневмонии у коронапозитивных пациентов на фоне разных геновариантов вируса SARS-CoV-2

Аронова Н.В., Павлович Н.В., Цимбалистова М.В., Анисимова А.С., Водопьянов А.С., Гудуева Е.Н., Чемисова О.С., Носков А.К.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Большинство тяжелых и летальных случаев коронавирусной инфекции обусловлены развитием вирусной пневмонии и респираторного дистресс-синдрома при резком снижении иммунитета. У таких пациентов интенсивная терапия антибиотиками и кортикостероидами в значительном количестве случаев приводит к вторичным осложнениям бактериальной или грибковой природы. Достаточно часто возбудители вторичных пневмоний представлены бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ). Несмотря на активное исследование проблемы новой коронавирусной инфекции, многие вопросы остаются открытыми. Так, до настоящего времени недостаточно изучена взаимосвязь геновариантов вируса с видовым составом вторичных ассоциантов. В этой связи актуальной является оценка видового состава возбудителей вторичной бактериальной инфекции и их чувствительности к антибактериальным препаратам на фоне распространения различных геновариантов вируса SARS-CoV-2.

С августа 2020 г. на базе института проводилось исследование этиологической структуры бактериальных и грибковых возбудителей внебольничных пневмоний (ВП) у больных с COVID-19. Бактериологическим методом исследованы об-

разцы мокроты от 925 коронаположительных пациентов с ВП и выделены 313 бактериальных и 363 грибковые культуры в клинически значимых количествах. Согласно результатам полногеномного секвенирования были определены варианты коронавируса, циркулировавшие в этот период в Ростовской области. Доминирующим геновариантом в августе (I этап) и декабре (II этап) 2020 г. был «европейский» штамм B.1.1. Май 2021 г. (III этап) характеризовался одновременным присутствием в человеческой популяции трех штаммов – B.1.1, B.1.1.7 (Альфа) и B.1.617.2 (Дельта). В ноябре 2021 г. (IV этап) эти генотипы были полностью вытеснены штаммом Дельта, а в апреле 2022 г. (V этап) этот генотип был замещен на вариант B.1.1.529 (Омикрон). Установлено, что наименьшее количество бактериальных культур было выделено в августе 2020 г. и ноябре 2021 г., на фоне циркуляции «европейского» и «индийского» геновариантов. В то же время на фоне Омикрона изолировано наибольшее число бактериальных штаммов. На всех этапах спектр возбудителей ВП характеризовался стабильностью видового состава. Выявить достоверную разницу в количественных показателях грамположительной и грамотрицательной микрофлоры нам не удалось. Исключение составил III этап (3 генотипа вируса SARS-CoV-2) с доминированием грамотрицательной микрофлоры.

Структура возбудителей ВП включала всех представителей жизнеугрожающей группы ESKAPE. Превалирующими патогенами на всех этапах были *Staphylococcus aureus* и *Klebsiella pneumoniae*. Показано, что штаммы золотистого стафилококка характеризовались высокой чувствительностью к широкому спектру противомикробных препаратов, в то время как культуры *K. pneumoniae* обладали МЛУ, имея от 3 до 9 маркеров резистентности. Большинство штаммов группы ESKAPE сохраняли чувствительность к карбапенемам, цефоперазону/сульбактаму и амикацину.

Работа проведена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Клонирование и изучение функциональной активности гена *bla*_{CTX-M-115}, идентифицированного в клинических штаммах *Acinetobacter baumannii*

Асташкин Е.И., Федюкина Г.Н., Хохлова О.Е., Авдеева В.А., Фурсова Н.К.

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

Acinetobacter baumannii – один из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций, который характеризуется множественной (MDR), экстремальной (XDR) и панрезистентностью (PDR). Анализ молекулярных механизмов мультирезистентности данного патогена представляет интерес как с теоретической, так и с практической точки зрения.

Цель данной работы – клонирование гена *bla*_{CTX-M-115} и изучение его функциональной активности посредством исследования детерминируемого им спектра устойчивости к антимикробным препаратам.

Материалы и методы. Клинический изолят *A. baumannii* В-5 был выделен в отделении нейрореанимации г. Москвы в 2013 г. Видовая идентификация проведена на приборах VITEK 2 (Biomérieux, Франция) и MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия). Культивирование бактерий осуществляли на питательных средах: «Питательная среда №1 ГРМ» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), Luria Bertanibroth (Difco, США) и Muller–Hilton (Himedia, Индия). Чувствительность к 13 антимикробным препаратам 6 функциональных классов (β-лактамам, аминогликозидам, фторхинолонам, фосфомицину, нитрофуранам и сульфаниламидам) определяли на приборе VITEK 2, данные интерпретировали по EUCAST (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints). В качестве матричной ДНК использовали термолизаты. Выделение плазмидной ДНК осуществляли с помощью набора GeneJET Plasmid Miniprep Kit (Thermo Scientific, Литва). Извлечение фрагментов ДНК из агарозных гелей проводили набором GeneJET™ PCR Purification Kit (Thermo Scientific, Литва). Для клонирования использовали набор Quick-TA Kit (Evrogen, Москва, Россия). Для лигирования фрагментов ДНК применяли набор Rapid DNA Ligation Kit (Thermo Scientific, Литва). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали реагенты фирмы Thermo Scientific (ДНК-полимеразы Dream Taq и Pfu, буферные растворы, трифосфаты, MgCl₂ и др.), полученные от фирмы «Хеликон», Москва, Россия. Трансформацию клеток *Escherichia coli* ВМН проводили согласно Маниатису (1976).

Результаты. Ранее нами в клиническом изоляте *A. baumannii* В-5 был идентифицирован новый аллель *bla*_{CTX-M-2}-типа, отличающийся шестью нуклеотидными заменами (G336T, G357T, T441G, G751A, A835G и G868A), приводящими к трем аминокислотным заменам (Val251Ile, Ile275Val и Gly 290Ser), которому базой данных GenBank присвоен номер *bla*_{CTX-M-115} [X92507]. В данной работе осуществлено клонирование гена *bla*_{CTX-M-115} в два этапа. На первом этапе ПЦР-фрагмент, наработанный с помощью праймеров ISEsplU1 и EcoRI-CTX-M-115-R, содержащий ген *bla*_{CTX-M-115} с промотором, клонировали в плазмиду pAL2-T из набора Quick-TA Kit. На втором ген *bla*_{CTX-M-115}, вырезанный рестриктазами NcoI и EcoRI, встроили в плазмиду pET28b. Функциональную активность клонированного гена оценивали по спектру чувствительности трансформантов *E. coli* ВМН, несущих плазмиды серии pETCTXPr115 к антимикробным препаратам. Показано, что трансформанты были устойчивы к ампициллину, амоксициллину-клавуланату, цефазолину, цефотаксиму, цефтазидиму, цефоперазону-сульбактаму, цефепиму и азтреонаму, но чувствительны к имипенему, меропенему, амикацину, гентамицину, нетилмицину, ципрофлоксацину, фосфомицину, нитрофурантоину и триметоприму-сульфаметоксазолу, что характерно для фенотипа штаммов, несущих гены *bla*_{CTX-M-2}-типа.

Клонирование и изучение функциональной активности нового гена *bla*_{CTX-M-115} имеет значение для накопления данных об эволюционном процессе генетических детерминант антибиотикорезистентности у грамотрицательных бактерий.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Характеристика нового изолированного бактериофага, активного в отношении *Pseudomonas aeruginosa*

Багандова К.М.¹, Зулькарнеев Э.Р.², Мизаева Т.Э.¹, Воробьев А.М.¹, Киселева И.А.¹, Алешкин А.В.¹

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;
²ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Бактериофаги являются перспективными агентами антибактериальной фаговой терапии против инфекций, вызываемых *Pseudomonas*, которые обладают резистентностью к ряду антибактериальных химиопрепаратов. Патогенность синегнойной палочки детерминирована способностью к инвазии и персистенции в тканях, а также цитотоксическому эффекту и стимуляции генерализованной воспалительной реакции. *Pseudomonas aeruginosa* вызывает 21–39,7% случаев нозокомиальных пневмоний.

Синегнойный бактериофаг Pa25 был изолирован из сточных вод г. Москвы, штамм-хозяин – *P. aeruginosa* Pa01 (GenBank NC_002516.2). На бактериальном газоне чувствительного к фагу штамма-хозяина *P. aeruginosa* Pa01 бактериофаг формировал круглые четкие негативные колонии с неровными краями, диаметром 2–3 мм, окруженные непрозрачным ореолом. Методом Грация определена концентрация фаговых частиц Pa25 с добавлением в питательную среду *P. aeruginosa* P01, что составило $5,0 \times 10^{10}$ БОЕ/мл. Бактериофаг устойчив при температуре +55°C, дальнейшее повышение температуры губительно для частиц. В ходе работы с бактериофагом было определено время адсорбции бактериофага на клетках хозяина. Так, фаговые частицы адсорбируются на клетке-хозяине за 5 мин, после чего процесс замедляется и заканчивается к 15–25 мин от начала литического цикла.

Вирулентность была подтверждена отсутствием генов, кодирующих известные интегразы, с помощью полимеразной цепной реакции. Отсутствие репрессоров транскрипции или их гомологов было подтверждено при помощи алгоритма blastp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Линейный двухцепочечный ДНК-геном бактериофага состоит из 69 785 пар оснований (bp) нуклеотидных последовательностей с соотношением G+C 55,57%. Геном насчитывает 109 рамок считывания (ORF), из которых 37 имеют известную функцию. С помощью алгоритма blastp было установлено, что 67% кодирующих белков генома Pa25 являются гипотетическими. Геном изолированного фага Pa25 имеет высокую идентичность с уже охарактеризованными фагами Pa204 (98%), PHW2 (97%), Pa5 (96%).

По результатам электронно-микроскопического исследования установлено, что представленный бактериофаг по морфологическим признакам принадлежит к семейству *Myoviridae*. Анализ генома бактериофага при полногеномном секвенировании установил, что фаг является представителем вида *Pseudomonas virus*, рода *Pbnavirus*, семейства *Myoviridae*, порядка *Caudovirales*.

Синегнойный фаг Pa25 был проверен на 4 лабораторных штаммах и 15 клинических изолятах методом спот-тест.

Результаты показали наличие характерной зоны лизиса на исследуемых штаммах, тем самым бактериофаг Pa25 проявлял широкий спектр литической активности.

Микробиологическая значимость грибов рода *Candida* у пациентов с ВИЧ-положительным статусом и вирусными инфекциями различной этиологии

Байракова А.Л.^{1,2}, Федькина Ю.А.², Лахтин В.М.¹

¹ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;
²ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Грибковые поражения, ассоциированные с грибами рода *Candida*, по-прежнему лидируют в структуре инфекционно-воспалительных заболеваний, в том числе являются актуальными при различных нарушениях иммунной системы. На распространенность вышеуказанных микроорганизмов повлияло и увеличение числа предрасполагающих факторов: хронизация общесоматических патологий, демографическое старение населения, изменение экологической составляющей, определяющей уровень нездоровья населения. Немаловажную роль играют собственные свойства микроорганизма. В зависимости от видовой принадлежности и количественных показателей ролевое поведение грибов рода *Candida* простирается от ассоциантов, входящих в состав нормальной микрофлоры, до потенциальных возбудителей, способных вызвать разнообразные патологические процессы – от поверхностного поражения тканей до генерализованной инвазии.

В связи с вышесказанным целью данной работы явилось изучение частоты встречаемости и роли грибов рода *Candida*, основанное на изучении фенотипической принадлежности и количественной составляющей, отвечающей за причастность данных микроорганизмов к возможности развития инфекционного процесса.

Материалы и методы. Посев отделяемого из ротоглотки осуществляли на 5%-й кровяной агар для подсчета общего числа выросших колоний с учетом сопоставления со средой Сабуро для выделения чистых культур микроорганизмов. Подсчет численности – согласно методу посева «тампон-петля». Идентификацию осуществляли на MALDI-TOF масс-спектрометре при score от 0,8. Об этиологической значимости грибов рода *Candida* судили на основании фенотипической принадлежности и титра колонизации: показатели в диапазоне 10^1 – 10^3 КОЕ/мл относили к нормофлоре, выше – к микробиологически значимым этиологическим агентам.

Результаты. Сравнение результатов микробиологического анализа показало, что в зависимости от контингента обследуемых (острая ВИЧ-инфекция или больные с различными вирусными инфекциями) выявляемость грибов составила 61,8 и 50,9%. По частоте встречаемости на первом месте отмечена *Candida albicans* – в 47,1 и 67,9% (*C. albicans*

africana – 37,5 и 5,3%), далее – *C. tropicalis*, *C. krusei* и *C. glabrata*. В ходе проведенных исследований установлено, что в зависимости от группы имелись отличия в высеваемости *C. intraculaculare*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis*, *C. famata* и *C. auris*. Этиологическое значение, установленное путем количественной обсемененности, показало, что в 58,8% случаев в I группе грибы выделялись в диагностически значимом титре, позволяющем отнести данные ассоцианты к потенциальным триггерам оппортунистических инфекций. Выявление *C. glabrata* и *C. auris*, вне зависимости от степени бактериальной колонизации, также сопоставимы с индикаторными агентами, представляющими собой непосредственную угрозу здоровью человека за счет природной множественной лекарственной резистентности к антимикотическим препаратам.

Фенотипические особенности штаммов *Yersinia pestis*, изолированных в трансграничном Сайлюгемском природном очаге чумы

Балахонов С.В.¹, Витязева С.А.¹, Ярыгина М.Б.¹, Отгонбаяр Д.², Цэрэнноров Д.²

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

²Национальный центр по изучению зоонозных инфекций, Улан-батор, Монголия;

Сайлюгемский природный очаг чумы расположен на территории России (Горно-Алтайский высокогорный природный очаг чумы) и Монголии. В последнее десятилетие эпидемический потенциал этого очага значительно изменился, так как в поселениях серого сурка начал циркулировать высокопатогенный эпидемически значимый возбудитель чумы основного подвида. В российской части очага заболевания бубонной формой чумы у людей зарегистрированы в 2014–2016 гг., в монгольской – в 2019 г., 2020 г. Заболели местные жители, занимавшиеся промысловой охотой.

При эпизоотологическом обследовании приграничной территории монгольской и российской частей Сайлюгемского природного очага чумы с 2012 по 2021 г. изолированы 273 штамма *Yersinia pestis* ssp. *pestis*, из них у 124 изучены культурально-морфологические свойства. При микробиологической идентификации установлено, что все они на агаре Хоттингера росли в виде колоний R-формы; в течение первых суток ферментировали глицерин, арабинозу, мальтозу, маннит, глюкозу и не ферментировали рамнозу; восстанавливали нитраты в нитриты; неподвижные; не обладали уреазной активностью; сорбировали гемин на среде Джексона–Берроуза; продуцировали капсульный антиген. Штаммы лизировались бактериофагами: чумным Покровской, чумным Л-413, псевдотуберкулезным.

Все исследуемые изоляты чувствительны к антибактериальным препаратам разных групп: стрептомицину, ципрофлоксацину, цефотаксиму, гентамицину, офлоксацину, цефтазидиму, амоксициллину, используемым для экстренной профилактики и лечения чумы. Среднее значение зоны за-

держки роста *Y. pestis* ssp. *pestis* стрептомицином равно 28,2 мм, гентамицином – 27,1, ципрофлоксацином – 41 мм, офлоксацином – 36,4 мм, цефтазидимом – 28,1 мм. Среднее значение минимальной ингибирующей концентрации к стрептомицину составляет 9,3 мг/л; ципрофлоксацину – 0,05 мг/л; цефотаксиму – 0,04 мг/л; амоксициллину – 0,3 мг/л. Стрептомицин-устойчивых штаммов не выявлено.

Вирулентность исследовали у семи штаммов *Y. pestis*, изолированных из разных участков трансграничного Сайлюгемского природного очага чумы: LD₅₀ для белых мышей составила 1,58–16,2 м.к., для морских свинок – 4,67–63 м.к. При вскрытии – патологоанатомическая картина септической формы чумы, что подтверждено выделением чистой культуры от всех павших животных.

Анализ плазмидного профиля изученных штаммов показал наличие у них четырех плазмид – rYP, rTP33, rYV, rYT. Дополнительная плазида rTP33 характерна также для изолятов чумного микроба из Тувинского природного очага и некоторых очагов Монгольского Алтая.

Таким образом, изученные штаммы относятся к основному подвиду чумного микроба с характерными культурально-морфологическими, биохимическими свойствами, набором основных детерминант вирулентности и обладают высокой универсальной вирулентностью для лабораторных животных.

Источник финансирования – федеральный бюджет Российской Федерации.

Организация лаборатории по диагностике COVID-19 в начале эпидемии вируса SARS-CoV-2

Благодатских С.А., Курилова А.Е.

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

В современном мире часто возникают вопросы, которые нужно решать быстро и качественно. Один из таких вопросов – быстрое развертывания диагностических лабораторий на базе научно-исследовательских институтов во время резкого ухудшения эпидемиологической ситуации. Наиболее сложная ситуация возникает, когда нужно проводить исследования с материалом, подозрительным на I–II группу патогенности. Сложность обусловлена не только самим материалом, но и отсутствием большого количества персонала, допущенного к работам с ним, а также помещений, аттестованных для работ. Именно такая задача и была поставлена перед сотрудниками ФБУН ГНЦ ПМБ: организовать прием материала с подозрением на инфекцию и его анализ с последующей выдачей результатов во время начавшейся пандемии COVID-19 весной 2020 г.

COVID-19 (COronaVirus Disease 2019 – коронавирусная инфекция 2019 г., рус. ковид), ранее коронавирусная инфекция 2019-nCoV – потенциально тяжелая острая респираторная инфекция, вызываемая коронавирусом SARS-CoV-2 (2019-nCoV). Заболевание может протекать как в форме острой респираторной вирусной инфекции легкого течения, так и в тяжелой форме. К наиболее распространенным симптомам заболева-

ния относятся повышенная температура тела, утомляемость и сухой кашель. Вирус способен поражать различные органы через прямое инфицирование или посредством иммунного ответа организма. Тяжелые формы болезни с большей вероятностью могут развиваться у пожилых людей и у людей с определенными сопутствующими заболеваниями, включая астму, диабет и сердечные заболевания. Распространяется вирус воздушно-капельным путем через вдыхание распыленных в воздухе при кашле, чихании или разговоре капель с вирусом, а также через попадание вируса на поверхности с последующим занесением в глаза, нос или рот. В основе этиологической диагностики вирусной инфекции, вызванной SARS-CoV-19, лежит выявление ПНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Скорость выполнения исследований определяется технологией ПЦР и составляет в среднем 4 ч для одной постановки реакции.

Цель. Определить алгоритм быстрого реагирования на чрезвычайную ситуацию на примере организации проведения диагностических исследований материалов, подозрительных на содержание коронавируса.

Результаты и обсуждение. С первых же дней начала распространения новой инфекции по территории России перед руководством учреждения была поставлена задача проведения диагностических исследований на наличие COVID-19 в передаваемом материале из регионов Московской области.

Для выполнения поставленных задач по диагностике COVID-19 руководством ФБУН ГНЦ ПМБ было принято решение о создании временной диагностической лаборатории. При ее создании опирались на санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)» (СП 1.3.3118-13) и методические указания «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (МУ 1.3.2569-09). Согласно этим документам были разработаны внутренние правила работ с SARS-CoV-2.

Первостепенным этапом стало выделение помещений, соответствующих требованиям работы с II группы патогенности, из фонда учреждения. Эти помещения должны позволять провести полный цикл диагностики: от получения/разбора материала до проведения ПЦР/выдачи результатов. В связи с этим были созданы следующие зоны:

- 1) приема и разбор проб;
- 2) выделение биоматериала из проб;
- 3) проведения реакции амплификации и анализа полученных результатов.

Кроме этого, для нормального функционирования комплекса в нем должны быть зона санпропускника с гигиеническим душем, позволяющая надеть/снять рабочую одежду для перемещения по лаборатории, и место для проведения дезинфекционной обработки отходов путем автоклавирования.

Благодаря такому решению работы по диагностике COVID-19 проходили независимо от основных работ учреждения.

Вторым немаловажным этапом стал подбор сотрудников из штата учреждения. Согласно действующему законодательству допуск к таким работам возможен только в отноше-

нии специально подготовленного персонала, поэтому в срочном порядке были проведены курсы повышения квалификации с инструктажем о правилах работы в учреждении с ПБА II группы для сотрудников, не имеющих допуска к работам с ПБА II группы патогенности. Для тех, кто имел курсы профессиональной подготовки и курсы повышения квалификации, был проведен внеочередной инструктаж по биологической безопасности и правилам противоэпидемического режима при работе с подозрительным материалом, содержащим возбудителей II группы патогенности. После этого были сформированы группы согласно рабочим зонам, и их состав закреплен приказом руководителя учреждения. Отдельно были сформированы группы по вспомогательной деятельности, такой как: закупка и доставка расходных материалов и обслуживания, развоз персонала в ночное время.

Данные мероприятия были проведены в рамках ограничений по присутствию сотрудников старше 60 лет на рабочих местах. Персонал, допущенный к работе с материалом, регулярно (один раз в неделю) проверяли на наличие COVID-19, а также, согласно санитарным правилам при работе с ПБА II группы, допуск персонала в рабочие помещения проводился только после предварительного медицинского осмотра и термометрии, что позволяло оперативно исключать из коллектива носителей инфекции и минимизировать риски ее распространения.

Кроме работ, непосредственно связанных с диагностикой наличия COVID-19 в учреждении, проводились следующие мероприятия по уменьшению рисков распространению инфекции в коллективе. Было рекомендовано уменьшить перемещение сотрудников между научными подразделениями, по возможности вести научную деятельность с коллегами «удаленными методами»: электронная почта, телефон. До сотрудников доводились рекомендации и информационные письма Роспотребнадзора, такие как симптомы заболевания и характер распространения вирусной инфекции, рекомендации при посещении общественных мест, рекомендации по личной гигиене.

Руководство обеспечило сотрудников средствами индивидуальной защиты органов дыхания и средствами дезинфекции рук. Места возможного скопления людей обрабатывали дезинфицирующими средствами против вирусной инфекции. Для раннего выявления очагов распространения инфекции проводились выборочные заборы материала от сотрудников для диагностики на COVID-19. При появлении первых вакцин против COVID-19 была проведена массовая вакцинация сотрудников на территории учреждения.

Выводы. В результате этих действий удалось сохранить возможность проведения клинических анализов по выявлению COVID-19 на уровне до 1500 в сутки и избежать массового распространения вирусной инфекции среди сотрудников. Полученный опыт позволил переосмыслить организацию временных лабораторий, выявить слабые места в работе коллектива при быстром перестроении профиля работ, а также разработать и применять на практике способы решения этих проблем.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Филогенетический анализ штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных в период вспышек сибирской язвы в Республике Дагестан в 2019–2021 годах

Бобрышева О.В., Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Семенова О.В.

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

Сибирская язва представляет проблему для ветеринарии и здравоохранения многих стран, включая Россию. Эндемичными регионами по сибирской язве в России являются Сибирь и Северный Кавказ. Республика Дагестан, входящая в состав Северо-Кавказского федерального округа, характеризуется устойчивым эпизоотолого-эпидемиологическим неблагополучием по сибирской язве. В 2019–2022 гг. в Республике Дагестан зарегистрировано 9 случаев заболевания людей сибирской язвой. Заражение людей обусловлено контактом с больными сельскохозяйственными животными при их убое, разделке туш и шкур, обработке мяса.

Цель работы заключалась в определении филогенетической принадлежности штаммов *Bacillus anthracis*, выделенных во время вспышек сибирской язвы в Республике Дагестан в 2019–2021 гг.

В качестве объекта исследования использовались 8 геномных последовательностей штаммов *B. anthracis*, выделенных в Республике Дагестан, полученные в этом исследовании, и 235 геномных последовательностей *B. anthracis* из международной базы данных GenBank.

Секвенирование геномов исследуемых штаммов проводили с использованием платформы для высокопроизводительного секвенирования IonGeneStudio S5 Systems (LifeTechnologies, США). Филогенетический анализ штаммов *B. anthracis* осуществляли на основе данных WGS-SNP-типирования.

Полученная в результате филогенетического анализа дендрограмма представлена тремя ветвями, соответствующим главным генетическим линиям *B. anthracis* A, B и C.

Анализ филогенетического дерева показал, что все штаммы, выделенные на территории Республики Дагестан в 2019–2021 гг., принадлежат к группе TEA Br.008/011, ветвь A.Br.118. Данные изоляты образуют отдельную ветвь, связанную с кладой STI, штаммы которой имеют широкое географическое распространение и обнаружены в Грузии, Китае, на Дальнем Востоке, а также на территории Восточной и Западной Сибири.

Таким образом, проведенный анализ полногеномных SNP-профилей штаммов *B. anthracis*, выделенных на территории Республики Дагестан, позволил определить их место в глобальной популяции возбудителя сибирской язвы.

Особенности микробиоты при периимплантатах

Богачева Н.В., Тунева Н.А.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация

На современном этапе развития стоматологии дентальные имплантаты все чаще используются для восстановления частично или полностью утраченных зубных рядов. Однако наряду с увеличением количества устанавливаемых дентальных имплантатов растет и количество осложнений, таких, например, как периимплантит.

Цель работы – изучить особенность микробиоты при периимплантатах.

Материалы и методы. Анализ микробиоты провели у 127 пациентов в возрасте от 35 до 69 лет ($53,8 \pm 1,9$ года). Все пациенты были поделены на две основные группы: 1-я (контрольная) группа – 34 человека, не имеющие в анамнезе признаков периимплантита или мукозита; 2-я группа – 93 человека с патологией в периимплантной зоне. Обе группы были поделены на подгруппы с патологией и без патологии пародонта. Бактериологическое и молекулярно-генетическое исследования провели на базе клиничко-диагностической лаборатории КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница». Идентификацию выделенных чистых культур осуществляли на бактериологическом анализаторе VITEK MS (BioMerieux, Франция) методом время-пролетной масс-спектрометрии. Идентификацию некультивируемых патогенов проводили молекулярно-генетическим методом, используя для выделения ДНК набор «Проба-рапид», для постановки полимеразной цепной реакции – тест-систему «Пародонтоскрин». Статистическую обработку полученных данных проводили с применением программных пакетов MS Excel, Statsoft Statistica 10.0, WinBUGS 1.4.3.

Результаты. При анализе облигатных культивируемых анаэробов было выявлено, что в группах лиц с мукозитом и периимплантитом статистически значимо ($p < 0,05$) в сравнении с контрольными группами отмечается, с одной стороны, снижение количества *Veillonella parvula*, *Bifidobacterium dentium*, *Propionibacterium* spp. (*P. granulosum*, *P. propionicus*), *Neisseria* spp. (*N. flava*, *N. mucosa*, *N. perflava*, *N. subflava*), *Lactobacillus* spp. (*L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. crispatus*, *L. paracasei*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*); с другой – повышение количества *Bacteroides* spp. (*B. fragilis*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*), *Prevotella* spp. (*P. buccalis*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*), *Peptostreptococcus* spp. (*P. anaerobes*, *P. stomatis*), *Actinomyces* spp. (*A. cardiffensis*, *A. israeli*, *A. naeslundii*, *A. oris*, *A. odontolyticus*, *A. viscosus*), причем данная закономерность была наиболее выражена у лиц с сопутствующим пародонтитом.

Кроме того, у лиц с периимплантатами, также при сопутствующем течении с пародонтитом, определены в достоверно значимом количестве ($p < 0,05$) относительно контрольных групп культивируемые факультативные анаэробы и аэробы, среди которых *Streptococcus* spp. (*S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. sanguinis*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*,

S. uberis, *S. vestibularis*, *S. gordonii*, *S. anginosus*), *Rothia* spp. (*R. dentocariosa*, *R. aerea*, *R. mucilaginosus*), *Staphylococcus* spp. (*S. epidermidis*, *S. warneri*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. saprophyticus*), *Enterococcus* spp. (*E. columbae*, *E. faecalis*, *S. aureus*), *Pseudomonas aeruginosa*.

Среди некультивируемых облигатных анаэробов молекулярно-генетическим методом выявлено увеличение частоты встречаемости и количества *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* (*Tannerella forsythensis* или *Bacteroides forsythus*), *Treponema denticola*, *Candida albicans* с преимущественным преобладанием микроорганизмов в периимплантных зонах у лиц с пародонтитом.

Доля лиц, у которых выявлены патогенные штаммы *Helicobacter pylori*, достоверно выше (<0,001) при мукозите и прогрессирующем периимплантите независимо от пародонтита.

Таким образом, по результатам работы определены особенности микробиоты периимплантных зон пациентов в зависимости от наличия или отсутствия сопутствующего пародонтита.

Этиологическая структура пневмоний с летальным исходом в период пандемии новой коронавирусной инфекции

Бондаренко А.П.¹, Троценко О.Е.¹, Огиенко О.Н.¹, Голубева А.О.¹, Запрегалова Л.А.², Бобровникова М.Ю.²

¹ФБУН «Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, Хабаровск, Российская Федерация;

²КГБУЗ «Городская клиническая больница им. проф. А.М.Войно-Ясенецкого», Хабаровск, Российская Федерация

При бактериологической диагностике пневмоний и исследовании различных клинических проб, полученных от больных, выявляется целый ряд возбудителей, этиологическую значимость которых сложно оценить однозначно.

В ряде случаев при летальных исходах заболеваний результаты микробиологического посмертного исследования аутопсийного материала могут иметь решающее значение для подтверждения прижизненного диагноза и установления причины заболевания и неблагоприятного исхода.

Цель работы: установить этиологию пневмоний с летальным исходом заболеваний путем микробиологического исследования аутопсийного материала.

Материалы и методы. Материалом для анализа служили результаты микробиологического исследования аутопсийных образцов (ткань легкого), полученных от больных с летальным исходом заболеваний в период пандемии COVID-19. Отбор проб для бактериологического исследования был организован тремя временными циклами, включавшими волновые подъемы и спады заболеваемости:

1-й цикл: апрель–июнь 2021 г. (спад заболеваемости между 2-й и 3-й волнами подъема);

2-й цикл: сентябрь–октябрь 2021 г. (подъем заболеваемости, 3-я волна);

3-й цикл: январь–июнь 2022 г. (5-я волна заболеваемости с последующим спадом).

Всего при посмертном обследовании 435 пациентов выделены 480 бактериальных изолятов. Микробиологическое исследование осуществляли классическим методом. Идентификацию патогенов проводили с помощью баканализатора VITEK 2 Compact 30. Определение чувствительности выделенных изолятов к антимикробным препаратам (АМП) выполняли диско-диффузионным методом и в баканализаторе VITEK 2 Compact 30 с интерпретацией результатов в соответствии с EUCAST 11.0 (2021).

Результаты. С учетом временных периодов наблюдения анализ материалов проводили по трем направлениям: этиология пневмоний, лекарственная устойчивость возбудителей, участие микробных ассоциаций в этиологии.

В 1-м периоде отмечено следующее ранговое положение ведущих возбудителей: *Klebsiella pneumoniae* – 36,7%, *Acinetobacter baumannii* complex – 29,2%, *Escherichia coli* – 12,5%, *Staphylococcus aureus* – 8,3%, *Pseudomonas aeruginosa* – 5,8%, *Stenotrophomonas maltophilia* – 0,8%. В 6,7% случаев выделены энтеробактерии *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter koseri*, *Enterobacter aerogenes*. Доля карбапенем-устойчивых вариантов (carb R) среди ведущих возбудителей была высокой (*K. pneumoniae* – 70,5%, *A. baumannii* – 100%). Среди *E. coli* доля carb R-вариантов составила 26,7%, 1 штамм *S. maltophilia* также был устойчив к карбапенемам. Не было выделено carb R-штаммов среди 7 изолятов *P. aeruginosa*. Из 10 штаммов *S. aureus* только 1 изолят (10%) относился к группе MRSA, 9 штаммов были чувствительны к АМП. *K. pneumoniae* только в 59% случаев выявляли как моноинфекцию. Целую группу возбудителей (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, а также указанные выше энтеробактерии) в 53–85,7% случаев выделяли преимущественно в качестве ассоциантов.

Во 2-м периоде наблюдали увеличение доли *K. pneumoniae* (с 36,7 до 58,6%) среди выделенных патогенов и частоты выделения carb R-штаммов (с 76,6 до 81,8%), а также штаммов, проявляющих себя как моноинфекция (с 59 до 77,8%). Несколько увеличилась доля выделения *P. aeruginosa* (с 5,8 до 10,7%). Вместе с тем снизилась доля участия *A. baumannii* – с 29,2 до 19,5%.

В 3-м периоде не выявлено существенных изменений в видовой структуре патогенов и уровнях обнаружения carb R-вариантов, но увеличилась доля *K. pneumoniae*, проявляющих себя как моноинфекция, – с 77,8 до 84,1% случаев.

В течение трех периодов наблюдения все Бета-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС) и carb R-штаммы *K. pneumoniae* в разной степени были чувствительны к фосфомицину, гентамицину, амикацину и колистину (41; 63,6; 81,8; 100% соответственно).

Заключение. Таким образом, изучение аутопсийных культур показало, что летальный исход при пневмониях в период пандемии COVID-19 сопровождался выделением преимущественно карбапенем-устойчивых штаммов грамотрицательных бактерий с растущей при динамическом наблюдении тенденцией лидерства carb R-вариантов *K. pneumoniae*, проявляющих себя как моноинфекция.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Мышиная модель летального листериозного сепсиса, предназначенная для оценки эффективности антибактериальных препаратов

Борзилов А.И., Коробова О.В., Комбарова Т.И., Перескокова Е.С., Ганина Е.А.

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

Бактерии *Listeria monocytogenes* нередко являются причиной пищевой инфекции у человека, которая может заканчиваться смертью. Эти микроорганизмы обладают высокими инвазивными свойствами. Они способны проникать из кишечника в различные органы и ткани макроорганизма, преодолевать гематоэнцефалический и плацентарный барьеры. Распространение антибиотикорезистентных штаммов *L. monocytogenes* значительно затрудняет лечение листериозной инфекции и ухудшает ее прогноз. Для поиска новых антибактериальных препаратов и разработки эффективных схем терапии листериоза необходимо иметь приемлемую модель листериозной инфекции, позволяющую получать объективные данные об их эффективности *in vivo*.

В ходе наших исследований была разработана модель генерализованной листериозной инфекции у мышей линии BALB/c, вызываемой штаммами MA554, ББ1 или YIM3 *L. monocytogenes*. Внутривентриальное введение мышам культур этих штаммов в дозе 200 LD₅₀ приводит к гибели 100% животных в течение 2–5 суток после инфицирования. У зараженных животных происходит быстрая (в течение первых трех часов) генерализация листериозной инфекции с диссеминацией в паренхиматозные органы и головной мозг (только для *L. monocytogenes* MA554). Инфекция характеризуется стремительным развитием некротических изменений в паренхиматозных органах мышей и нарушением функциональной активности печени и почек.

Разработанная модель летальной листериозной инфекции у мышей показала свою пригодность в экспериментах по антибиотикотерапии. Пятидневный курс приема котримоксазола (250 мг/кг/сутки по триметоприму) или комбинации ампициллина с гентамицином (200 + 40 мг/кг/сутки) дает положительный лечебный результат. Раннее начало антибиотикотерапии (через 3 ч после инфицирования) обеспечивает выживаемость и санацию 100% зараженных мышей, позднее начало – 75–87,5%. Предложенная нами мышиная модель летальной листериозной инфекции может быть успешно использована для оценки эффективности *in vivo* различных антибактериальных препаратов.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Особенности и проблемы микробиологической диагностики бруцеллеза в неэпидемических районах

Боронина Л.Г. Саматова Е.В.

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация

Возбудитель бруцеллеза относится к семейству *Brucellaceae*, роду *Brucella*, который включает в себя 10 самостоятельных видов. Клинические проявления бруцеллеза неспецифичны, характерна полисистемность и полиорганичность поражений, а также вариабельность и атипичность клинических форм. Согласно нормативной документации, исходя из клинических признаков и эпидемиологического анамнеза при подозрительном или вероятном случае заболевания бруцеллезом лабораторная диагностика включает метод флуоресцирующих антител (МФА), иммуноферментный анализ и полимеразную цепную реакцию (ПЦР) в лабораториях, работающих с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности), и только при положительном результате применяют бактериологический (культуральный) метод – выделение штаммов *Brucella* spp., а также биологический метод – выделение штаммов *Brucella* spp. от биопробных животных.

У температурающего больного, прибывшего на Средний Урал, не являющийся эндемичным районом, при посеве трех образцов крови во флаконы Bactek обнаружен рост в одном из флаконов на 3-и сутки. В двух других флаконах – рост на 4-е сутки. При высеве на кровяно-сывороточный шоколадный агар также получен рост, культура в тесте Грегерсена положительная, оксидаза и каталаза положительны. При идентификации культуры на Combo 44 для автоматического Microscan Walkaway 96 (Siemens, Германия) и ID 32 GN для полуавтоматического анализатора ATB Expression (BioMerieux, Франция) получены следующие результаты: 1) Combo 44 – низкая вероятность идентификации: *Bergeyella* (*Weksella*) *zooheicum* – 63,59%; *Oligella ureolytica* – 21,09%; *Moraxella* spp. – 10,93%; *Vibrio* sp. SF – 4,40%; 2) ID 32 GN: *Moraxella lacunata* – 93,3%, *Myroides* spp. – 6,2%. При классическом бактериологическом исследовании на среде Клиггера установлено, что культура не ферментирует лактозу и глюкозу, H₂S не образует, цитрат Симмонса не разлагает. На среде для теста на окисление-ферментацию (среда Хью–Лейфсона, O/F) -/- щелочение; мочевины по Заксу (уреазы) – положительна, штамм неподвижен, индол – отрицательно; фенилаланиндезаминаза – отрицательно. На этом этапе идентификации микроорганизм отнесен к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий и появилось подозрение на принадлежность изолята к роду *Brucella*.

При исследовании культуры, доставленной в лабораторию, имеющую разрешение на работу со II группой патогенности, МФА выявил бруцеллы, а метод ПЦР – ДНК *Brucella* spp. Через 4 дня в сыворотке больного в реакции Райта и Хеддльсона выявлены антитела к бруцелле, титр 1:400 (400 ME/мл).

Сложности диагностики заключались в отсутствии у клиницистов настороженности. Идентификация на коммерче-

ских тест-системах вводит в заблуждение бактериолога, а существующие методические рекомендации не всегда позволяют дифференцировать микроорганизмы из гемокультур.

Физико-химические и бактериологические характеристики питьевой воды различных источников водоснабжения г. Конакри (Гвинейская Республика)

Буаро М.И.¹, Камара Т.², Константинов О.К.¹, Бумбали С.¹

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

²Университет Гамаля Абделя Насера, Конакри, Гвинейская Республика

Недостаток питьевой воды в масштабах всей Гвинейской Республики в последние десятилетия вызвал потребность более широкого использования вод колодцев, скважин, создания предприятий по производству бутилированных минеральных вод в г. Конакри для обеспечения постоянно возрастающих нужд столицы в питьевой воде. Отсюда возникла необходимость оценки этих вод в отношении соответствия критериям качества. Была обследована питьевая вода из 30 колодцев, 30 скважин, 30 точек потребления водопроводной воды государственной компании водоснабжения Гвинеи и минеральная вода 24 компаний-производителей. Химический и бактериологический анализ воды выполняли как стандартными методами, так и методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) для видовой идентификации бактерий. Согласно принятым в Гвинее санитарным нормам состояния источников водоснабжения каждый источник должен соответствовать определенным параметрам. В связи с этим еще до анализа воды оценивали санитарное состояние водоисточника. Установлено, что только 27% водоисточников соответствовали санитарным нормам, 40% соответствовали лишь частично, а 33% находились в крайне неудовлетворительном состоянии. Только 3% водоисточников были заключены в трубы, 50% источников находились ниже стока уборных, что приводило к постоянному загрязнению подземных вод, питающих источник. Обследование вод по физико-химическим, химическим и бактериологическим параметрам показало, что вода колодцев, скважин и водопровода не соответствует принятым нормам по параметрам предельно допустимых концентраций (ПДК). Особо отметим превышение ПДК для солей мышьяка в 50% обследованных источников всех трех типов, а также таких параметров, как pH, мутность, окислительно-восстановительные свойства, жесткость. Эти параметры были также превышены в пакетированной минеральной воде. Кроме того, загрязнение фекалиями вод источников было значительно выше норм, а присутствие сальмонелл в воде этих трех групп источников свидетельствует о постоянном загрязнении возбудителями фекального происхождения. Обследование минеральной воды из скважин показало недостаточный уровень очистки этих вод в 75% взятых образцов. Анализ методом ПЦР 40 образцов воды из 15 колодцев, 10 скважин, 9 проб водопроводной и 6 проб бутилированной минеральной воды на наличие воз-

будителей бактериальных инфекций показал, что вода 26% колодцев содержала *Salmonella* sp. и *Vibrio cholerae*, а 30% проб из скважин и 22% проб водопроводной воды содержали *Salmonella* sp. Возбудители *Shigella* sp. обнаружены не были. Бутилированная минеральная вода была свободна от перечисленных патогенов. По санитарным нормам Гвинеи питьевая вода не должна содержать ни токсических химических веществ выше ПДК, например таких, как мышьяк и фтор, ни микроорганизмов фекального происхождения (мезофильной аэробной флоры, кишечной палочки, энтеробактерий и сульфитоокисляющих аэробных бактерий), ни таких возбудителей бактериальных инфекций, как *Salmonella* sp., *Shigella* sp. и *Vibrio cholerae* (O1, O139). Присутствие этих бактерий в питьевой воде создает реальную угрозу здоровью человека. В связи с этим руководству всех уровней г. Конакри рекомендовано уделять постоянное внимание санитарному состоянию водоисточников и соблюдению норм качества и очистки вод всех источников водоснабжения в целях охраны здоровья населения столицы.

Лабораторное подтверждение коклюша при стертой клинической картине методом полимеразной цепной реакции

Видманова М.В., Большакова Л.Н.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Самарской области», Самара, Российская Федерация

Коклюш при стертой клинической картине регистрируется только при лабораторном подтверждении. В Самарской области в рамках специальной ежегодной региональной программы на единой лабораторной базе проводится лабораторная диагностика актуальных инфекций (в т.ч. коклюша) у пациентов государственных медицинских лечебно-профилактических организаций региона современными и новыми методами, не включенными в перечень ОМС. Это позволяет усилить лабораторное обеспечение, снизить финансовую нагрузку на небольшие стационары и, как результат, улучшить этиологическую расшифровку инфекционных заболеваний.

Цель. Детализация применения метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики коклюша у пациентов со стертой клинической картиной.

Материалы и методы. За 2016–2020 гг. исследованы назофарингеальные мазки от 250 пациентов с подозрением на коклюш, из них 26 – дети младше 1 года. Использовался набор реагентов «Амплиценс® Bordetella multi-FL». Пациенты были распределены на 2 группы:

- 1) стертая клиника коклюша, дата начала заболевания неизвестна, $n = 195$;
- 2) типичная клиника коклюша, мазки взяты до 28-го дня заболевания, $n = 51$;

Исключены из анализа 4 пациента (типичная клиника коклюша, мазки взяты позднее 28-го дня).

Результаты. Этиология *Bordetella* spp. подтверждена у 116 лиц: 92 – *B. pertussis*, 15 – *B. parapertussis*, 9 – *B. bronchiseptica* в сочетании с *B. pertussis* (8) и *B. parapertussis*

(1). По группам результаты распределились следующим образом:

– в 1-й группе у 100 (51,3%) лиц получен положительный результат методом ПЦР (коклюш – 85; паракоклюш – 6, микст – 9);

– во 2-й группе у 16 (31,4%) лиц получен положительный результат методом ПЦР (коклюш – 7, паракоклюш – 9).

Неточные данные анамнеза в отношении даты начала заболевания при подозрении на коклюш – препятствие для интерпретации отрицательных результатов исследования. Так, у 95 пациентов (38% от всех обследуемых) не представлялось возможным однозначно интерпретировать отрицательные результаты, их обследование было по возможности продолжено методом иммуноферментного анализа (ИФА), что позволило увеличить число подтвержденных случаев коклюша/паракоклюша.

Выводы. Пациентам с подозрением на коклюш в стертой форме следует применять метод ПЦР при первом подозрении без привязки к дате начала заболевания, *cito*. При получении отрицательного результата ПЦР следует подозревать 3–4-ю неделю заболевания, на которой эффективным является ретроспективный метод подтверждения коклюша – определение иммуноглобулинов методом ИФА. В качестве этиологического фактора за изучаемый период у лиц со стертой коклюшеподобной клиникой в Самарской области преобладает *B. pertussis*.

Полисахарид-деполимеразы бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*: специфичность и антивирулентные свойства

Воложанцев Н.В., Красильникова В.М., Вережкин В.В., Борзилов А.И., Денисенко Е.А., Слукин П.В., Макарова М.А., Попова А.В.

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

Тревожная тенденция распространения патогенных бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам вызывает серьезную озабоченность и необходимость поиска дополнительных средств борьбы с бактериальными инфекциями. В качестве таких средств рассматриваются полисахарид-деполимеризующие ферменты (деполимеразы) бактериофагов.

Деполимеразы являются структурными ферментами адсорбционного аппарата бактериофагов, обеспечивающими специфическое связывание фага с полисахаридами капсулы (КПС), экзополисахаридами (ЭПС) или липополисахаридами и расщепляющими повторяющиеся звенья полисахарида. Деполимеризация КПС или ЭПС делает инкапсулированные бактерии лишеными одного из основных факторов вирулентности и более восприимчивыми к противомикробным агентам и к системе иммунной защиты хозяина.

Цель наших исследований – изучение специфичности и антибактериальной активности полисахарид-деполимераз бактериофагов *Klebsiella pneumoniae*.

В настоящее время создана панель рекомбинантных деполимераз, специфичных для *K. pneumoniae* капсульных типов K1, K2, K23, K47 и K57 (наиболее часто выявляемых на территории Российской Федерации). Определен спектр активности деполимераз в отношении штаммов *K. pneumoniae* различных фенотипов и генотипов. Показано, что рекомбинантные белки более специфичны к полисахаридам соответствующих типов, чем «родительские» фаги. Установлено, что деполимеразы Dep_kpv74 и Dep_kpv79 являются β-гликозидазами, расщепляющими полисахариды *K. pneumoniae* капсульных типов K2 и K57 соответственно и определяющими специфическое связывание фагов с КПС.

Изучена возможность использования рекомбинантных деполимераз в качестве терапевтического средства. В модельных экспериментах на аутбредных мышах и личинках большой восковой моли *Galleria mellonella* показано, что обработка вирулентных гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae* деполимеразами с соответствующей специфичностью приводит к существенному снижению их вирулентности и обеспечивает выживаемость животных при развитии *K. pneumoniae*-инфекции. На мышинных моделях *K. pneumoniae*-инфекции мягких тканей бедра показано, что однократная инъекция одной из деполимераз (Dep_kpv74, Dep_kpv79 или Dep_kpv767; внутривенно, 40–50 мкг/мышь, через 0,5 ч после инфицирования) обеспечивает выживание 80–95% особей при полной эрадикации возбудителя из организма животных. Установлено, что одним из механизмов, обеспечивающих бактерицидный эффект деполимераз, является снижение устойчивости клеток *K. pneumoniae*, деапулированных под воздействием деполимераз, к бактерицидному действию комплемента сыворотки крови.

Таким образом, полученные результаты показывают возможность эффективного использования полисахарид-деполимераз бактериофагов для уничтожения патогенных инкапсулированных бактерий, в частности *K. pneumoniae*. Не обладая бактерицидным действием, деполимеразы, тем не менее, обеспечивают эрадикацию возбудителя из организма инфицированных животных, что является следствием разрушения ферментом полисахаридной капсулы – основного фактора вирулентности *K. pneumoniae*.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (гранты №20-75-10113 и №15-15-00058) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение №075-15-2019-1671).

Ионная и коллоидная формы серебра как альтернатива антибактериальным средствам

Гапон М.Н.¹, Лещенко Д.А.¹, Логинов И.А.², Тагиров З.Т.²

¹ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Широкое использование антибиотиков, хлор- и перекись-содержащих средств во многих сферах жизни человека способствует возникновению резистентных штаммов микроорганизмов. Как в России, так и за рубежом существует огромная проблема распространения в стационарах разных профилей антибиотикорезистентных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, что диктует поиск альтернативных средств, способных воздействовать на патогены. Благодаря своим антисептическим свойствам серебро используется человеком в медицинских целях с давних пор. В настоящее время актуальным является поиск путей эффективного и безопасного применения различных форм серебра.

Нами проведено сравнение действия эмпирически выбранных коммерческих препаратов коллоидного серебра (30 ppm) и водного раствора ионного серебра (20 ppm) на музейные штаммы микроорганизмов (*Candida albicans* FNCC 855-653, *Staphylococcus aureus* 6538 ATCC 209, *Proteus mirabilis* 035 N878, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Enterobacter cloacae* A-186, *Enterobacter aerogenes* 10006, *Escherichia coli* ATCC 3912/41, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* 301, *Shigella sonnei* S-form) и на одноименные штаммы (кроме сальмонелл, шигелл), выделенные от беременных женщин в 2021–2022 гг. Встречаемость дрожжеподобных грибов *C. albicans* составила 35%, условно-патогенных энтеробактерий – 63%, стафилококков – 55,6%, псевдомонад – 12%.

Определение чувствительности 214 штаммов, выделенных от 48 пациенток, к антибиотикам разных групп выявило их устойчивость в 50% случаев. В 95% случаев культуры были устойчивы к препаратам первого поколения, в отношении антибиотиков последнего поколения резистентность не превышала 50%.

Растворы коллоидного серебра в концентрированном виде (30 ppm) оказывали бактерицидное действие на все культуры микроорганизмов, а использование раствора, разбавленного в соответствии с инструкцией по применению, антибактериального эффекта в большинстве случаев не давало. Водный раствор ионного серебра, как в концентрированном (20 ppm), так и в разбавленном виде, проявил высокую антибактериальную и противогрибковую активность в отношении всех испытуемых штаммов. Использование растворов в качестве антисептика для обработки поверхностей в помещении, рук сотрудников и пациенток городского роддома подтвердило высокую эффективность ионной формы серебра.

Таким образом, изучение *in vitro* коммерческих препаратов коллоидного и ионного серебра выявило их высокое бактерицидное действие на все культуры микроорганизмов.

В научных публикациях встречается много противоречивой информации о положительных и отрицательных воздействиях наночастиц серебра на клетки макроорганизма, что инициирует продолжение исследований по изучению свойств серебра в экспериментах *in vivo*.

Источник финансирования – субсидия по бюджету на выполнение НИР.

Антибиотикорезистентность стафилококков, выделенных от пациентов многопрофильного детского стационара

Гладин Д.П.¹, Гончарова А.Р.¹, Королюк А.М.¹, Козлова Н.С.², Ананьева О.В.¹, Горбунов О.Г.¹

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация;

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

Цель исследования. Анализ чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) стафилококков, выделенных в многопрофильном детском стационаре в 2019 г.

Материалы и методы. Диско-диффузионным методом согласно клиническим рекомендациям 2018 г. определена чувствительность к 8 антимикробным препаратам 860 штаммов стафилококков, выделенных из различного клинического материала пациентов клиник Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета в 2019 г. Идентификация штаммов выполнена с помощью автоматического анализатора VITEK.

Результаты. В многопрофильном детском стационаре Санкт-Петербурга в 2019 г. были выделены стафилококки 6 видов с преобладанием *S. epidermidis* (50,9%) и *S. aureus* (30,1%). Значительно меньшей была доля *S. haemolyticus* (12,7%), *S. hominis* (4,4%), *S. warneri* (1,4%) и *S. capitis* (0,5%). Распределение отдельных видов стафилококков в разных отделениях оказалось неодинаковым. Так, в отделениях, где находятся наиболее ослабленные дети (отделение патологии новорожденных и реанимационные отделения) доминировал *S. epidermidis* (63,0 и 46,2% соответственно), в хирургических и терапевтических отделениях – *S. aureus* (61,7 и 46,2% соответственно). Более половины (63,0%) всех выделенных штаммов оказались устойчивыми хотя бы к одному антимикробному препарату. Во всех отделениях встречались полирезистентные (MDR) и экстремально резистентные (XDR) изоляты, составившие треть всех выделенных культур (37,8 и 33,0% соответственно). Они преобладали в отделениях патологии новорожденных (51,7 и 42,6%) и реанимации (64,7 и 62,5% соответственно). Доля антибиотикорезистентных штаммов была самой высокой среди *S. haemolyticus* (98,1%) и *S. epidermidis* (82,0%), в то время как удельный вес резистентных, а также MDR- и XDR-штаммов был крайне низким среди *S. aureus* (16,2; 1,5 и 0,4% соответственно). Удельный вес метициллинрезистентных культур был также значительно выше среди коагулазонегативных стафилококков в срав-

нении с *S. aureus* (64,2 и 0,8% соответственно), что соответствует современным тенденциям для стационаров России. Метициллинрезистентные изоляты преобладали среди *S. haemolyticus* (92,7%) и составили почти половину штаммов *S. epidermidis* (44,7%). Высокую активность в отношении стафилококков проявляли ванкомицин, к которому отсутствовали устойчивые штаммы, и линезолид, к которому был выявлен только один резистентный изолят *S. epidermidis*. Большое число выявленных спектров антибиотикорезистентности стафилококков говорит о разнообразии генетических детерминант их устойчивости.

Выводы. Среди стафилококков, выделенных от пациентов многопрофильного детского стационара, преобладали антибиотикорезистентные культуры (63,0%). Удельный вес полирезистентных и метициллинрезистентных штаммов был значительно выше среди коагулазонегативных стафилококков по сравнению с *S. aureus*. Высокую активность в отношении стафилококков проявляли ванкомицин и линезолид.

Обнаружение *Klebsiella oxytoca* в сливочном масле

Глазатова Г.В., Перепелкина А.В., Зайцева Е.Ю

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по железнодорожному транспорту», Москва, Российская Федерация

Сливочное масло – высококалорийный жировой продукт, получаемый путем концентрации молочного жира. Микрофлору молока обычно составляют сапрофиты, представленные непатогенными микрококками и коринебактериями. Однако возможна контаминация патогенными микроорганизмами при нарушениях санитарно-гигиенических правил на этапе получения молока в результате попадания в продукт представителей семейства энтеробактерий. В свою очередь, в процессе изготовления масла после пастеризации сливок в него также могут попасть различные микроорганизмы в результате контакта с рабочим оборудованием, при использовании загрязненных компонентов и непосредственно от людей.

На базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по железнодорожному транспорту» в период с апреля по июль 2022 г. осуществлялись исследования масложировой продукции. Оценивали следующие микробиологические показатели: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), бактерии группы кишечной палочки (БГКП), *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, бактерии рода *Salmonella*. Из 11 проб 54% оказались положительными по показателю БГКП. При дальнейшей идентификации до вида бактерий групп кишечной палочки в 83% проб была выделена *Klebsiella oxytoca*.

Бактерии рода *Klebsiella* широко распространены в окружающей среде, что связано с высоким уровнем устойчивости к антимикробным препаратам. Характерна для них и более высокая устойчивость к действию дезинфектантов. Домашние животные, такие как крупный рогатый скот и лошади, являются основными хозяевами видов *Klebsiella*, поэтому трудно избежать заражения сырого молока и мяса

из-за тесной связи микроорганизма с животными. Однако источником инфицирования может выступать и зараженный человек либо бессимптомный носитель инфекции. Таким образом, появление *K. oxytoca* в исследуемых образцах сливочного масла, по-видимому, связано с нарушением санитарно-гигиенических правил и технологических требований на одном из этапов производства (например, нарушение температурного режима и времени пастеризации, а также контаминация масла большими и бактерионосителями, связанными с переработкой молока и производством масла). В свою очередь, это создает такие риски, как возможные массовые пищевые отравления, клебсиеллезы и контаминация продукции другими патогенными возбудителями. Стоит отметить, что контаминировано может быть не только масло, а вся продукция на производстве, поэтому в настоящий момент как никогда актуально проведение строгих и своевременных санитарно-эпидемиологических контрольно-надзорных мероприятий. Для улучшения качественных показателей работы пищевых предприятий имеет значение тесное сотрудничество по осуществлению государственного санитарного надзора врачей по гигиене питания и санитарных микробиологов, играющих в бактериологических лабораториях приоритетную роль.

Сравнительный анализ особенностей заболеваемости туляремией в эндемичных регионах Российской Федерации

Говорунов И.Г., Фольмер А.В.

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

Несмотря на снижение заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации в последние годы, ввиду высокой патогенности возбудителя, широкого распространения на территории Российской Федерации, а также возможного использования возбудителя туляремии в качестве агента биологического оружия это заболевание относят к особо опасным.

В рамках работы референс-центра по мониторингу за туляремией ФБУН ГНЦ ПМБ была разработана база данных (БД) по регистрации заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации (рег. №2018620877), построенная на основе первичных документов по регистрации и эпидемиологическому случаю заболевания туляремией.

Цель – проанализировать особенности случаев заболевания туляремией в наиболее проблемных регионах России.

Оказалось, что более половины заболеваний приходится на три региона: Республика Карелия (25%), Омская область (16%), Ставропольский край (12%). Заболеваемость туляремией в этих регионах отличается по ряду показателей.

Периоды заболевания. В Карелии это заболевание регистрируется ежегодно (пик в 2016–2018 гг.). В Омской области пик заболеваемости (от 15 до 29 случаев) отмечен в этот же период. В Ставрополье пик заболеваемости зарегистрирован в 2016–2017 гг.

География заболеваемости. На Прионежский, Сортавальский, Пряжинский районы Республики Карелия приходится более 80% заболеваний. Зачастую это лесистая местность вблизи крупных водоемов с высокой плотностью населения. В Омской области большинство случаев заболевания приходится на г. Омск, Омский и Крутинский районы (23, 18 и 11% соответственно). Природные очаги туляремии расположены в г. Омске и Омском районе в поймах рек, в заливных лугах Крутинского района. На Ипатовский, Петровский, Красногвардейский и Труновский районы Ставропольского края приходится 90% случаев заболевания туляремией.

Причины заболевания. В Карелии заражение происходит трансмиссивным путем через укусы насекомых, во время пребывания на природе. В Омской области – это также укусы насекомых (39%), укусы клещей (5%) и контакт с грызунами или продуктами их жизнедеятельности (32%). На Ставрополье основной путь заражения – контактный, встречается и алиментарный. В 70% случаи заражения были связаны с охотой на зайцев и контактом с зараженными выделениями грызунов (28% случаев), а также с употреблением воды местных водоемов или имели место при употреблении пищи (26%).

Сезонность заболевания. В Ставропольском крае пик заболеваемости приходится на зимние месяцы. Именно в эти месяцы охотятся на зайцев. На заражение в результате контакта с грызунами и продуктами их деятельности приходится 28% случаев. В Омской области 74% случаев заболевания приходится на июль–октябрь, а в Республике Карелия 93% заболеваний – на период июль–сентябрь. Поскольку в этих регионах основным источником заболевания являются укусы насекомых (главным образом комаров), то пик заболеваемости хорошо коррелирует с пиком активности этих насекомых.

Группы риска. В Карелии более половины от всех заболевших – это люди старше 50 лет, чаще женщины. В Омской области 40% заболеваний приходится на детей до 12 лет.

Обнаружилось, что во всех трех регионах постановка диагноза в среднем занимала более 30 дней, в большинстве случаев первоначальный диагноз выставлялся неправильно (в Республике Карелия этот показатель доходит до 80%, в Ставропольском крае – 50%, в Омской области – 33%).

В целях усиления профилактической работы специалистам рекомендуется учитывать выявленные особенности заболеваемости туляремией. Проблемы в диагностике и учете случаев заболеваемости туляремией, видимо, следует принять во внимание при разработке тест-систем, а также при статистической обработке данных.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

База данных «Зооантропонозы на Ближнем Востоке»

Говорунов И.Г., Фольмер А.В., Храмов М.В.

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

Зооантропонозы – общие заболевания для человека и животных. За последние годы именно они вызывали ряд пандемий (грипп птиц, оспа обезьян, лихорадка Эбола). Мониторинг этих заболеваний в странах ближневосточного региона обусловлен рядом обстоятельств. Эти страны представляют геополитический интерес для России. В некоторых из них находятся или планируются к размещению российские военные контингенты. Ближний Восток – центр трех мировых религий, ежегодно посещаемый десятками миллионов паломников. Исторические, природные и культурные объекты этого региона привлекают потоки туристов. К сожалению, это также и зона постоянных вооруженных конфликтов. Ряд стран находится в непосредственной близости к границам Российской Федерации. Все это – факторы риска возникновения вспышек и эпидемий инфекционных заболеваний.

В связи с вышесказанным в ГНЦ ПМБ ведется мониторинг зооантропонозов в странах Ближнего Востока. В качестве источников информации использовали сайты международных организаций и сообществ (www.who.int, www.promedmail.org, www.healthmap.org и др.), крупных исследовательских центров (<https://coronavirus.jhu.edu/map.html>), агрегаторов сообщений СМИ (www.medworm.com), научные публикации.

Для сбора, хранения и анализа этой информации была создана база данных «Зооантропонозы на Ближнем Востоке» (рег. №2022620704 от 31.03.2022). База данных создана на основе MS Access 2013 и включает в себя: форму ввода, одну основную и две вспомогательные таблицы. Она содержит информацию по 27 заболеваниям, вызываемым вирусами, бактериями, гельминтами и простейшими в 22 странах Ближнего Востока.

В дальнейшем предполагается использовать этот дополнительный современный программный инструмент для ретроспективного анализа и оценки рисков и угроз для Российской Федерации в области биологической безопасности со стороны стран Ближнего Востока.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Опыт оценки функциональной активности клинических штаммов *Lactobacillus spp.*

Годовалов А.П., Карпунина Т.И.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А.Вагнера» Минздрава России, Пермь, Российская Федерация

Известно, что определенные виды молочнокислых бактерий способны играть заметную роль в поддержании здоро-

вья человека, поскольку относятся к комменсалам, обладающим рядом необходимых для этого свойств. Между тем в рутинной лабораторной практике достаточно сложно проводить видовую идентификацию изолируемых лактобактерий. Существует мнение, что наибольшую ценность для оценки состояния микробиоты представляют данные об их функциональной активности, в первую очередь способности продуцировать молочную кислоту. Показано (O'Hanlon et al., 2011), что именно этот метаболит более важен для обеспечения колонизационной резистентности вагинального биотопа, чем продукция радикалов.

Цель исследования – изучить продукцию молочной кислоты штаммами лактобактерий, выделенными из вагинального биотопа, как маркера микробиологического состояния.

Материалы и методы. Проведено исследование 206 образцов цервико-вагинального отделяемого. Посев осуществляли на кровяной агар и в жидкую среду МРС. Аэротолерантность лактобактерий оценивали по их способности формировать колонии на кровяном агаре при аэробных условиях культивирования. Через 72 ч культивирования в среде МРС определяли концентрацию молочной кислоты при помощи набора «Молочная кислота-Ольвекс» (Россия), а уровень глюкозы – глюкозооксидазным методом («Вектор-Бест», Россия) согласно инструкциям. Особенность использования наборов заключалась в пропорциональном уменьшении объема участников реакции.

Результаты. Прослежена корреляция между способностью лактобактерий расти в аэробных условиях и выработкой молочной кислоты ($r = 0,51$). Вне зависимости от аэротолерантности лактобактерии, выделенные от условно здоровых женщин, продуцировали молочную кислоту на уровне $14,3 \pm 0,6$ ммоль/л против $11,8 \pm 0,2$ ммоль/л при хронических воспалительных процессах ($p < 0,05$). В аэробных условиях штаммы интенсивно утилизировали глюкозу из МРС с ее исходным содержанием 50 ммоль/л. Через 72 ч концентрация глюкозы составляла $1,3 \pm 0,3$ ммоль/л. При культивировании образцов, отобранных при патологических состояниях с детекцией представителей семейства *Enterobacteriaceae* и/или родов *Candida*, *Enterococcus*, продукция молочной кислоты снижалась, как и утилизация глюкозы из среды, что соответствует более низкой продуктивности анаэробного метаболизма и косвенно указывает на доминирование строго анаэробных видов лактобактерий.

Можно полагать, что уровень продукции молочной кислоты лактобактериями $14,3 \pm 0,6$ ммоль/л при их культивировании в МРС соответствует варианту нормоценоза и встречается, как правило, при отсутствии других культивируемых таксонов. Представляется, что аэротолерантность лактобактерий ассоциируется с их более высокой антагонистической активностью в отношении условно-патогенных микроорганизмов. Определение уровня молочной кислоты в среде культивирования с учетом чувствительности лактофлоры к кислороду существенно расширяет возможности бактериологической диагностики нарушений цервико-вагинальной микробиоты.

Мониторинг за циркуляцией антибиотикорезистентных штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от пациентов одного из стационаров г. Ростова-на-Дону

Голошва Е.В.¹, Маркова К.Г.¹, Алешукина А.В.¹, Жуковская И.В.²

¹ФБУН «Ростовский НИИ микробиологии и паразитологии» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ГБУ РО «Областная клиническая больница №2», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Целью данного исследования явилось осуществление мониторинга за уровнем резистентности к антибиотическим препаратам (АП) штаммов условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), выделенных от пациентов одного из многопрофильных стационаров г. Ростова-на-Дону.

Бактериологические исследования производились в соответствии с общепринятыми методическими указаниями. Идентификация выделенных микроорганизмов и определение чувствительности к АП производилась при помощи бактериологического анализатора VITEK 2 (BioMerieux).

На протяжении периода наблюдений (2018–2020 гг.) было проведено изучение чувствительности к антибиотикам 7590 штаммов УПМ. Было установлено, что наиболее часто микроорганизмы обнаруживались в моче (93,7%), мокроте и бронхоальвеолярном лаваже (4,6%), крови (1,9%). Чаще всего из различных биотопов выделялись энтерококки (*E. faecalis*, *E. faecium*) – 44,7% случаев. Условно-патогенные энтеробактерии (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*) были выявлены в 31,8%, неферментирующие грамотрицательные бактерии (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) – в 4,85%, золотистые стафилококки – в 3,0%, коагулазоотрицательные стафилококки – в 11,1%.

По итогам анализа антибиотикорезистентности штаммов, выделенных от пациентов ГБУ РО «ОКБ №2», выявлена тенденция к росту частоты встречаемости антибиотикорезистентных штаммов УПМ практически ко всем группам АП.

Частота выделения антибиотикорезистентных штаммов *A. baumannii* в течение времени наблюдения выросла практически в 2 раза в отношении аминогликозидов и карбапенемов, а также триметоприма/сульфаметоксазола. Примечательно, что в отношении ингибитор-защищенных β-лактамов препаратов (амоксциллин/клавулановая кислота) 100% штаммов *A. baumannii* были резистентны.

Среди штаммов *P. aeruginosa* примерно в 2 раза нарастает антибиотикорезистентность в отношении цефалоспоринов, ингибитор-защищенных β-лактамов препаратов (от 69,1 до 100%).

В течение периода наблюдения обнаружено нарастание частоты встречаемости штаммов *K. pneumoniae*, резистентных в отношении всех групп изученных АП. Так, к аминогликозидам (амикацин и гентамицин) в 2019 г. были устойчивы 6,1 и 15,3% штаммов, а в 2020 г. – 19,3 и 23,1% соответственно. Резистентность к карбапенемам возросла с 6,1% в 2019 г. до 16,4% в 2020 г.

Изоляты *E. coli* на протяжении периода наблюдений обладали стабильной частотой выделения антибиотикорези-

стентных штаммов, не превышающей 50%, что может быть связано с тем, что данные культуры не являются госпитальными, а являются автохтонными для каждого конкретного пациента.

Staphylococcus aureus и штаммы *Staphylococcus* spp. стабильно устойчивы к бензилпенициллину (87,6 и 99,9% соответственно). К остальным АП резистентность варьирует по годам, с некоторой тенденцией к нарастанию в отношении клиндамицина, эритромицина и фторхинолонов. Оксациллин/цефокситин-скрининг свидетельствует о достаточно частом нахождении β-лактамаз у коагулазоотрицательных стафилококков. В отношении современных препаратов, таких как ванкомицин и линезолид, все штаммы коагулазоположительных и коагулазоотрицательных стафилококков обладали 100%-й чувствительностью.

Исследование проводилось в рамках бюджетного финансирования института.

Микробиологическая и молекулярно-генетическая характеристика клинического штамма *Candida auris*

Горемыкина Е.А., Слукин П.В., Подгорная Н.Н., Борзилов А.И., Комбарова Т.И., Фурсова Н.К.

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

Вспышки заболеваний, вызванных грибами вида *Candida auris*, представляют серьезную угрозу для здоровья человека. Основным фактором, вызывающим высокий уровень смертности от этого вида грибов, – способность вырабатывать устойчивость ко многим противогрибковым агентам. Поэтому необходимы эффективные методы инфекционного контроля, а также стратегии лечения, которые сводят к минимуму риск внутрибольничной передачи инфекции.

Цель. Изучение фенотипических и молекулярно-генетических особенностей клинического штамма *C. auris*.

Материалы и методы. Штамм *C. auris* B48/20 выделен в ФГАУ «НМИЦН им. Бурденко» в 2020 г. из крови пациента. Штамм *C. auris* CBS10913, полученный из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск», использовали в качестве контрольного. Секрецию гидролитических ферментов исследовали согласно методике El-Houssaini et al. (2018), способность к биопленкообразованию – методом культивирования в 96-луночном планшете. Для планктонных и биопленочных культур штамма определяли минимальные подавляющие концентрации (МПК) антимикотиков (амфотерицина В, циклопирокса, кетоконазола и флуконазола) и дезинфектантов (бензалкония хлорида, хлоргексидина, перекиси водорода, этилового спирта, пропанола, изопропанола, молочной кислоты и третичного амина) методом микроразведений в бульоне (для планктонных культур) и согласно Слукину и соавт. (2014) (для биопленочных культур). Интерпретировали значения МПК для антимикотиков согласно рекомендациям EUCAST ESCMID 3.0 и CLSI M27-A, а для дезинфектантов – согласно МУ 3.5.1.3439-17. Экстракцию ДНК осуществляли СТАВ-

методом. Методом полимеразной цепной реакции детектировали 2 гена резистентности: к флуконазолу (*ERG11*) и эхинокандинам (*FKS1*); и 5 генов вирулентности: *HWP1*, *ALS1*, *PLB1*, *LIP1* и *SAP4*. Вирулентность штамма определяли по уровню среднетелетальной дозы (LD_{50}) на модели личинок *Galleria mellonella* и на модели мышей линии BALB/c.

Результаты. Выявлено, что штамм *C. auris* B48/20 продуцирует все исследуемые гидролитические ферменты, а ферментация лецитиназы может служить диагностическим признаком, отличающим данный вид от других видов *Candida*. Штамм *C. auris* был чувствителен к амфотерицину В, кетоконазолу и циклопироксу, но устойчив к флуконазолу. Выявлено, что штамм *C. auris* устойчив к бензалкония хлориду и хлоргексидину. При этом он был чувствителен к минимальным рабочим концентрациям перекиси водорода, этилового, пропилового и изопропилового спиртов, третичному амину и молочной кислоте. Штамм обладает способностью образовывать биопленку, имеющую более высокую устойчивость ко всем химиотерапевтическим препаратам по сравнению с планктонной культурой. В геноме штамма не было обнаружено ни одного из тестируемых генов вирулентности и резистентности, что, предположительно, связано с наличием у него других факторов вирулентности и резистентности, принадлежащих только данному виду. Значение LD_{50} штамма *C. auris* B48/20 для личинок *G. mellonella* составило 53 КОЕ/особь, на мышинной модели данный штамм проявлял вирулентность только с предварительной иммуносупрессией со значением $LD_{50} = 6 \times 10^7$ КОЕ/особь.

Заключение. Охарактеризован штамм *C. auris* B48/20, выделенный из крови пациента в г. Москве, устойчивый к флуконазолу, образующий биопленку, обладающую большей устойчивостью к антимикотикам и антисептикам, проявляющий вирулентность на моделях личинок *G. mellonella* и мышей линии BALB/c.

Работа выполнена в рамках отраслевой темы Роспотребнадзора.

Определение доли антибиотикорезистентных штаммов рода *Listeria*, изолированных из готовой пищевой продукции

Деревянченко И.А.¹, Краева Л.А.²

¹Восточный филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Бактерии рода *Listeria* широко распространены в окружающей среде, выделяются из почвенных и водных экосистем, продуктов питания, объектов внешней среды, циркулируют в организме, и некоторые их виды являются патогенными для животных и человека. Однако если ранее патогенным для человека считался только вид *L. monocytogenes*, то в последнее время в литературе стали описываться случаи листери-

озной инфекции, вызванные другими видами листерий, в том числе *L. ivanovii*. При этом в последнее время представители рода *Listeria* все чаще обнаруживаются в готовых пищевых продуктах, реализуемых в сети общественного питания, и во всем мире наблюдается устойчивый рост доли множественно резистентных к антибиотикам штаммов *L. monocytogenes*, что обуславливает увеличение частоты встречаемости листериоза. В связи с этим изучение профиля антибиотикорезистентности некоторых видов рода *Listeria*, изолированных из готовой пищевой продукции, представляет практический интерес, что явилось целью настоящей работы.

Провели исследование чувствительности 40 штаммов *L. monocytogenes* и *Listeria* spp. к антимикробным препаратам (АМП), применяемым в терапевтических целях при листериозной инфекции (хинолонам, тетрациклинам, линкозамидам, макролидам, аминогликозидам, амфениколам и комбинированному АМП – ко-тримаксозолу). Чувствительность бактерий к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом с использованием питательного агара Muller Hinton с добавлением 5% дефибрированной лошадиной крови и 20 мг/л β-НАД. Инкубация: +35 ± 1°C, 18 ± 2 ч в соответствии с рекомендациями EUCAST 2018. Для диагностики *in vitro* использовались диски Bio-Rad. Интерпретацию результатов чувствительности проводили при помощи прибора-анализатора ADAGIO (Bio-Rad).

Результаты исследований показали, что среди изученных штаммов *L. monocytogenes* и *Listeria* spp. 40 и 64% штаммов соответственно проявляли чувствительность ко всему спектру антибиотиков, у 33% штаммов *L. monocytogenes* и у 16% штаммов *Listeria* spp. отмечалась полирезистентность. В частности, у 6% штаммов *L. monocytogenes* и у 4% штаммов *Listeria* spp. наблюдалась резистентность к хинолонам, у 20% штаммов *L. monocytogenes* – устойчивость к ко-тримаксозолу, тогда как штаммы *Listeria* spp. оказались чувствительны к данному АМП. Доли штаммов *L. monocytogenes*, резистентных к другим АМП, варьировали: к макролидам – 46%, тетрациклинам – 7%, линкозамидам – 20%, аминогликозидам – 7%, амфениколам – 7%. Доли штаммов *Listeria* spp., устойчивых к некоторым АМП, также варьировали: к макролидам – 24%, линкозамидам – 8%, амфениколам – 8%.

Таким образом, анализ резистентности штаммов рода *Listeria* показал широкую циркуляцию штаммов, характеризующихся полирезистентностью к тем антибиотикам, которые рекомендуются в качестве этиотропной терапии при листериозной инфекции.

Определение эффективности алгоритмов машинного обучения при видовой идентификации микроорганизмов методом времяпролетной масс-спектрометрии

Детушев К.В.¹, Хамитова М.Д.², Богун А.Г.¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация;
²АНО ДПО «Школа анализа данных», Москва, Российская Федерация

Технологии машинного обучения применяются для обработки больших массивов данных во многих областях исследований. Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF) сейчас активно используется в составе различных аппаратно-программных комплексов, в микробиологических лабораториях по всему миру для быстрой видовой идентификации микроорганизмов. Однако ввиду того, что разные производители используют собственное программное обеспечение и базы референсных масс-спектров, становится практически невозможным сравнивать данные, получаемые на масс-спектрометрах разных производителей.

Была проведена работа с целью оценить возможность применения технологий машинного обучения для анализа данных, получаемых с MALDI-TOF масс-спектрометра, при исследовании бактериальных культур. Для оценки применимости технологии машинного обучения при идентификации бактериальных культур на основании их белковых масс-спектров были выбраны два вида микроорганизмов – *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. В ходе исследования результаты масс-спектрометрии (масс-листы) обрабатывали с применением библиотеки PyCaret и экспериментально подобранного алгоритма Light Gradient Boosting Machine.

Показано, что при анализе данных, полученных при идентификации штаммов бактерий *E. coli* и *S. aureus* с применением библиотеки PyCaret, алгоритм Light Gradient Boosting Machine позволяет получать результаты со степенью достоверности около 98%. Полученные в ходе работы результаты позволяют сделать вывод, что использование технологий машинного обучения при идентификации микроорганизмов является перспективным направлением исследований.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Анализ варибельности геномов штаммов *Bacillus anthracis* разных генетических линий

Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Печковский Г.А.,
Аксенова Л.Ю., Семенова О.В., Головинская Т.М.,
Герасименко Д.К., Чмеренко Д.К., Куличенко А.Н.

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

Структура глобальной популяции *Bacillus anthracis* представлена тремя главными генетическими линиями – А, В и С. Штаммы возбудителя распределены между ними неравномерно, преобладают представители линии А (около 90%), линия В охватывает примерно 10%, линия С включает всего 5 штаммов (<1%). Отдельную линию составляют штаммы, отнесенные к *Bacillus cereus* biovar *anthracis*, способные вызывать сибиреязвенную инфекцию. Причины неравномерной распространенности штаммов разных генетических линий не установлены.

Целью работы была характеристика особенностей геномов штаммов *B. anthracis* разных генетических линий, влияющих на их распространенность.

Провели анализ на основе 7243 SNP корового генома у 288 штаммов, выделенных в 39 странах, включая 66 штаммов *B. anthracis* из коллекции патогенных микроорганизмов ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора. Из 288 штаммов 246 (85,4%) относились к главной генетической линии А, 37 (12,8%) – к линии В и 5 (1,8%) – к линии С. Для главных линий определены специфические SNP, при этом для наименее представительной линии С (5 изолятов) были характерны 594 SNP (118,8 SNP/геном), для линии В (37 изолятов) – 182 SNP (4,9 SNP/геном). Для линии А специфичными были 180 SNP (0,7 SNP/геном).

Изучили также полиморфизм генов основных и дополнительных факторов патогенности у выборки из 50 штаммов *B. anthracis*, относящихся ко всем 12 каноническим группам, а также генома штамма *B. cereus* bv *anthracis* CI. Анализу подвергли 18 варибельных генов, кодирующих продукты, имеющие отношение к патогенности *B. anthracis*. Варибельность определялась SNP и инделами. У 37 штаммов линии А было 44 SNP (1,2/геном, 31 миссенс), у 10 штаммов линии В – 28 (2,8/геном, 21 миссенс), у одного штамма линии С – 26 (26/геном, 20 миссенс). У штамма *B. cereus* bv *anthracis* CI был 301 SNP (301/геном, 89 миссенс). Больше всего SNP отмечено в генах отечного фактора суа (14/9 миссенс), γ -глутамилтрансферазы биосинтеза капсулы capD (8/6 миссенс) летального фактора lef (8/7 миссенс), протективного антигена pagA (6/5 миссенс) и бифункциональной лизилфосфатидилглицерол-флиппазы/синтетазы mprF (6/4 миссенс) *B. anthracis*. У штамма *B. cereus* bv *anthracis* CI максимум SNP (132) приходился на ген металлопротеазы GBAA_RS16775. У штаммов линии В, С и одного штамма линии А инсерция 9 п.н. в гене *acrA* вела к увеличению на 3 аминокислоты соответствующего белка, делеция в гене *trpA* приводила к образованию псевдогена и отсутствию функционального белка у части штаммов линии В.

Заключение. Особенность геномов менее распространенных штаммов *B. anthracis* линий В, С и *B. cereus* bv *anthracis* CI состоит в значительно большем числе SNP в генах корового генома и факторов патогенности с преобладанием значимых замен и инделов по сравнению с более многочисленными вариантами линии *B. anthracis* А. Это может объяснять разную распространенность штаммов данных генетических линий из-за вероятного влияния данных мутаций на их патогенные свойства и экологическую адаптацию.

Разработка и использование латексных тест-систем для идентификации патогенных бактерий

Ерусланов Б.В., Светоч Э.А., Мицевич И.П.,
Храмов М.В., Шепелин А.П.

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

Латексные тест-системы широко используются в диагностике бактериальных, вирусных и грибковых инфекций. Применяют их и в неинфекционной патологии, например для определения С-реактивного белка, при постановке диагноза ревматоидного артрита и т.д. Реакция латекс-агглютинации на стекле весьма проста в исполнении, не требует специальной подготовки, результаты реакции получают в течение 2 мин. Чувствительность и специфичность латексных тест-систем высоки и часто достигают 100%.

В настоящее время иностранными фирмами производятся сотни латексных тест-систем. В нашем центре разработаны и реализуются 10 латексных диагностикумов для идентификации культур *Legionella pneumophila* серотип 1, *Escherichia coli* O157:H7 и O104:H4, возбудителей гнойных бактериальных менингитов (*Haemophilus influenzae* тип В, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* тип А, В, С, W135), *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei* и *Clostridium difficile*.

Схема разработки латексной тест-системы включает: выбор специфического антигена (мишени) тестируемого вида патогена; разработку метода выделения и очистки антигена; получение кроличьих поливалентных специфических иммуноглобулинов; испытание чувствительности и специфичности препарата. Во всех случаях для приготовления диагностикумов использовали латексные частицы диаметром 0,8 мкм производства различных фирм. Чувствительность и специфичность производимых ФБУН ГНЦ ПМБ латексных тест-систем сопоставимы с аналогичными зарубежными препаратами. Стоимость отечественных тест-систем в 2–4 раза ниже зарубежных аналогов.

Пробоподготовка и обеззараживание суспензий иксодовых клещей для поиска туляремийного антигена

Зайцев А.А., Гнусарева О.А., Остапович В.В., Мироненко Е.А., Рамзаева Ю.С., Коняева О.А.

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

Резервуаром и переносчиком возбудителя туляремии служат иксодовые клещи (ИК). Для определения степени активности природного очага туляремии рекомендовано их исследование биологическим методом с целью выделения культуры и иммунологическими методами для обнаружения туляремийного антигена (СанПиН 3.3686-21). Выделение культуры *Francisella tularensis* из ИК не всегда оказывается эффективным. В таких случаях повышается значение результатов иммуносерологических исследований полевого материала.

С учетом проведения исследования суспензий пулов ИК с помощью полимеразной цепной реакции возникла необходимость в изменении последовательности тактики традиционной пробоподготовки путем суспендирования в 5,0 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида (ФР). Обеззараживание таких проб путем кипячения приводит к частичной потере материала и необходимости повторных расчетов для добавления формалина до 1–4%-й концентрации.

Цель работы – оптимизация последовательности пробоподготовки и режима обеззараживания суспензий ИК для исследования иммуносерологическими методами.

Для постановки иммуносерологических реакций использовали: диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый жидкий «РНГА-Тул-Иг-СтавНИПЧИ», диагностикум эритроцитарный туляремийный антигенный жидкий «РНГА-Тул-Аг-СтавНИПЧИ» и набор реагентов для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе («ИФА-Тул-СтавНИПЧИ») производства ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора; «ИХ-тест *F. tularensis*» производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболensk).

Для проведения исследования суспензий пулов ИК с помощью полимеразной цепной реакции их предварительно суспендировали в ~500 мкл ФР, откуда отбирали 50–100 мкл для молекулярно-генетического исследования. Затем к суспензии добавляли 4,5 мл ФР. Обеззараживание проб для иммунологических методов исследования проводили путем добавления формалина до 1–4%-й концентрации и последующей термической обработки.

Установлено, что при подготовке суспензий ИК для последующего изучения с помощью РНГА-РНАт, ТИФА или ИХ-теста ее можно модифицировать с целью повышения точности лабораторного анализа, его упрощения и устранения ложноположительных результатов. Первый этап предусматривает необходимость выдерживать суспензии ИК в присутствии 2% формалина не менее 12 ч при комнатной температуре. Но исследование таких проб даже после экспозиции при 56°C в течение 30 мин приводило к получению в ~30–70% случаев ложноположительных результатов в РНГА-РНАт. Дополнительная термическая обработка при

95°C в течение 20 мин позволила получить специфические положительные результаты реакций в 100% случаев.

Установлено, что ИХ-тесты позволяют получать специфические результаты с материалом, подготовленным как для ПЦР, что дает им преимущество перед другими методами.

Современное состояние и перспективы развития лабораторной диагностики мелиоидоза

Захарова И.Б.

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

Мелиоидоз – особо опасная инфекция с широким спектром неспецифических проявлений, ее окончательный диагноз ставится на основании результатов лабораторных исследований. Диагностическим стандартом для мелиоидоза является выделение культуры, но диагностическая эффективность метода составляет около 60% вследствие способности *Burkholderia pseudomallei* переходить в жизнеспособное, но некультивируемое состояние. Приблизительно 15% штаммов имеют нетипичный биохимический профиль и автоматическими анализаторами определяются ошибочно. Проведенный анализ отличий биохимических профилей между корректно и ошибочно идентифицированными штаммами выявил ряд особенностей, достоверно влияющих на корректность идентификации возбудителя мелиоидоза на VITEK 2 (ANOSIM $R = 0,836$, $p = 0,001$). Наличие комплекса активных D-целлобиазы (dCEL), тирозинариламидазы (TyrA) и L-пролинариламидазы (ProA) и неактивных β -N-ацетилгалактозаминидазы (NAGA), фосфатазы (PHOS) и β -N-ацетилглюкозаминидазы (BNAG) приводит к низкой дискриминации между *B. seraciac* и *B. pseudomallei*, а комбинация отрицательных результатов одного или более из тестов NAGA, TyrA и ProA с положительным dCEL – к определению возбудителя мелиоидоза как *B. seraciac*. Использование для идентификации возбудителя MALDI-TOF масс-спектрометрии ограничено отсутствием в коммерческих базах данных референтных общеклеточных масс-спектров видов комплекса *B. pseudomallei*, но внедрение в использование созданного набора референтных спектров *B. pseudomallei* и *B. mallei* обеспечило их точную идентификацию. Результаты методов иммунодиагностики являются неоднозначными, так как при тяжелых формах инфекции в ~30% случаев сероконверсия отсутствует. Кроме того, среди бактериологически подтвержденных случаев мелиоидоза результаты реакции непрямой гемагглютинации отрицательные в среднем в 42% случаев, ТИФА – в 33%, НМФА – в 10,5%, что определяет невозможность использования этой группы методов в качестве основных диагностических критериев. Для идентификации возбудителя мелиоидоза наиболее эффективны методы генодиагностики, однако генные мишени, дифференцирующие *B. pseudomallei* от других видов комплекса, подвержены риску утраты. Это определяло необходимость поиска альтернативных мишеней, и нами был разработан и зарегистрирован набор реагентов для одновременного выявления

B. pseudomallei, *B. mallei* и *B. thailandensis* по различному набору генов β-лактамаз молекулярных классов В и D.

Проблемы лабораторной диагностики мелиоидоза обусловлены прежде всего биологическими свойствами его возбудителя (наличие открытого обширного генома, имеющего высокую степень гомологии с филогенетически близкими видами, морфологическая изменчивость и биохимическая вариабельность; особенности взаимодействия с хозяином, включая способность уклоняться от иммунного пресса и даже влиять на него). Эти свойства могут оказывать влияние, и порой весьма значительное, на результаты тех или иных методов выявления возбудителя, что обуславливает необходимость комплексного и гибкого подхода к лабораторной диагностике мелиоидоза.

Получение гибридом, синтезирующих мышинные моноклональные антитела против легкой цепи ботулотоксина типа А

Зенинская Н.А., Марьин М.А., Рябко А.К., Карцева А.С., Силкина М.В., Комбарова Т.И., Романенко Я.О., Шемякин И.Г., Фирстова В.В.

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

Ботулизм – острая, зачастую фатально заканчивающаяся пищевая токсикоинфекция, вызываемая блокадой нервных импульсов токсинами возбудителя *Clostridium botulinum*. Среди вызывающих болезнь у человека наиболее распространены бактерии, синтезирующие токсины типов А, В и Е. Ботулотоксины опасны ввиду того, что для оказания токсического действия требуются микроколичества активного вещества. Для нейтрализации несвязавшегося токсина в крови больных в настоящее время широко используется поливалентная лошадиная антитоксическая сыворотка, которая вызывает ряд побочных эффектов, в связи с чем актуальным направлением является разработка новых эффективных средств специфической терапии ботулизма.

Целью данной работы является получение штаммов гибридных клеток, способных синтезировать мышинные моноклональные антитела (МКА) к рекомбинантному белку легкой цепи ботулотоксина типа А (rBoNT/A-LC) *C. botulinum* ATCC 19399.

Материалы и методы. Восьминедельные мыши линии BALB/c были иммунизированы внутримышечно в основание хвоста модифицированным нетоксичным белком rBoNT/A-LC, конъюгированным с KLH, в количестве 100 мкг на мыш. Иммунизация производилась трехкратно: сначала в смеси с полным адьювантом Фрейнда 1:1, затем с интервалом в 3 нед. без него. Анализ титров IgG в крови животных проводился методом непрямого твердофазного иммуноферментного анализа раз в 2 нед. Спленоциты гипериммунных мышей были гибридизованы с линией клеток-партнеров Sp2/0-Ag14 методом электрослияния при помощи прибора ВТХ ЕСМ2001 (Harvard Apparatus, США) в соотношении 5:1. Полученные гибридные клетки культивировались на среде DMEM под давлением НАТ с последующим скринингом МКА

к rBoNT/A-LC и двукратным клонированием гибридом, не утративших способности к синтезу IgG.

Результаты. Для слияния были отобраны мыши со значениями титров антител 1:32000–64000. Эффективность гибридизации составила 67,36% при учете значений оптической плотности, превышающих таковую отрицательного контроля более чем в 3 раза. По итогам отбора было получено 11 индивидуальных стабильных гибридом.

Выводы. Полученные клоны гибридных клеток являются специфичными в отношении целевого белка rBoNT/A-LC и выступают в качестве приемлемых кандидатов как для разработки диагностических тест-систем для детекции ботулотоксина типа А в продуктах питания и анализах больных, так и в качестве основы для конструирования терапевтических препаратов химерных антител мышь–человек.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение от 31.10.2019 №075-15-2019-1671).

Изучение формирования и напряженности поствакцинального гуморального иммунного ответа у перенесших COVID-19 разной степени тяжести

Иванова И.А., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Омельченко Н.Д.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора», Ростов-на-Дону, Российская Федерация

При COVID-19 величина и продолжительность иммунного ответа, в том числе и гуморального, напрямую зависит от антигенной нагрузки и гетерогенности между отдельными лицами во всех иммунных реакциях на SARS-CoV-2. Оценка гуморального звена иммунитета у пациентов, перенесших заболевание разной степени тяжести и вакцинированных противокоронавирусными вакцинами, позволит оценить формирование и напряженность «гибридного» иммунитета. Целью работы являлось изучение гуморального иммунного ответа у лиц, перенесших COVID-19 разной степени тяжести и впоследствии вакцинированных «Ковивак» и «Спутник V».

В эксперименте принимали участие волонтеры (средний возраст $47,3 \pm 14,5$ года), переболевшие новой коронавирусной инфекцией бессимптомно ($n = 32$), в средней степени тяжести ($n = 21$) и в тяжелой форме ($n = 12$), которые через 6–9 мес. после выздоровления были привиты «Ковивак» и «Спутник V». Группы вакцинированных состояли из болевших: тяжело, привитых «Ковивак» ($n = 6$) и «Спутник V» ($n = 6$); в средней степени тяжести, привитых «Ковивак» ($n = 10$) и «Спутник V» ($n = 11$); бессимптомно, привитых «Ковивак» ($n = 10$) и «Спутник V» ($n = 22$). Через 1 мес. и 4–5 мес. после второй дозы вакцины у волонтеров всех групп выявляли наличие иммуноглобулинов класса G с помощью тест-системы «SARS-CoV-2RBD-ИФА-Гамалеи» (ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф.Гамалеи» Минздрава России).

Результаты свидетельствуют о том, что у перенесших COVID-19 разной степени тяжести формируется гуморальный иммунный ответ, сохраняющийся до 9 мес. Наибольшее

количество волонтеров, имеющих антитела к S-белку SARS-CoV-2, было зарегистрировано в группе тяжелопереболевших (91,7%). Через месяц после введения второй дозы «Спутник V» все обследованные из этой группы стали серопозитивны, такая же тенденция сохранялась до конца исследования. Достоверное увеличение количества волонтеров с гуморальным иммунитетом к возбудителю новой коронавирусной инфекции было выявлено нами среди болевших в среднетяжелой форме уже через месяц после вакцинации «Спутник V» (с 76,2 до 90,9%), через 4–5 мес. их количество увеличилось до 100%. В группе перенесших COVID-19 бессимптомно статистически достоверное увеличение до 100% числа лиц с IgG достигалось только к концу срока наблюдения. Следует отметить, что все волонтеры, привитые «Ковивак», имели антитела к S-белку SARS-CoV-2 от начала и до конца эксперимента.

Полученные данные могут быть полезны для понимания длительности сохранения поствакцинального гуморального иммунного ответа у перенесших COVID-19 разной степени тяжести, а также выбора для таких пациентов наиболее эффективных вакцин и определения оптимальных сроков (ре)вакцинации.

Работа проведена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Серотиповой спектр пневмококков, циркулирующих в 2020–2021 годах в Республике Татарстан среди детей-носителей дошкольного возраста

Исаева Г.Ш.^{1,2}, Баязитова Л.Т.^{1,2}, Тюпкина О.Ф.¹, Чазова Т.А.¹, Хусаинова Р.М.^{1,2}, Зарипова А.З.^{2,3}, Зиатдинов В.Б.^{1,2}

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

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

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Татарстан (Татарстан)», Казань, Российская Федерация

Пневмококковая инфекция (ПИ) является одной из серьезных проблем современного здравоохранения. Несмотря на достижения вакцинопрофилактики против ПИ, данные исследований свидетельствуют об увеличении частоты колонизации носоглотки невакцированными штаммами.

Цель. Изучение региональных аспектов серотипового пейзажа *Streptococcus pneumoniae* (Sp), циркулирующих среди здоровых детей.

Материалы и методы. За период 2020–2021 гг. были обследованы дети ($n = 421$) дошкольного возраста, посещающие детские дошкольные учреждения Республики Татарстан, из которых 122 ребенка проживают в городе, 299 – в селе. Охват PCV13-вакцинацией составил у городских детей 72%, среди сельских – 51,8%.

Материалом для исследования служили мазки из носоглотки. Биоматериал высевали на плотные питательные среды Columbia agar Base (Conda, Испания) с добавлением

5% крови. Фенотипическую идентификацию Sp проводили на основании морфологических, культуральных, биохимических свойств. Молекулярную детекцию ДНК Sp проводили поэтапно: скрининг на мишени *lytA* и *cpsA*, далее положительные образцы типировали методом мультиплексной полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием мастер-микса DreamTaq (Thermo Scientific™).

Результаты. Частота обнаружения Sp составила 40,8%, при этом у городских детей она регистрировалась достоверно выше, чем у сельских, – 64,2 и 31,1% соответственно ($p < 0,01$). Анализ зависимости частоты выделения Sp от вакцинального статуса показал, что среди вакцинированных городских детей колонизация носоглотки Sp была также выше, чем у сельских, – 76 и 53,7% соответственно.

Анализ серотипового пейзажа показал, что в подгруппах вакцинированных и невакцинированных детей превалировала колонизация вакцинными серотипами: их доля составила 64,4%; доля невакцинных – 25,1%, доля нетипируемых – 10,5%. При этом нужно отметить, что в 25,8% случаев наблюдалась микст-колонизация несколькими серотипами Sp (от 2 до 4).

Серотиповой состав колонизирующих Sp у вакцинированных и невакцинированных бактерионосителей имел отличия. У вакцинированных детей доминировали вакцинные штаммы из состава вакцины PPSV23 (9LN – 9,6%, 11AD – 15,2%) и вакцины PCV13 (6ABCD – 10%), 19F – 9,6). Доля невакцинных серотипов составила 29,3%, наблюдалось генетическое разнообразие: 12AF, 15AF, 33AF, 16F, 23A, 22AF, среди которых доминировал серотип 23A (13,5%). У невакцинированных детей преобладали серотипы, входящие в состав вакцины PCV13 (19F – 20%, 6ABCD – 17,2%) и, в меньшей степени, вакцины PPSV23 (9LN – 9%, 11 AD – 11,1%). Доля невакцинных серотипов была ниже, чем у вакцинированных детей, – 18%, с меньшим серотиповым спектром (15AF, 23A, 22AF).

Вывод. Полученные данные указывают на высокий уровень пневмококконосительства и генетическое разнообразие серотипового пейзажа среди здоровых детей дошкольного возраста, проживающих в городской среде, что обуславливает необходимость эпидемиологического мониторинга за циркуляцией возбудителя в организованных коллективах.

Разработка базы данных «Новые перспективные штаммы-продуценты бактериоцин-подобных соединений и биологически активных веществ»

Калмантаев Т.А., Клыкова М.В., Дунайцев И.А., Похиленко В.Д., Жиглецова С.К., Говорунов И.Г.

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

В последнее время в мире наблюдается повсеместный рост устойчивости патогенов к различным группам антибиотических веществ, вплоть до выявления мультирезистентных штаммов опасных для человека возбудителей инфекционных болезней. Химический синтез новых производных для известных групп антибиотиков сдерживается повышением

их токсичности и другими побочными эффектами. Известная способность микроорганизмов синтезировать разнообразные антимикробные соединения, включая новые группы веществ, до конца не изучена. Среди биологически активных веществ различной природы выделяются бактериоцин-подобные соединения (бактериоцины) – вещества, обладающие ингибирующим воздействием на патогенные и условно-патогенные микроорганизмы и составляющие относительно новую группу «естественных» антибиотикоподобных веществ. Бактериоцины представляют собой низкомолекулярные пептиды с молекулярной массой от 3 до 10 кДа. Бактериоцин-продуцирующими микроорганизмами чаще всего являются лакто-, бифидобактерии, энтерококки и спорообразующие бациллы.

Специалистами ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора в 2006–2021 гг. был выделен ряд природных штаммов-продуцентов бактериоцин-подобных соединений из различных источников окружающей среды. Полученную информацию об их свойствах оформили в виде базы данных «Новые перспективные штаммы-продуценты бактериоцин-подобных соединений и биологически активных веществ». Эта база данных предназначена для обобщения, структурирования, хранения и анализа данных о биотехнологических штаммах-продуцентах антимикробных соединений, активных в отношении клинически значимых возбудителей инфекционных заболеваний, в том числе резистентных к антибиотикам.

База данных состоит из основной таблицы и формы ввода, информация в которой сгруппирована по следующим категориям:

- информация о штамме-продуценте (содержит название штамма и перечень штаммов, к которым он проявляет антагонистические свойства);
- информация о депонировании штамма (содержит наименование коллекции, в которой штамм депонирован, и присвоенный ему номер);
- информация о публикации (приведены библиографические ссылки на патенты и научные публикации).

База данных реализуется на IBM-совместимом ПК с операционной системой не ниже Windows 7, программой управления данными Access 2013 и выше. Объем базы данных – 500 Кб.

Филогенетический анализ штаммов *Yersinia pestis* из природных очагов Северного Приаралья по данным полногеномного SNP-типирования

Карпетян Л.А., Нарышкина Е.А., Ерошенко Г.А.

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

В Северо-Приаральском и Приаральско-Каракумском природных очагах чумы на протяжении последних лет отмечается постоянная эпизоотическая активность. На территории очагов Приаралья распространены высоковирулентные

и эпидемически значимые штаммы *Yersinia pestis* основного подвида средневекового биовара, которые неоднократно вызывали случаи заболевания чумой человека. В связи с этим актуальной является разработка эффективной системы молекулярной идентификации штаммов *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья.

Для оценки филогенетических связей между штаммами *Y. pestis* из природных очагов Северного Приаралья, а также для установления их возможного происхождения мы использовали метод SNP-типирования. Филогенетический анализ проводили на основе полученных полногеномных последовательностей 21 штамма. Была построена дендрограмма на основе 1364 полиморфных нуклеотидов с помощью программы PhyML 3.1 алгоритмом Maximum Likelihood. Для более достоверной кластеризации в анализ были включены штаммы *Y. pestis* из сопредельных очагов чумы.

Все изученные штаммы *Y. pestis* из очагов Северного Приаралья относились к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара основного подвида возбудителя чумы. В структуре этой ветви выявлены 5 филогенетических групп MN1–MN5 (MN – средневековый узел). Все штаммы филогенетических групп MN3–MN5 на SNP-дендрограмме являются потомками прикаспийской ветви эволюции 2.MED1. В эту прикаспийскую ветвь вошли штаммы, выделенные из обоих очагов Приаралья в 1945–1966 гг. Часть исследованных штаммов *Y. pestis* из Северного Приаралья вошла и в другую – центральноазиатскую – ветвь средневекового биовара. Это штаммы из Северо-Приаральского и Приаральско-Каракумского пустынных очагов, но более позднего периода выделения – 1967–1974 гг. Полученные филогенетические данные позволяют сделать предположение о том, что впервые в XX веке активизация Северного Приаралья произошла в 1945 г. в результате распространения здесь прикаспийской ветви 2.MED1 из очагов Северного Приаралья. Во второй половине XX века территории Северного Приаралья достигла волна распространения центральноазиатской ветви 2.MED1 из очагов чумы Прибалхашья. Обе эти интродукции привели к укоренению *Y. pestis* в экосистеме Северного Приаралья, сопровождавшемуся эпизоотическими проявлениями и эпидемиологическими осложнениями в очагах.

Полученные полногеномные референсные последовательности *Y. pestis* могут быть использованы для разработки методов внутрибиоварной дифференциации этих штаммов по их филогенетической и очаговой принадлежности. Метод SNP-типирования будет полезен для изучения популяционной структуры средневекового биовара из очагов Северного Приаралья с учетом анализа большого числа полиморфных локусов SNPs.

Анализ молекулярно-генетического разнообразия и эволюционно-географического распространения штаммов возбудителя бруцеллеза на территории Российской Федерации

Ковалев Д.А., Писаренко С.В., Пономаренко Д.Г.

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

Исследование генетической структуры популяции *Bruceella* spp. в России остается актуальной научно-прикладной задачей.

Цель работы – полногеномный анализ штаммов *B. abortus* и *B. melitensis*, выделенных на территории Российской Федерации, детализация их положения в филогенетической структуре глобальной популяции вида и установление степени родства изолятов из разных географических территорий.

Геномы 59 штаммов *B. abortus* и 36 штаммов *B. melitensis*, выделенных на территории Сибири и юга европейской части России в период с 1948 по 2021 г., секвенировали с помощью Ion GeneStudio S5 System. В качестве референсных были выбраны геномные последовательности штаммов *B. abortus* S19 и *B. melitensis* 16 M. Для построения корового генома использовали 232 генома *B. abortus* и 349 геномов *B. melitensis*, находящихся в открытом доступе. Поиск и идентификацию SNP осуществляли в Mega10. Для изучения филогеографического распределения таксонов применяли BEAST 2.3.0.

Представители вида *B. abortus* подразделяются на 4 основные клады, соответствующие генетическим линиям А, В, С1 и С2. Установлено, что штаммы, циркулирующие на территории России, относятся к широко распространенной в Евразии линии С1 (вероятное время формирования – VI в. до н.э.) и имеют общее происхождение от предка из Центральной Азии. Российские штаммы принадлежат к следующим подгенотипам линии С1: С1а, С1b (IV в.) – преимущественно штаммы из регионов Сибири, С1d (VIII в.) – штаммы, выделенные на Северном Кавказе.

В ходе исследования получены новые данные, позволяющие предполагать существование ранее не описанной древнейшей (около 13 тыс. лет назад) генетической ветви *B. abortus*, включающей штаммы из Китая и России.

Глобальная популяция *B. melitensis* представлена пятью основными генотипами (I–V), которые имеют определенную географическую приуроченность. Штаммы *B. melitensis*, выделенные в России, принадлежат к генотипу II, который имеет самое широкое географическое распространение. При этом штаммы дифференцируются на два подгенотипа (около XIV в.): IIh (регионы Сибири) и IIi (европейская часть страны).

Таким образом, в работе проведен полногеномный анализ представительной выборки штаммов двух наиболее значимых в эпидемиологическом аспекте видов возбудителя бруцеллеза. Созданы филогеографические модели распространения штаммов *B. abortus* и *B. melitensis* на территории России. Показана высокая степень сходства wgSNP-профилей бруцелл из отдельных географических регионов страны.

Частота распространения дрожжевых грибов при антибиотик-ассоциированной диарее

Колеватых Е.П., Потехина С.В.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация

Цель исследования – оценка роли антибиотиков, применяемых в алгоритме лечения COVID-19, в развитии кандидозного дисбактериоза кишечника у лабораторных животных.

Материалы и методы. Под наблюдением находились 36 лабораторных беспородных белых мышей средней массой $31 \pm 3,26$ г. Экспериментальные исследования проводили в соответствии с требованиями санитарных правил. Животные были разделены на две группы по 18 голов. Путем парентерального введения препаратов левофлоксацина и цефтриаксона в течение 7 суток моделировали развитие дисбактериоза кишечника. Фекалии отбирали с помощью ректальных трубок до применения антибиотиков, на 2, 7, 14, 30-е сутки, разводили стерильным изотоническим раствором от 10^{-1} до 10^{-11} . Применяли питательные среды Сабуро для выделения дрожжевых грибов, Блаурокка – для индикации бифидобактерий, лактобакагар – лактобактерии, Эндо – *Escherichia coli*, энтерококкагар – энтерококки, анаэроагар – бактерии рода *Bacteroides*. Идентифицировали в биохимических системах ERBA LACHEMA (Чехия). Использовали набор реагентов для амплификации ДНК рода *Candida*: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* (НПО «Вектор-Бест»). В рацион животных 1-й группы вводили пробиотические препараты.

Результаты. Через 24 ч после применения антибиотиков у животных обеих групп наблюдали беспокойство, разжижение кала, примеси слизи и крови, гиперемия в анальной области. При лабораторном исследовании отмечали статистически достоверное ($p \leq 0,05$) снижение количества бифидобактерий, лактобактерий, кишечной палочки, энтерококков, бактериоидов на фоне увеличения частоты распространения дрожжевых грибов *C. albicans* (в 1-й группе до 100% при исходном уровне 66,7%; во 2-й группе – 88,9 и 72,2%), *C. krusei* (38,9 и 11,1%; 33,3 и 11,1% соответственно), *C. glabrata* (27,8 и 11,1%; 38,9 и 16,7%), *C. tropicalis* (27,8 и 16,7%; 33,3 и 11,1%), *C. parapsilosis* (27,8 и 11,1%; 33,3 и 16,7%). Величина микробных очагов грибов рода *Candida* достигала до 10^7 КОЕ/г при исходном уровне 10^2 КОЕ/г. Пероральное введение бифидосодержащих пробиотических препаратов животным 1-й группы по сравнению с особями 2-й группы уже на 9-е сутки показало увеличение количества бифидобактерий и снижение дрожжевых грибов ($p \leq 0,05$).

Заключение. При парентеральном введении двух антибиотиков на 2-е сутки у всех животных появлялась диарея с увеличением количества дрожжевых грибов рода *Candida*. При введении пробиотических препаратов в корм особям 1-й группы отмечали сокращение сроков исчезновения симптомов дисфункции желудочно-кишечного тракта и восстановления микробиоты кишечника.

Разработка базы данных «Штаммы фосфатрастворяющих микроорганизмов – перспективные продуценты для борьбы с патогенами человека, животных и растений»

Кондрашенко Т.Н., Клыкова М.В., Дунайцев И.А., Жиглецова С.К., Говорунов И.Г.

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

Повсеместный рост устойчивости различных патогенов человека, животных и растений к различным группам антибиотических веществ, вплоть до обнаружения мультирезистентных штаммов патогенов, требует дальнейшего активного поиска новых соединений и групп веществ, перспективных для использования для борьбы с возбудителями болезней бактериальной и грибной этиологии. Недавно отмечено, что фосфатрастворяющие микроорганизмы (ФРМ), крупнейшая коллекция которых создана в нашем центре, часто способны не только активно высвобождать фосфаты из нерастворимых соединений, но и проявлять другие полезные свойства. Одним из них для многих ФРМ-штаммов оказалась высокая антимикробная активность, что может быть использовано для борьбы с различными заболеваниями человека, животных и растений. Также у ФРМ отмечаются ростостимулирующие свойства, способность к эмульгации углеводородов нефти, устойчивость к химическим пестицидам. Среди активных ФРМ, обладающих выраженными антимикробными свойствами, чаще всего выявляются грам-отрицательные псевдомонады, ацинетобактерии, спорообразующие бациллы, дрожжи.

Результаты исследования свойств ФРМ были заложены в базу данных (БД) «Штаммы фосфатрастворяющих микроорганизмов – перспективные продуценты для борьбы с патогенами человека, животных и растений», предназначенную для обобщения, структурирования, хранения и анализа данных о биотехнологических штаммах-продуцентах антимикробных соединений против клинически значимых возбудителей инфекционных заболеваний человека, животных и растений, в том числе резистентных к антибиотикам.

В разработанной БД использовали полученную информацию о природных штаммах-продуцентах, выделенных из различных экологических ниш специалистами ФБУН ГНЦ ПМБ в ходе 15 экспедиций в различные регионы РФ и СНГ в период 2000–2019 гг. Информация о каждом изучаемом штамме-продуценте распределена по следующим категориям:

- общая информация, в настоящее время о 33 штаммах (название штамма и место депонирования в отечественных и зарубежных коллекциях);
- данные о возбудителях бактериальных инфекционных заболеваний человека, животных и растений, чувствительных к метаболитам ФРМ-продуцентов;
- данные о возбудителях грибных инфекционных заболеваний человека, животных и растений, чувствительных к метаболитам ФРМ-продуцентов;
- данные об основном показателе – фосфатрастворяющей активности ФРМ-продуцентов;

- сведения о других полезных свойствах ФРМ-продуцентов;
- библиографические ссылки на публикации, где представлена подробная информация об исследовании продуцента, его антимикробной активности и других полезных свойств.

БД представлена одной основной таблицей и формой ввода; реализуется на IBM-совместимом ПК с операционной системой не ниже Windows 7, программой управления данными Access 2013 и выше. Объем базы данных: 600 Кб.

Экспресс-метод определения чувствительности к бактериофагам как способ борьбы с антибиотикорезистентностью

Конькова Л.С., Краева Л.А.

ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Бактериальные инфекции, в том числе связанные с оказанием медицинской помощи, представляют собой актуальную проблему современного здравоохранения. Если глобальная тенденция к росту устойчивости бактерий к антибактериальным препаратам продолжится, то перечень средств для борьбы с устойчивыми микроорганизмами может быть исчерпан.

За последние 10 лет доля устойчивых к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae* увеличилась до 54% к карбапенемам (из 425 изолятов), 80% к цефалоспорином 3-го поколения (из 322 изолятов), 86% к фторхинолонам (из 407 изолятов), 47% к аминогликозидам (из 405 изолятов). Особое внимание уделяется бактериофагам как альтернативе антибиотикам. Для более быстрого выбора эффективных терапевтических фагов в качестве альтернативного антибактериального препарата необходимо в самые короткие сроки определить чувствительность выделенных культур микроорганизмов к предполагаемым к использованию бактериофагам. Главным преимуществом экспрессных методов определения чувствительности к бактериофагам является возможность значительного ускорения процесса назначения лечения.

Экспресс-метод определения чувствительности грам-отрицательных бактерий к бактериофагам предусматривает внесение в питательную среду инокулята бактерии и исследуемых жидких препаратов бактериофагов. В течение 2,5–3 ч образец находится в термостате при температуре $36,8 \pm 0,2^\circ\text{C}$, после чего исследуется под микроскопом с увеличением не менее 400. Подсчитывается количество выросших микроколоний в поле зрения микроскопа, которое сравнивается с количеством микроколоний в образце без добавления бактериофага. Далее по специальной формуле рассчитывается коэффициент, по значению которого судят о степени чувствительности микроорганизма к бактериофагу. Все значения коэффициентов получены путем сопоставления с результатами исследования чувствительности к бактериофагам классическим методом.

В результате уже через 2,5–3 ч можно судить о чувствительности бактериального штамма к бактериофагам. Этот способ не требует дополнительного оснащения, легко выполним в бактериологической лаборатории любого уровня. Он позволит получать результат в 6–8 раз быстрее, чем при использовании классической методики, что, в свою очередь, даст возможность своевременно назначить пациенту адекватную терапию.

Определение чувствительности *Campylobacter* spp. к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера–Хинтона различных производителей в рамках программы импортозамещения

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

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

Бактерии рода *Campylobacter*, вызывающие кампилобактериоз, все чаще проявляют устойчивость к антибиотикам. До недавнего времени в качестве референтного метода определения чувствительности *Campylobacter* spp. к антимикробным препаратам (АМП) использовали метод разведений в агаре. Трудоемкость метода привела к необходимости применения других методов исследования, в т.ч. диско-диффузионного. Проблема стандартизации диско-диффузионного метода для кампилобактерий окончательно не решена из-за вариативности свойств питательных сред, рекомендуемых стандартами EUCAST и CLSI M45, и отсутствия требований к их контролю качества в стандарте CLSI.

Цель работы. Определить чувствительность штаммов *Campylobacter* spp. к АМП диско-диффузионным методом по стандарту EUCAST с использованием питательных сред отечественного и иностранного производства.

Материалы и методы. В работе использовали кровяные агары Мюллера–Хинтона (МХА) двух фирм-производителей – МХА-BD и МХА-Оболensk – с добавлением 5% дефибрированной лошадиной крови («Эколаб») и 20 мг/л β -NAD (Sigma), тест-штамм *C. jejuni* ATCC 33560, 3 клинических и 4 музейных штамма *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* и *C. lari*, а также диски с ципрофлоксацином, эритромицином и тетрациклином (BD).

Результаты. Изучение антибиотикочувствительности *C. jejuni* ATCC 33560, рекомендуемого для контроля качества питательных сред, показало, что на МХА-BD и МХА-Оболensk получены значения диаметров зон подавления роста вокруг ципрофлоксацина (38 ± 1 мм), эритромицина (31 ± 1 мм) и тетрациклина (34 ± 1 мм), соответствующие целевым значениям. Анализ музейных штаммов показал, что значения исследуемых параметров для *C. coli* ATCC 33559 и *C. jejuni* ATCC 11168 вокруг дисков с эритромицином и тетрациклином, полученные на МХА-BD и МХА-Оболensk, практически не отличались друг от друга: 37 ± 1 мм и 42 ± 1 мм соответ-

ственно, штаммы интерпретированы как чувствительные (S). При использовании диска с ципрофлоксацином результаты были сходными (37 ± 1 мм), а штаммы идентифицированы как чувствительные при увеличенной экспозиции (I).

Значения диаметров, полученные при тестировании чувствительности *C. lari* ATCC 35221 и *C. fetus* ATCC 27374 к эритромицину и ципрофлоксацину на обеих питательных средах, не отличались между собой. При тестировании комбинаций *C. lari*-тетрациклин и *C. fetus*-тетрациклин их величина составила 42 ± 1 мм и 38 ± 1 мм соответственно на МХА-BD, а на МХА-Оболensk – на 2–3 мм ниже. Клинические категории чувствительности этих видов кампилобактерий идентифицировать не удалось, т.к. в интерпретационных таблицах указаны пограничные значения для *C. coli* и *C. jejuni*.

Тестирование клинических штаммов показало, что *C. jejuni* F-2 чувствителен (S) к эритромицину и тетрациклину, а также при увеличенной экспозиции (I) – к ципрофлоксацину. Штамм *C. coli* V-2 был также чувствителен (S) к эритромицину и тетрациклину, но устойчив (R) к ципрофлоксацину. Третий клинический штамм *C. jejuni* Ph-15 оказался устойчивым ко всем протестированным АМП на обеих питательных средах.

Выводы. Проведенное исследование показало, что оба кровяных агара Мюллера–Хинтона отечественного и иностранного производства соответствовали требованиям стандарта EUCAST и позволили получить идентичные результаты при анализе чувствительности штаммов кампилобактерий. Таким образом, используемая в работе отечественная питательная среда не уступает по качеству иностранной питательной среде, что особенно актуально в свете импортозамещения.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Опыт применения питательных сред для контроля безопасности пищевой продукции в условиях импортозамещения

Котенева Е.А., Волокитина Е.Н.

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

Питательные среды являются одним из основных компонентов микробиологических исследований. В условиях сложившейся экономической ситуации остро стоит проблема своевременного и качественного оснащения лабораторий питательными средами и расходными материалами.

Правильный подбор питательных сред обеспечивает возможность более быстрого и качественного выделения микроорганизмов и их идентификации, что важно для соблюдения и поддержания благополучной эпидемиологической обстановке в стране.

На примере выделения патогенных микроорганизмов на базе бактериологической лаборатории хотим продемонстрировать возможность использования отечественных питательных сред без потери качества проводимых исследований.

Для обнаружения патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах и объектах окружающей среды нами использовались отечественные и импортные питательные среды – ПАЛ, ПБЛ, RVS-бульон, XLD-агар, ЗПВ, селенитовый бульон, среды Эндо, Левина и др. Процент отечественных сред от общего количества наименований закупаемых питательных сред в среднем составляет 70–80%.

За период 2019 г. – I полугодие 2022 г. в рамках производственного контроля и планового государственного надзора в объектах окружающей среды и пищевых продуктах было обнаружено 209 патогенных культур, 142 из которых – листерии. Большая часть выделенных листерий приходится на мясную (70,4%) и куриную (16,9%) продукцию, меньше – на колбасные (1,4%) изделия, рыбную (10,6%) и готовую (0,7%) продукцию. Остальные выделенные культуры (67) – это сальмонеллы, более 44,8% из которых – вода поверхностных водоемов. После направления в НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора для идентификации и генотипирования культуры прошли успешное подтверждение, что говорит о качестве проводимых исследований, в т.ч. с использованием отечественных питательных сред.

Лаборатория имеет и альтернативные высокотехнологичные инструменты исследования: анализатор иммунологический mimiVidas® (Франция), анализатор микробиологический «БакТрак 4300» (Австрия) и анализатор бактериологический полуавтоматический MicroScan AutoScan4. Но из-за высокой стоимости расходных материалов они уступают классическому культуральному методу, который продолжает оставаться основным.

Попадая в рамки современных экономических и политических реалий и строго регламентирующей нормативной базы, микробиология сталкивается с рядом проблем, для решения которых необходимо расширять перечень питательных сред и расходных материалов отечественного производства, вносить при возможности изменения в действующие нормативные документы. Только так мы получим независимость от импортного производства, стабильность и качество проводимых исследований, оставляя за испытательными лабораторными центрами возможность права выбора питательных сред по качеству не хуже указанных в нормативной базе.

Выявление индивидуальных особенностей биологических свойств штаммов *Bacillus anthracis* на почвенной среде для оценки их способности завершать полный жизненный цикл в почве

Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Калинин А.В., Абрамович А.В., Щербакова В.Ю., Родионов И.С.

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

Оценка возможной роли штаммов *Bacillus anthracis* с различными свойствами в формировании устойчивых почвенных очагов сибирской язвы с поддержанием их потенциала не только за счет сохранения культуры в споровой форме, но и пополнения концентрации спор в результате прохождения

полного цикла «спора – вегетативная культура (этап размножения) – спора» должна происходить в условиях, максимально приближенных к почве по наличию питательных веществ с последующим моделированием температуры, влажности и цикличности их смены.

Цель работы – анализ индивидуальных особенностей развития вегетативной культуры штаммов возбудителя сибирской язвы с различным фенотипом на модели почвенной среды.

Материалы и методы. В работе использовали штаммы *B. anthracis*: диплазмидные 1(CO), 12/16, 14/41, 12/16 4П, 228, 228 Прот, 1(CO)-S, 1(CO)-5-1 SM, 14/41-1a SM и 12/16-S (формирующие капсулу на воздухе), а также моноплазмидные 228/8 и 14/41 Trp+ (pXO1+, pXO1-) и бесплазмидный 228/4.

Для почвенной среды готовили водный экстракт почвы, измеряли pH (7,2) и добавляли агар до концентрации 1,5%, стерилизовали и разливали в чашки Петри. Посев спор производили в дозе ≈100 КОЕ в объеме 100 мкл, распределяли шпателем по поверхности среды и инкубировали при 37°C. Результаты оценивали визуально по наличию роста и просмотром мазков, окрашенных методом Ребигера.

В посевах на почвенной среде штаммы *B. anthracis* различались по способности спор прорастать и формировать колонии на этой среде, а также образовывать споры. В первую очередь следует отметить, что по сравнению с контрольными средами рост на почвенной среде был очень скудным, штаммы формировали 1–7 колоний. Через 24 ч рост наблюдался только у штамма 1(CO), через 48 ч – у штаммов 1(CO)-5-1 SM, 228/4 и 228/8, а через 72 ч добавился рост штаммов 14/41, 14/41 Trp+, 1(CO)-S и 228. Штамм 12/16 и его производные 12/16-S и 12/16 1 IV п, а также штаммы 14/41-1a SM и 228 Прот не дали видимого роста в течение всего срока наблюдения (6 суток). К этому времени первую группу составляли штаммы *B. anthracis* 1(CO), 14/41 и 228/4, в мазках у которых в эти сроки наблюдалось значительное количество как вегетативной культуры, так и расположенных внеклеточно спор. Культура штаммов *B. anthracis* 228, 1(CO)-S была представлена в основном измененными по форме и величине бациллами при отсутствии спор. В мазках с поверхности почвенного агара после 6 суток инкубации штаммов *B. anthracis* 12/16, 228 Прот, которые не формировали видимых колоний, выявляли единичные бациллы, в том числе и с измененной морфологией. В смыве с почвенного агара, засеянного спорами штамма *B. anthracis* 14/41-1a SM, были обнаружены в небольшом количестве только неизмененные споры.

Для образования стойких почвенных очагов сибирской язвы, вероятно, имеют значение штаммы, способные завершать полный цикл развития или сохраняющие интактные споры в почве, значительная часть штаммов после герминации спор образовывали вегетативные инволютивные формы, не способные к длительному сохранению жизнеспособности.

Особенности смены морфофункциональных форм различных штаммов *Bacillus anthracis* при развитии бактериальной культуры в условиях, имитирующих *in vivo*

Котенева Е.А., Цыганкова О.И., Калинин А.В., Щербакова В.Ю., Родионов И.С., Абрамович А.В.

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

Возбудитель сибирской язвы – микроорганизм со сложными системами регуляции процессов жизнеобеспечения в различных условиях, посредством смены морфофункциональных форм. Значительная вариабельность фенотипических свойств и генетических характеристик возбудителя сибирской язвы влияет на способность спор к герминации и дальнейшему размножению внутри клеток макрофагов, формированию капсулы, высвобождению из инфицированной клетки в культуральную среду и спорообразованию в данных условиях.

Цель исследования – выявление индивидуальных особенностей биологических свойств штаммов *Bacillus anthracis* в условиях, имитирующих *in vivo*.

Материалы и методы. Использовали штаммы *B. anthracis*: 1(CO), 81/1, 1284, 14/41, 12/16, 12/16 4П (вирулентные диплоидные), 1(CO)-S (образующий капсулу на воздухе) и его акапсульный вариант 1(CO)-S Cap⁻, вакцинный акапсульный СТИ и бесплазмидный 228/4. Культуру макрофагоподобных клеток линии J774A.1 с конфлюэнтностью 70–90% инфицировали взвесью спор в среде DMEM с 10% FBS, исходя из расчета 50 спор на 1 клетку культуры макрофагов. После 1,5 ч инкубации при 5% CO₂ и 37°C отмывали от нефагоцитированных спор и продолжали инкубирование. Через 2, 4 и 24 ч препараты адгезированной культуры макрофагов фиксировали, окрашивали по Романовскому и просматривали под иммерсией.

После 2 ч инкубации фагоцитированные споры большинства штаммов прорастали, образуя бациллы, после инкубации в течение 4 ч бациллы начинали размножаться, образуя короткие цепочки, в основном из двух клеток.

После инкубации в течение 24 ч наблюдались более выраженные различия в картине развития культуры различных штаммов *B. anthracis*. Штаммы 1(CO), 81/1, 1284 формировали большое количество одиночных капсульных бацилл. У штамма *B. anthracis* 1(CO)-S наблюдали в основном внутриклеточное расположение как спор, так и вегетативных капсульных бацилл. При использовании *B. anthracis* 14/41 присутствовало очень большое количество вегетативной культуры, расположенной внутриклеточно или выходящей за контуры макрофагов, но связанной с ними. Штамм 12/16 4П был представлен относительно небольшим количеством вегетативных бацилл вне клеток, в то время как непроросшие споры располагались внутри макрофагов. Штаммы *B. anthracis* 228/4, СТИ и 140 ПСар демонстрировали способность формировать споры в условиях, считающихся неблагоприятными для спорообразования, при наличии сыворотки крови в культуральной среде и повышенном содержании CO₂ в атмосфере инкубирования.

Таким образом, микроскопия окрашенных препаратов клеточных культур инфицированных спорами штаммов *B. anthracis* с различными свойствами позволяет выявить особенности таких процессов, как скорость герминации спор внутри макрофагов и интенсивность размножения бацилл и их расположение по отношению к макрофагам, а также способность формировать капсулу и споры в условиях, имитирующих внутреннюю среду теплокровных животных.

Оценка физико-химических и иммунобиологических показателей (аналитическая чувствительность и специфичность) эритроцитарного антигенного туляремийного диагностикума лиофилизированного

Кошкидько А.Г., Жарникова И.В., Жданова Е.В., Русанова Д.В., Гнусарева О.А.

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

Совершенствование биотехнологии производства стабильных, высокочувствительных, специфичных и доступных диагностических препаратов, основанных на использовании отечественных нетоксичных реактивов, является актуальным направлением в настоящее время.

Цель работы – оценка физико-химических показателей, аналитической чувствительности и специфичности лиофилизированной формы диагностикума эритроцитарного туляремийного антигенного.

В работе использовали 3 экспериментальные серии лиофилизированного препарата, качество которого оценивали по следующим основным показателям: внешний вид, растворимость, потеря в массе при высушивании, аналитическая чувствительность и аналитическая специфичность.

Внешний вид и растворимость оценивали визуально при естественном освещении. Содержимое ампулы полностью растворялось в течение 1 мин в 1,0 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида.

Контроль потери в массе при высушивании, которая составила 2,6–2,8%, проводили весовым методом по ОФС.1.2.1.0010.15.

Для определения аналитической чувствительности и специфичности в реакции непрямой гемагглютинации (РНГА) макро- и микрометодами использовали коммерческие сыворотки, сыворотки вакцинированных и здоровых людей.

Исследуемые сыворотки инактивировали прогреванием при температуре 56 ± 1°C в течение 30 мин и адсорбировали 50% эритроцитами барана из расчета 0,1 мл эритроцитов на 1,0 мл исследуемого материала для удаления гетерологичных гемагглютинирующих антител сыворотки. Надосадочную жидкость исследовали. В качестве разводящей жидкости использовали 0,9%-й раствор натрия хлорида.

В качестве контроля лиофилизированного диагностикума использовали диагностикум эритроцитарный антигенный туляремийный жидкий (ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора).

Учет результатов осуществляли визуально – по степени агглютинации эритроцитов через $2,5 \pm 0,5$ ч (предварительный для макрометода и окончательный для микрометода) и 21 ± 3 ч (окончательный) для макрометода.

Установлено, что лиофилизированный диагностикум обладает достаточной аналитической чувствительностью, которая составила 1:20000 (макрометод) и 1:10000 (микрометод) с коммерческой туляремийной сывороткой, и специфичностью (отсутствуют перекрестные реакции с гетерологичными коммерческими сыворотками: бруцеллезной, сальмонеллезной и холерной), что полностью удовлетворяет нормативным документам. В 10 образцах сывороток вакцинированных людей были получены положительные результаты (1:320–1:1280), в 6 сыворотках здоровых людей – отрицательный результат. Результаты РНГА лиофилизированного и жидкого диагностикумов полностью совпадали.

Таким образом, при испытании лиофилизированного диагностикума на коммерческих сыворотках и сыворотках здоровых и вакцинированных людей получены результаты, идентичные жидкому препарату, что говорит о сохранении физико-химических и иммунобиологических показателей.

Механизм формирования устойчивости к бактериофагам при фаготерапии клебсиеллезного сепсиса у мышей

Красильникова В.М., Веревкин В.В., Денисенко Е.А., Борзилов А.И., Воложанцев Н.В.

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

Терапевтическое использование бактериофагов вызывает повышенный интерес при лечении трудноизлечимых бактериальных инфекций. Одним из ограничений фаготерапии может быть появление в процессе лечения устойчивых к фагам мутантов. Фагорезистентность является естественным механизмом коэволюции бактерий и фагов и априори может возникнуть при фаготерапии. Однако, несмотря на достаточно высокую частоту образования фагорезистентных мутантов *in vitro*, в научной литературе имеется ограниченное количество сообщений о развитии фагорезистентности в экспериментах *in vivo*. Некоторые результаты исследований показывают, что появление мутантов, устойчивых к бактериофагам, не влияет на эффективность терапии, поскольку фагорезистентные бактерии элиминируются из организма за счет механизмов врожденного иммунитета.

Целью нашего исследования является изучение природы фагоустойчивых мутантов *Klebsiella pneumoniae*, образующихся при фаготерапии *K. pneumoniae*-инфекций у мышей. В работе использовали бактериофаги разных семейств, лизирующие *K. pneumoniae* капсульного типа K2. Мутантов, устойчивых к бактериофагам, отбирали при анализе культур *K. pneumoniae*, выделенных из паренхиматозных органов выживших после курса фаготерапии мышей, инфицированных гипермукоидным высоковирулентным штаммом *K. pneumoniae* KPi1627 капсульного типа K2.

При лечении бактериофагом KpV74 клебсиеллезного сепсиса у мышей из организма животных были выделены три мутанта, устойчивые к фагу KpV74. Один из них, KPi1627A52, устойчивый не только к фагу KpV74, но и к трем другим K2-специфичным фагам из нашей коллекции, был детально изучен. В отличие от исходного штамма KPi1627 этот мутант оказался чувствительным к бактерицидному действию компонента сыворотки крови, утратил гипермукоидный фенотип и вирулентность для мышей ($LD_{50} > 10^6$ КОЕ против 20 КОЕ для KPi1627). В результате секвенирования и анализа кластера генов синтеза полисахаридов в мутантном штамме KPi1627A52 выявлена делеция одного нуклеотида со сдвигом рамки считывания в пределах гена *wzx*. Продукт этого гена, *Wzx*-флиппаза, является интегральным белком внутренней мембраны и обеспечивает транслокацию UndPP-связанных олигосахаридов из цитоплазмы в периплазматическое пространство бактериальной клетки.

Таким образом, приведенные исследования показали, что один из механизмов формирования фагоустойчивых мутантов, образующихся в ходе фаготерапии *K. pneumoniae*-инфекции, связан с нарушением формирования полисахаридной капсулы, являющейся одним из основных факторов вирулентности *K. pneumoniae* и первичным рецептором для капсулоспецифичных фагов. Образование таких мутантов, утративших вирулентные свойства, не оказывает существенного влияния на эффективность фаготерапии.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Уникальный резистом *Klebsiella pneumoniae*, включающий в себя гены трех карбапенемаз OXA-48, NDM-1 и KPC-2, цефалоспорины STX-M-15 и интегроны класса 1

Кузина Е.С., Кисличкина А.А., Скрыбин Ю.П., Сизова А.А., Новикова Т.С., Асташкин Е.И., Фурсова Н.К.

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

Лечение нозокомиальных инфекций, вызванных *Klebsiella pneumoniae*, в современных условиях осложняется появлением устойчивости патогенов данного вида к антимикробным препаратам, особенно к карбапенемам, связанной с продукцией карбапенемаз. Цель данной работы – изучение уникальных резистомов четырех клинических изолятов *K. pneumoniae* – 11PKP/19a, 3TKP/19g, 20PKp/19c и 12PKP/19c, выделенных от четырех пациентов нейрореанимационного отделения г. Москвы в 2019 г. из трахеальных и ректальных мазков. Данные изоляты характеризовались фенотипами множественной лекарственной устойчивости: были устойчивы к цефтазидиму (>256 мг/л), меропенему (>256 мг/л), тигециклину (16 мг/л), гентамицину (>256 мг/л), ципрофлоксацину (256 мг/л) и хлорамфениколу (>256 мг/л).

Анализ резистомов изучаемых изолятов проведен на основании результатов нанопорового секвенирования на платформе MinION и гибридной сборки геномов *de novo*. Все

изоляты были отнесены к сиквенс-типу ST39, имеющему аллельный профиль генов домашнего хозяйства *gapA2*, *infB1*, *mdh2*, *pgi4*, *phoE9*, *rpoB1*, *tonB14*, и к капсульному типу K23, характеризующемуся аллелем гена белка наружной мембраны *wzi83*. В геномах идентифицированы от 6 до 8 генов β-лактамаз (*bla_{SHV-40}*, *bla_{TEM-1B}*, *bla_{CTX-M-15}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-10}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{KPC-2}* и *bla_{NDM-1}*), от 3 до 7 генов устойчивости к аминогликозидам (*aac(6')*, *aac(3)-IIa*, *ant(3'')-Ia*, *ant(2'')-Ia*, *aadA1*, *aadA2* и *armA*), по одному гену – к фосфомицину (*fosA*), от 2 до 3 генов – к фениколам (*cmlA1*, *catA1* и *catB3*), по три гена – к хинолонам (*qnrS1*, *oqxA* и *oqxB*), по два гена – к сульфаниламидам (*sul1* и *dfrA12*) и от 1 до 2 генов – к макролидам (*mphE* и *msrE*). В каждом изоляте идентифицированы по 5–6 плазмид, несущих гены β-лактамаз и гены резистентности к тяжелым металлам, в трех вариантах: (1) четыре высокомолекулярные плазмиды групп несовместимости IncHI1B (*bla_{OXA-48}* + *bla_{OXA-1}* + *bla_{CTX-M-15}*), IncC (*bla_{NDM-1}* + *bla_{OXA-10}* + *bla_{OXA-1}*), IncFIB(pQil) (*bla_{KPC-2}*) и IncFIB(K)/IncFII(K) (*arsABCDR* + *pcoABCDRS* + *silABCEFGPRS*) и две низкомолекулярные плазмиды pColRNAI и pUN1 – в двух изолятах *K. pneumoniae* 11PKP/19a и 3TKP/19g; (2) четыре высокомолекулярные плазмиды групп несовместимости IncHI1B (*bla_{OXA-48}* + *bla_{OXA-1}* + *bla_{CTX-M-15}*), IncC (*bla_{CTX-M-55}*), IncFIB(pQil) (*bla_{KPC-2}*) и IncFIB(K)/IncFII(K) (*arsABCDR* + *pcoABCDRS* + *silABCEFGPRS*) и две низкомолекулярные плазмиды pColRNAI и pUN1 – в изоляте *K. pneumoniae* 20PKP/19c; (3) три высокомолекулярные плазмиды групп несовместимости IncHI1B (*bla_{OXA-48}* + *bla_{OXA-1}* + *bla_{CTX-M-15}*), IncC (*bla_{NDM-1}* + *bla_{OXA-10}* + *bla_{OXA-1}*) и IncFIB(pQil) (*bla_{KPC-2}*) и две низкомолекулярные плазмиды pColRNAI и pUN1 – в изоляте *K. pneumoniae* 12PKP/19c. Кроме того, изучаемые изоляты *K. pneumoniae* несли интегроны класса 1 в составе плазмид групп несовместимости IncHI1B (*aadB-aadA1*) и IncC (*arr3-cmlA5-bla_{OXA-10}-aadA1* и *dfrA12-orfA-aadA*).

Стабильность резистомов изучаемых изолятов продемонстрирована в эксперименте по наследованию плазмид при культивировании как в условиях селективного давления карбапенемов (меропенем 10 мг/л), так и в отсутствии такового (3 пассажа).

Описание нового уникального резистома, включающего в себя гены трех карбапенемаз, цефалоспорины и интегронов класса 1, указывает на продолжение эволюции мультирезистентных возбудителей госпитальных инфекций, что представляет интерес для клинической микробиологии и эпидемиологии.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Разработка латексного бруцеллезного антигенного диагностикума

Курносина М.М., Жарникова И.В., Кошкидько А.Г., Русанова Д.В.

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

При лечении бруцеллеза первоочередное значение имеет своевременная диагностика. Качество лабораторной диаг-

ностики зависит не только от точности результатов исследования, но и от своевременности выполнения исследования и доступности результатов.

Широко известны достоинства тестов, в основе которых лежит реакция агглютинации: отсутствие необходимости в дорогостоящем аппаратном оснащении, высокая скорость проведения анализов, возможность использования в полевых условиях. Именно поэтому актуальной задачей является разработка и усовершенствование экспресс-тестов.

В основном в суспензионных диагностических тест-системах в качестве носителей лигандов используют эритроциты, но процесс производства на основе биоматериалов сопряжен с рядом трудностей. Эритроциты получают из крови млекопитающих и птиц, содержание которых является трудоемким и дорогостоящим. Также эритроциты биодegradуемы, что обуславливает их нестабильность при длительном хранении. В связи с этим при создании диагностических тест-систем является актуальной замена эритроцитов на синтетические полимерные микросферы.

Цель исследования – разработка латексного диагностикума для выявления антител против возбудителя бруцеллеза.

В работе апробирована полиакролеиновая латексная основа (акролар К) с диаметром частиц $1,2 \pm 0,1$ мкм (ИБХ РАН).

В качестве лиганда применяли обеззараженную взвесь *Brucella abortus* 19ВА, проверенную на общую и специфическую стерильность и разведенную до концентрации $1,7 \times 10^9$ м.к./мл. Антиген разрушали на гомогенизаторе ультразвуковом (Sonicator Q125, Qsonica LLC) в течение 2 мин при частоте 20 Гц. Полимерную суспензию центрифугировали, доводили 0,9%-м раствором натрия хлорида до концентрации 2% по сухому остатку полимера и смешивали в соотношении 1:3 с полученным лигандом; инкубировали при температуре 45°C в течение 3 ч; дважды отмывали от несвязавшегося антигена фосфатно-солевым буфером (рН 9,5) центрифугированием при 5000 об./мин в течение 10 мин; осадок ресуспендировали в 0,1%-м растворе желатина до 0,2%-й концентрации и стабилизировали формалином до 0,1%.

Реакцию агглютинации латекса (РАЛ) ставили в круглодонных U-образных микропланшетах. Для контроля чувствительности РАЛ использовали коммерческую сыворотку диагностическую поливалентную бруцеллезную сухую для РА. Чувствительность составила 1:6400–1:12800.

Для контроля специфичности использовали коммерческие сыворотки: диагностическую холерную О1 адсорбированную сухую для РА, диагностическую тулярийную сухую для РА и диагностическую сальмонеллезную адсорбированную О-поливалентную для РА. Перекрестная реакция с вышеперечисленными сыворотками отсутствовала.

Таким образом, разработаны экспериментальные серии латексного диагностикума для выявления антител против возбудителя бруцеллеза с установленными значениями физико-химических и биологических параметров, воспроизводимых от серии к серии.

Коммуникации в патогенном микробиоценозе

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Байракова А.Л., Давыдкин В.Ю., Комбарова С.Ю.

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Борьба с появлением и распространением в организме патогенного микробиоценоза (ПМБ), особенно в условиях антибиотикорезистентности, является актуальной проблемой.

Цель – систематизировать собственные данные и представления о коммуникациях в ПМБ (стафилококковых, грибковых, смешанных).

Результаты. В основе представлений лежат полученные нами результаты и аргументированные данные о ПМБ (свойства, положения, гипотезы и стратегии):

- разнообразие сигналов в ПМБ во время стресса представлено тремя категориями: макросигналами – визуальными паттернами всей территории ПМБ; микросигналами – составляющими территорию ПМБ микропаттернами с характерными для них процессами; молекулярными сигналами физического, химического и биохимического окружения (в том числе пробиотическими лектинами с альтернативным антибиотикам действием);
- сигналы различаются как центростремительные-центробежные; «лево-право», по периметрам территории ПМБ; «верх-низ» в мультислойе и порах гелевой гидрофильной среды;
- прерывисто посеянный ПМБ сохраняет способность обмена сигналами частей;
- высокая метаболическая активность в периферических областях ПМБ с границей – максимально чувствительной к сигналам зоной;
- присутствие внутренних для ПМБ мультислойевых областей, защищаемых с использованием перестройки, увеличения, наращивания и/или консервации биомассы;
- выраженность в ПМБ градиентов возрастания числа и размера слоев, резистентных к противомикробным препаратам;
- наличие скелетной основы ПМБ;
- амплификация картины «Лакуна-Вал» в ПМБ (микрогриба);
- уязвимость «островкового» статуса ПМБ (микрогриба) с образованием возможных расширенных лакун, доступных антибиотикам;
- использование механизма «Лакуна-Вал» в управлении «каннибализмом», автолизом и апоптозом в перестроечном ПМБ;
- быстрое действие автоматических ответов в периферических областях ПМБ, замедленность принятия популяциями клеток результирующих ответов во внутренних областях ПМБ (микрогриба);
- моноцентричность как принцип формирования, поддержания единства и регенерации ПМБ микрогриба (синхронизированное зарастание пустых территорий; устранение лакун разрастанием нижних слоев валов);

- сохранение коммуникаций в островково-лакунном ПМБ;
- стрессовые реакции: физические (электромагнитные, температурные, другие), (био)химические в окружении ПМБ – как противопоставленные покою и консервации;
- усиление резистентности смешанного ПМБ;
- уязвимость и/или резистентность ПМБ, частично связанные с неоднородностью ландшафта.

Приводятся описания ПМБ в присутствии распознающих и связывающих гликоконъюгаты про/постбиотических метаболитов бифидобактерий и лактобацилл.

Вывод. Представления о ПМБ и сигналинге в нем перспективны для диагностико-прогностического мониторинга статуса ПМБ, скрининга про/пре/пост/сим/синбиотических антимикробных и противовирусных препаратов.

Прогнозирование потенциала активностей белковых гормонов с использованием гликоконъюгатов

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Комбарова С.Ю.

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Белковые гормоны (БГ) проявляют базисные, инициирующие надстроечные активности, в том числе через распознавание углеводов. Известно терапевтическое действие БГ на примерах эритропоэтинов (ЭПО) в связи с COVID-19, тканевой гипоксией, ангиогенезом и опухолями.

Цель. На основании собственных результатов предложить прогностическую оценку активностей БГ с использованием гликоконъюгатов (ГК) (www.lectinity.com).

Материалы и методы. С помощью изоэлектрофокусирования в градиенте pH 2–8 в пластине полиакриламидного геля, электроблотинга на гидрофобную мембрану, обработки биотинилированными полимерными ГК (www.lectinity.com) и моноклональными антителами (МАТ) к ЭПО с последующим проявлением конъюгатом пероксидазы в присутствии субстрата и регистрацией хемилюминесценции как живого изображения в BioChemi System (UVP) исследовали формы БГ (эритростима, эпокрин, др.).

Результаты. Характеристика распознающих и связывающих ГК форм БГ. Выявлены до 17 мажорных и минорных форм ЭПО со сродством к ГК, асимметрично и мозаично распределенных в группах. Проявлялись новые формы. Найдены ряды ГК, взаимодополняемо характеризующих типы ЭПО по числу форм, распределению групп по заряду и уровням асимметрии паттернов). В случае эритростима число форм было минимальным на фоне менее выраженных групп и подгрупп полос и их асимметричности по сравнению с формами ЭПО из эукариотических клеток. Каждая форма ЭПО характеризовалась уникально варьирующим сродством к адекватному набору ГК. ГК усиливали паттерны МАТ-реагирующих форм ЭПО, их асимметричное расположение, связывались с различающимися участками ЭПО. Сильнокислые формы ЭПО характеризовались ранжированным сродством к ГК в паттернах: группы форм LacNAc>> GalNAc; LacNAc включала также α -L-Fuc или α -Man (синергизм в распределении обеих групп);

GalNAc> Gal. В менее кислой области выявлялись комплексные и агрегационные формы ЭПО с варьированием преимущественно групп форм α -Man и Gal; выявлялись редкие α -Neu5NAc-связывающие формы.

Заключение. Индикаторные наборы ГК характеризуют потенциал интегрированных в интерактоме варьирующих активностей БГ.

Классификации постковидных синдромов пациентов 65+

Лахтин В.М., Лахтин М.В., Мелихова А.В., Комбарова С.Ю.

ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Цель. Предложить подходы к классификации постковидных синдромов (ПКС) на основании анализа ПКС пациентов 65+.

Материалы и методы. Наблюдение изменений, патологий и болезней в отношении сенсорных контактирующих с внешней средой макросистем (кожи, глаз, легких и слухового аппарата) у пациентов с ноября 2019 г. по июнь 2022 г., в том числе до и после вакцинации (декабрь 2019 г. – январь 2020 г.) и ревакцинации (ноябрь 2021 г.) от COVID-19. Использование собственных публикаций в 2020–2022 гг.

Результаты. I. В результате обобщения динамики патологий в зависимости от волн пандемии выявлены:

- динамика развития имеющихся патологий (варьирующая по амплитуде, в том числе повторяющаяся), соответствующая волнам;
- модулирующее влияние волн: инициирующее и усиливающее патологии, частично устраняющее;
- затухающее влияние волн (от 1-й с декабря 2019 г. к 5-й волне в 2022 г.) по амплитуде и снижению широты проявления патологий;
- импульсивное с кратковременным периодическим проявлением гиперчувствительности (кожи, глаз, слухового аппарата) в связи с волнами;
- развитие ранних множественных веерных (дивергентных) патологических изменений;
- прогресс вширь (мультитропность и мультисайтовость действия) и вглубь (направленные изменения патологии каждого типа);
- развитие одновременных нарушений макросистем («залпом» нескольких макросистем в периоды волн);
- прогресс одних, консервация достигнутого у других макросистем;
- проявление или появление добавочных, но преемственных патологий;
- ускорение процессов старения (выпадение волос в связи с COVID-19, мозаика асимметричных темных плоских пятен до 4 мм в диаметре и мелкая бугристость на щеках, серия бесцветных мелких пятен витилиго на коже вдоль всей ранее сломанной руки).

Наблюдаются редкие (требуется специально ориентированный мониторинг) случаи устраняющего патологии или

направленного против них действия (например, «самоустранение» многолетней паховой подкожной сосудистого мультигранника небольшой атеромы неправильной формы по ускоренному [месяц] мультиэтапному механизму).

II. Классификации ПКС характеризуются широтой подходов и включают персонифицированные (уникальные сетевые и каскадные) и групповые (с общими признаками проявления групп патологий), моно/мультиканевые и органические (фено- и генотипические; с переходом единообразия поражения эндотелия сосудов в многообразие на надстроечных уровнях), модулирующие и импульсивные, с доминированием типа патологии, ранжированные патологии по принципу доминирования, ранжированные патологии по времени появления, комбинированные.

Выводы. Результаты, закономерности в отношении ПКС, в том числе в случаях бессимптомного протекания болезни COVID-19, а также подходы к классификации ПКС помогут при упорядочивании клинических наблюдений в составе оперативных баз данных. Приведенный материал имеет диагностическое (ранние, преемственные патологии) и прогностическое (выбор углубленной диспансеризации, тактики лечения) значение.

Генетическое разнообразие нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1, изолированных из водных экосистем Республики Калмыкия в 1999–2021 годах

Левченко Д.А., Водопьянов А.С., Ренгач М.В., Горох А.М.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Нетоксигенные штаммы *Vibrio cholerae* El Tor, лишённые основных факторов патогенности (кластера коровой области СТХф и острова патогенности VPI-1), характеризуются гетерогенностью генетических свойств. Отмечено появление в окружающей среде вибрионов, не имеющих гена *ctxAB*, но содержащих ген токсин-корегулируемых пилей адгезии *tcpA*. Нетоксигенные холерные вибрионы O1 широко распространены и ежегодно обнаруживаются в поверхностных водоемах на неэндемичных территориях России. Территория Республики Калмыкия условно занимает первое место по количеству изолированных культур из водных экосистем.

Целью настоящего исследования явилось изучение генетического разнообразия нетоксигенных штаммов *V. cholerae* O1, выделенных из воды поверхностных водоемов на территории Республики Калмыкия (1999–2021 гг.).

Отбор нетоксигенных изолятов холерных вибрионов O1 осуществляли с использованием популяционной БД ГИС «Холера 1989–2014», содержащей информацию о генотипических свойствах культур. Кластерный анализ распределения ПЦР-генотипов отобранных штаммов проводили методом попарного среднего.

С 1999 г. по 2021 г. из поверхностных водоемов Республики Калмыкия изолирован 221 нетоксигенный штамм *V. cholerae* O1. По результатам кластерного анализа выявлено восемь

ПЦР-кластеров (А–Н), представленных 53 генотипами (А1–А9, В1–В3, С1–С5, D1–D10, E1–E5, F1–F10, G1–G7, H1–H4).

Установлено, что культуры холерных вибрионов O1, содержащие остров патогенности VPI-1, распределились на две группы. Первая группа изолятов отнесена к четырем кластерам – А, С, Е и Н, которые представлены как культурами, содержащими ген *tcpA*, так и не содержащими такового. Вторая группа вибрионов образовала отдельную ветвь (кластер G) и состояла исключительно из штаммов, содержащих ген *tcpA+*. Культуры *V. cholerae* O1, отнесенные к кластеру G, по всей видимости, имеют заносное происхождение и образуют отдельную генетическую группу штаммов, отличающуюся от *tcpA*-изолятов.

Определенный интерес вызвали 17 культур холерных вибрионов O1 серогруппы, представленных генотипом K3 (2013 г.), и восемь изолятов генотипа G10 (2017 г.), изолированных из воды пр. Заячий. Установлено выделение 10 штаммов *V. cholerae* O1 генотипа G2 (2016 г.) из пр. Колонский и 7 изолятов холерных вибрионов O1 (2003 г.) генотипа J3 из р. Элистинка. Данный факт свидетельствует о длительной циркуляции (более 2 мес.) отдельных клональных комплексов холерных вибрионов O1 в поверхностных водоемах Республики Калмыкия.

Отмечено повторное выделение культур *V. cholerae* O1 одного и того же генотипа на протяжении ряда лет. Так, из воды пр. Заячий в 2012, 2014, 2017–2019 гг. выделялись единичные культуры, отнесенные к генотипу E3. Единичные изоляты указанного генотипа также изолированы из р. Элистинка с промежутком в 6 лет (2012 и 2018 гг.).

Выявлена приуроченность ряда генотипов к определенным водоемам. Например, штаммы, отнесенные к генотипу A9 (2011, 2015, 2022 гг.) и генотипу D3 (2011, 2012 гг.), регистрировались только в воде р. Элистинка. Вибрионы генотипа E7 (2018, 2019 гг.) обнаружены только в пр. Колонский.

Вместе с тем наблюдались однократные случаи выделения вибрионов различных генотипов в водоемах Республики Калмыкия. Штаммы с генотипами A7, F4 (пр. с. Вознесенка); A1, A2, C2–C5, D4, D9, G2, G5, G6 (р. Элистинка); D10 (пр. Сайгаченок); A6, D1, D2, D5, F3, H2, H3 (пр. Заячий); B3, F1, F7, G1 (пр. Колонский) выделены однократно в разные годы, что указывает на отсутствие благоприятных условий во внешней среде для циркуляции вибрионов данных генотипов.

Таким образом, установлено, что метод ПЦР-типирования позволяет проводить сравнительный анализ штаммов холерных вибрионов, выделяемых из водных экосистем одного субъекта на протяжении ряда лет.

Мониторинг циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций на территории Республики Армения в 2022 году

Лисицкая Я.В.¹, Гнусарева О.А.¹, Шапошникова Л.И.¹, Лазаренко Е.В.¹, Волюнкина А.С.¹, Оганян Г.С.², Сакоян Г.Г.², Маркосян Л.Р.², Асатрян К.Г.², Кулахсзян В.В.², Манучарян А.Ф.²

¹ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация; ²ГНКО «Национальный центр по контролю и профилактике заболеваний» Министерства здравоохранения Республики Армения, Ереван, Республика Армения

Разнообразие природно-климатических условий Республики Армения, интенсивное хозяйственное освоение новых территорий, значительные миграционные процессы населения, активное развитие туризма обуславливают актуальность проблемы циркуляции возбудителей природно-очаговых инфекций (ПОИ) на территории страны.

Цель работы – исследование полевого и клинического материала, собранного на территории Республики Армения на наличие маркеров возбудителей ПОИ.

Пробы полевого материала, в т.ч. 305 пулов иксодовых клещей (*Dermacentor marginatus*, *D. niveus*, *D. reticulatus*, *Haemaphysalis concinna*, *H. erinacei taurica*, *H. punctata*, *Hyalomma marginatum*, *Ixodes ricinus*, *Rhipicephalus annulatus*, *R. bursa*, *R. sanguineus*), собранных с крупного рогатого скота (КРС) и на флаг, 12 пулов гамазовых клещей, 3 пула блох (*Ctenophthalmus teres*, *Xenopsylla conformis*); 1 пул кровососок, 6 пулов слепней, 46 проб селезенки грызунов (*Microtus arvalis*, *M. socialis*, *Meriones persicus*, *Mus musculus*, *Sylvaeus uralensis*) добыты при проведении эпизоотологического обследования территории провинций Гегаркуник, Лори, Котайк, Ширак, Сюник, Тавуш Республики Армения в 2022 г. Пробы клинического материала – 93 сыворотки крови от лихорадящих больных и здоровых людей, занятых в сельском хозяйстве, из различных провинций Республики Армения (2019–2022 гг.) – получены из ГНКО «Национальный центр по контролю и профилактике заболеваний» Министерства здравоохранения Республики Армения.

В результате лабораторного исследования методом полимеразной цепной реакции в образцах полевого материала выявлена РНК вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки (ККГЛ) (13 пулов – 4,3% *H. marginatum*, собранных с КРС, с. Брнакот, район Хацаван, провинция Сюник), ДНК *Coxiella burnetii* (2 пула – 0,7% *H. marginatum*, собранных с КРС, с. Брнакот, район Хацаван, провинция Сюник), 16S-РНК *Borrelia burgdorferi* sl. (2 пула – 11% *I. ricinus*, провинция Тауш), ДНК *Anaplasma phagocytophilum* (15 пулов – 83,3% *I. ricinus*, провинция Тауш), ДНК риккетсий группы клещевых пятнистых лихорадок (89 пулов – 29,2%, в т.ч. *H. marginatum* – 66, *D. reticulatus* – 9, *D. marginatus* – 6, *D. niveus* – 4, *H. punctata* – 2, *I. ricinus* – 2, провинции Гегаркуник, Лори, Котайк, Ширак, Сюник, Тавуш). ДНК *Francisella tularensis*, *Ehrlichia chaffeensis* / *Ehrlichia muris*, РНК вируса клещевого энцефалита в образцах полевого материала не выявлены.

При проведении лабораторного исследования сывороток крови людей методом иммуноферментного анализа в

1 пробе выявлены специфические антитела класса G к вирусу ККГЛ (большая с лихорадкой неясной этиологии, провинция Гегаркуник, 2019 г.).

Таким образом, на территории Республики Армения установлена циркуляция возбудителей ККГЛ, лихорадки Ку, иксодового клещевого боррелиоза, гранулоцитарного анаплазмоза человека, риккетсиозов, что свидетельствует об эпизоотологической активности природных очагов этих инфекций в стране. Необходимо проведение генетического типирования выявленных изолятов НК возбудителей ПОИ для определения их принадлежности к генетическим линиям, а также идентификации видов риккетсий.

Создание базы данных микромицетов Восточной Палеарктики из коллекции «ГКПМ-Оболенск», антагонистически активных в отношении возбудителя сибирской язвы

Лиховидов В.Е., Маринин Л.И., Шишкова Н.А., Дунайцев И.А., Говорунов И.Г.

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

Наблюдаемый в мире рост устойчивости различных патогенов, в том числе особо опасных инфекций, к известным антимикробным соединениям вызывает необходимость поиска новых, более эффективных веществ для использования в борьбе с патогенами. Среди природных продуцентов такого рода соединений безусловный интерес представляет группа микромицетов, для которых известно проявление выраженной антимикробной активности.

Разработана база данных (БД), в которой представлена характеристика коллекционных штаммов микромицетов, обладающих антагонистической активностью в отношении возбудителя сибирской язвы *Bacillus anthracis*.

Достоинством БД является информация о поступивших в коллекцию уникальных штаммах, полученных в результате целенаправленного поиска и выделения природных изолятов микромицетов в различных регионах Восточной Палеарктики. Важной характеристикой представленной БД является оценка антагонистической активности штаммов микромицетов, выделенных из микологических субстанций и лабораторных образцов, на тест-объекте *B. anthracis* (штамм СТИ-1). Результаты данного тестирования получены впервые.

На текущий момент в БД содержатся следующие основные данные о 77 активных штаммах микромицетов:

- общая информация о штамме (название штамма, номер регистрации в отечественных и зарубежных коллекциях и интернет-ресурсах);
- информация о происхождении штамма (содержит данные о дате, месте и источнике выделения конкретного штамма);
- данные об активности нативного штамма в отношении *B. anthracis* (штамм СТИ-1) по величине диаметра зоны подавления тест-культуры на 48 ч;

- данные об активности микологических субстанций (культуральная жидкость) на 48 ч;

- данные об активности лабораторных образцов препаратов, полученных на основе наиболее активных штаммов микромицетов, на 48 ч;

- библиографические ссылки на публикации, содержащие данные исследований по поиску и характеристике внесенных в базу микромицетов.

БД является биотехнологической основой для разработки новых биопрепаратов с использованием перспективных штаммов микромицетов и предназначенных для борьбы с возбудителем сибирской язвы в природных очагах его распространения.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Применение многофакторного подхода в ранжировании административных территорий Ростовской области по степени риска осложнения ситуации по сибирской язве

Логвин Ф.В.¹, Герасименко Д.К.², Рязанова А.Г.², Мезенцев В.М.², Чмеренко Д.К.²

¹ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

В настоящее время сибирская язва продолжает представлять эпидемиологическую опасность при наличии рисков активизации сибиреязвенных почвенных очагов и осложнения ситуации по инфекции. В связи с этим актуально ранжирование территорий страны с оценкой риска посредством анализа эпизоотолого-эпидемиологических показателей, факторов среды и др. Ростовская область, имеющая преобладающее число стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов (СНП) среди субъектов Южного, Северо-Кавказского федеральных округов, – исторически один из наиболее неблагополучных по инфекции регионов юга России, что определяет необходимость выявления территорий повышенного потенциального риска осложнения ситуации по сибирской язве.

Цель работы – ранжирование административных территорий Ростовской области по степени риска осложнения ситуации по сибирской язве на основе многофакторного анализа с применением геоинформационных систем (ГИС).

Рассмотрены актуализированные данные Управления Роспотребнадзора по Ростовской области. Метод ранжирования основан на присвоении рангов (порядковых номеров) для величин факторов R_{1-8} , характеризующих наличие СНП и их эпизоотолого-эпидемиологическую активность в районах / городских округах (ГО) субъекта в ходе всего срока наблюдения: количество, число лет активности и кратность активности СНП, число активных СНП и число лет активности за последние 10 лет, плотность, удельный вес СНП, индекс эпизоотичности. Рейтинги $\sum R_{1-8}$ были рассчитаны в ГИС-программе ArcGIS 10.

Потенциальные риски по инфекции отмечены на преобладающей части субъекта. За период 1877–2014 гг. в 43 районах актуализировано 692 СНП (всего 1497 вспышек). Пик активности СНП – 1877–1917 гг. (46% вспышек), 1949–1969 гг. (40%), а последняя вспышка была в 2014 г. С учетом полученных рейтингов ΣR_{1-8} районы/ГО распределены на четыре группы риска следующим образом. Первая группа (низкая степень риска) – Багаевский, Егорлыкский, Орловский, Советский районы, ГО Батайск, ГО Ростов-на-Дону (всего 18 СНП; 39 вспышек). Вторая (средняя степень) – Аксайский, Дубовский, Заветинский, Кагальницкий, Красносулинский, Милютинский, Октябрьский, Пролетарский, Ремонтненский, Тацинский, Усть-Донецкий, Цимлянский, Чертковский районы (136 СНП; 281 вспышек). Третья (высокая степень) – Белокалитвинский, Боковский, Верхнедонской, Веселовский, Волгодонской, Зерноградский, Зимовниковский, Кашарский, Константиновский, Куйбышевский, Миллеровский, Мясниковский, Песчанокопский, Сальский, Целинский районы (236 СНП; 503 вспышек). Четвертая (очень высокая степень) – Азовский, Каменский, Мартыновский, Матвеево-Курганский, Морозовский, Неклиновский, Обливский, Родионово-Несветайский, Семикаракорский, Тарасовский, Шолоховский районы (302 СНП; 674 вспышек). Проведенное многофакторное ранжирование позволило изучить особенности проявления сибирской язвы в регионе, что может обеспечить совершенствование надзора за инфекцией с научно обоснованным планированием профилактических мероприятий для территорий с разной степенью риска.

Антитела к коронавирусу SARS-CoV-2 в сыворотках крови доноров и препаратах иммуноглобулинов

Лютюв А.Г., Алешкин В.А., Новикова Л.И., Бочкарева С.С., Кострова О.М.

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

Новая коронавирусная инфекция COVID-19, эпидемия которой началась в конце 2019 г., не спешит сдавать свои позиции. Этому способствует как высокая изменчивость самого вируса SARS-CoV-2, связанная с появлением новых штаммов, так и многочисленные мутации, наблюдаемые внутри уже имеющихся штаммов. В связи с этим подбор адекватных способов и средств терапии остается актуальной проблемой.

Одним из перспективных подходов к лечению является пассивная иммунизация с помощью препаратов антител (АТ). Ранее нами высказывалось мнение, что для терапии коронавирусной инфекции будет целесообразно использование неспецифических препаратов иммуноглобулинов, содержащих усредненный популяционный набор АТ, в том числе и АТ к коронавирусу, за счет появления иммунной прослойки у населения.

Целью данного наблюдения была оценка содержания АТ к вирусу SARS-CoV-2 в индивидуальных донациях плаз-

мы и препаратах иммуноглобулина, собранных и приготовленных в 2019–2022 гг. IgG-антитела к S-белку вируса (включая RBD – рецептор, связывающий домен вируса) определяли методом иммуноферментного анализа с помощью тест-систем «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgG количественный-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест»).

Если АТ к S-белку вируса SARS-CoV-2 в индивидуальных донациях плазмы, собранных в сентябре–октябре 2019 г. и июне 2020 г., а также в иммуноглобулиновых препаратах тех же годов выпуска, выявлено не было, то у доноров, сдавших кровь в феврале 2021 г., соответствующие АТ выявлялись уже в 53% случаев, а у доноров, сдавших кровь в январе 2022 г., – в 96% случаев. В количественном выражении уровень антител находился в диапазоне от 61 до >500 BAU/мл.

В коммерческих препаратах иммуноглобулина для внутримышечного и внутривенного введения, выпущенных ОБУЗ «Ивановская ОСПК» в 2022 г., соответствующие АТ также выявлялись, а их содержание колебалось от 12 до 245 BAU/мл.

Таким образом, наше предположение о появлении в 2022 г. в коммерческих препаратах иммуноглобулина достаточно высокого уровня АТ к вирусу SARS-CoV-2 подтвердилось. Данный факт объясняется тем, что с приобретением иммунитета к SARS-CoV-2 у доноров плазмы за счет перенесенного заболевания или вакцинации донорские антитела попадают в котловую загрузку и после технологического производственного процесса концентрируются в готовом препарате.

По нашему убеждению, подобные неспецифические препараты иммуноглобулинов, особенно препараты, предназначенные для внутривенного применения, могут использоваться для лечения тяжелых случаев COVID-19.

Финансирование исследований осуществлялось из госбюджета.

Использование конфокальной микроскопии для изучения формирования бактериальных биопленок

Макарова М.А., Воложанцев Н.В., Красильникова В.М., Фирстова В.В.

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

Бактериальные клетки могут существовать в состояниях планктонной и прикрепленной форм. Прикрепленная форма клеток является медленно растущей, более устойчивой к внешним воздействиям и способна формировать биопленочные структуры. Биопленки представляют собой множество бактерий, образующих сообщества в высокогидратированной матрице, состоящей из полисахаридов, белков и внеклеточной ДНК.

Формирование биопленки происходит по меньшей мере в три фазы: обратимое прикрепление, или адгезия, необратимое прикрепление и созревание. С усложнением организации биопленки затрудняется проникновение в нее лекарственных препаратов через биопленочные структуры к бак-

териальным клеткам, что вызывает необходимость подбора компонентов, способных устранить данную проблему. Для изучения различных структур сложной биопленочной системы используется конфокальная микроскопия, которая позволяет оценить и визуализировать живые образцы в режиме реального времени. Использование комбинированной терапии с применением деполимераз фагового происхождения вместе с антибактериальными агентами может быть эффективно в борьбе с инфекциями, вызванными патогенами, способными образовывать биопленки.

Целью нашей работы было изучение влияния антибиотика гентамицина и/или специфичной деполимеразы Der_kpv74 на формирование биопленок, образованных бактериями *Klebsiella pneumoniae*, с помощью конфокальной микроскопии.

Наблюдения за биопленкой проводили на конфокальном микроскопе OLYMPUS FV3000. Для визуализации окрашенных образцов использовали лазеры 561 нм (ТОТО-1, 1 мкМ; время инкубации 15 мин; Invitrogen™, T3600) и 640 нм (SYTO-60, 1 мкМ; время инкубации 15 мин; Invitrogen™, S11342). Штамм *K. pneumoniae* i1627 был получен из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур («ГКПМ-Оболensk»). Der_kpv74 получали из культуры штамма-продуцента *Escherichia coli* Rosetta/plis с последующей очисткой рекомбинантного белка методом металл-хелатной аффинной хроматографии и его лиофильной сушкой. 24- и 48-часовая биопленки были получены на 96-луночном планшете с тонким дном (IBID μ -Plate 96 Well Black). Биопленки подвергались обработке в течении 3 и 24 ч гентамицином в концентрации 16 мкг/мл (положительный контроль), полисахарид-деполимеразой Der_kpv74 в концентрациях 0,02; 0,04; 0,1 и 1 мкг/лунку и комбинацией этих двух веществ.

Анализ совместного воздействия деполимеразы в концентрации 0,04 мкг/мл и антибиотика через 3 ч выявил синергичный эффект в 48-часовой биопленке, проявляющийся в максимальном снижении толщины биопленки под влиянием препаратов, превышающем данный показатель в контроле. Изменение толщины биопленки при 3-часовой экспозиции: Der_kpv74 и гентамицин – 13,83 мкм; Der_kpv74 0,04 мкг/мл – 18,3 мкм; отрицательный контроль – 24,38 мкм; положительный контроль (гентамицин) – 18,49 мкм.

Через 24 ч экспозиции деполимеразы и гентамицина толщина биопленки была сопоставима с положительным контролем, что может обусловлено снижением ферментативной активности деполимеразы с течением времени.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Современные средства и методы индикации бактериальных и вирусных патогенов в санитарной микробиологии

Малышев В.В.¹, Азаров И.И.², Змеева Т.А.¹

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова», Санкт-Петербург, Российская Федерация;

²Главное военно-медицинское управление Минобороны России, Москва, Россия

Для оценки качества воды и ее эпидемиологической безопасности, как фактора передачи острых кишечных инфекций, в санитарной микробиологии проводят исследования проб воды на бактериальные, вирусные и паразитологические показатели. Определение бактериальных и вирусных патогенов в пробах воды обязательно по эпидемическим показаниям, а также при превышении уровней загрязнения одного и более основных санитарно-микробиологических и паразитологических показателей. В настоящее время средства отбора проб, оборудование и расходные материалы для таких исследований требуют импортозамещения. Особенностью исследований на вирусные патогены является, в первую очередь, определение маркеров присутствия вирусов в полученных элюатах, которое, как правило, проводят методом иммуноферментного анализа (ИФА) для определения антигенов и молекулярно-генетическими методами для определения вирусных РНК/ДНК. Необходимость проведения исследований вне стационарных лабораторий, на месте отбора проб требует от отечественных производителей разработок современных полевых комплектов и упаковок для проведения микробиологических исследований в полевых условиях.

Нами проводилось исследование отдельных элементов комплекта универсального для пробоподготовки и индикации кишечных патогенов в воде. В результате исследования подтверждена зависимость эффективности пробоподготовки от материала фильтра, диаметра пор фильтра, режима фильтрации, соблюдения pH растворов. Получены результаты большей эффективности извлекаемости бактерий и концентрирования вирусов при вакуумной фильтрации по сравнению с напорной. Еще больший эффект был получен при использовании тангенциальной фильтрации. Установлено, что эффективность сорбции вирусов мембранами с диаметром пор 0,2 мкм в 20 раз больше у полиамидных, чем у мембран из полиэфирсульфона и смеси эфиров целлюлозы.

При исследовании 10 проб модельных водоемов ротавирусов в концентрации 10^7 в объеме 10 дм³ для определения маркеров наряду с высокочувствительными и специфичными методами (полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией и ИФА) применяли метод иммунохроматографического анализа (ИХА). Обнаружение маркеров экспресс-и ускоренными методами в пробах из объектов внешней среды может служить основанием для проведения противоэпидемических мероприятий, а при необходимости требует проведения полного микробиологического анализа или подтверждения на базе специализированных центров. Использование метода ИХА позволило сократить время на определение маркеров в одной пробе от нескольких часов (2–6 ч) до 10 мин.

Выводы. Наиболее экономически эффективными для определения патогенов в пробах воды являются методы мембранной фильтрации. Внедрение в санитарной микробиологии технологий с использованием экспресс-тестов позволит значительно сократить время на индикацию бактериальных и вирусных патогенов.

Источник финансирования исследования: средства НИР.

Роль культурального метода в лабораторной диагностике брюшного тифа и паратифа А

Марчихина И.И., Полосенко О.В., Шепелин А.П.

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

Современной особенностью эпидемиологии брюшного тифа является значительное увеличение частоты завоза инфекции с территорий ближнего и дальнего зарубежья. Основным методом диагностики брюшного тифа и паратифов является культуральный – выделение чистой культуры возбудителей после предварительного посева проб на среды обогащения, высева на селективные и дифференциально-диагностические питательные среды и дальнейшей идентификации по ферментативным свойствам.

Цель – оценка роли культурального метода в лабораторной диагностике брюшного тифа и паратифа А.

Результаты. Для диагностики брюшного тифа и паратифов отечественными производителями выпускается полный набор питательных сред, зарегистрированных в РФ. В качестве накопительных сред для сальмонелл широко используются: магниевая среда, селенитовый бульон, бульон по Раппапорту–Вассилиадису, среда Мюллера–Кауфмана и др. Из плотных селективных дифференциально-диагностических питательных сред признаны получили такие среды, как среда Левина, агар Эндо, висмут-сульфит-агар, XLD-агар и др.

Клиническое течение инфекционного процесса не всегда позволяет различить брюшной тиф и паратифы, поэтому единственным способом их дифференциальной диагностики является культуральное исследование проб биоматериала с выделением чистой культуры возбудителя и дальнейшая идентификация на основании особенностей ферментативных свойств. Разработанная в ФБУН ГНЦ ПМБ «Среда с лизином» позволяет идентифицировать штаммы брюшного тифа, дающие положительную реакцию с лизином, от штаммов паратифов А, не утилизирующих лизин. Реакция лизиндекарбоксилирования протекает только в кислой среде (pH < 6,0), поэтому в состав среды обязательно входит глюкоза и среда может быть использована только для дифференциации глюкозоферментирующих бактерий. Лизиндекарбоксилаза-положительные микроорганизмы декарбоксилируют лизин с образованием амина кадаверина, который вызывает изменение цвета среды с зеленого на синий. Лизиндекарбоксилаза-отрицательные бактерии, ферментирующие глюкозу, вызывают пожелтение среды.

Выводы. Обеспечение специалистов полным набором питательных сред для диагностики брюшного тифа и пара-

тифов позволит повысить качество микробиологической диагностики, что в конечном итоге сократит риск распространения брюшного тифа и паратифа на территории РФ.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Бактерицидный потенциал фагоцитов в условиях бруцеллезной суперинфекции

Матвиенко А.Д., Логвиненко О.В., Ракитина Е.Л., Костюченко М.В., Пономаренко Д.Г.

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

Бруцеллы обладают факторами патогенности, обеспечивающими длительную внутриклеточную персистенцию в организме хозяина. Патогенность бруцелл зависит от их способности подавлять фагоцитарные факторы, индуцируя незавершенный фагоцитоз, что выражается в ингибировании слияния фагосомы и лизосомы, устойчивости к противомикробным катионным пептидам, а также к NO.

Цель: изучить особенности изменения бактерицидного потенциала фагоцитов при остром бруцеллезе и повторном инфицировании.

Инфицирование лабораторных мышей и их реинфицирование через 30 суток проводили штаммом *Brucella abortus* 544 в дозе 10^6 ж.м.к. На 7, 14, 21 и 28-е сутки после заражения и повторного инфицирования у биомоделей брали кровь. В нейтрофилах крови в единицах Кеплоу (Ед) определяли содержание лизосомальных катионных белков (ЛКБ), активность миелопероксидазы (МПО) и кислородзависимую бактерицидность в НСТ-тесте (%).

У зараженных биомоделей на 7-е и 21-е сутки после инфицирования наблюдается выраженная активация функционально-метаболического состояния нейтрофилов (НСТ-тест $20,83 \pm 3,13\%$ – 7-е сутки, $21,50 \pm 2,14\%$ – 21-е сутки, контроль $9,0 \pm 0,67\%$), что отражает высокую интенсивность воспалительной реакции в процессе развития инфекции. В первые сроки наблюдения отмечается тенденция к снижению содержания МПО ($0,35 \pm 0,08$ Ед, контроль $0,41 \pm 0,03$ Ед) и уровня ЛКБ ($0,43 \pm 0,06$ Ед, контроль – $0,54 \pm 0,04$ Ед), что, очевидно, связано с угнетением бруцеллами бактерицидных систем. На 28-е сутки вновь отмечается снижение активности НСТ-теста до $7,80 \pm 0,97\%$. На 28-е сутки после первичного заражения показательна динамика ЛКБ нейтрофилов, которая отражает увеличение активности бактерицидных катионных пептидов микрофагов ($1,11 \pm 0,05$ Ед).

При повторном заражении наблюдается существенное ингибирование в нейтрофилах активности МПО с $0,21 \pm 0,03$ Ед на 7-е сутки до $0,13 \pm 0,03$ Ед на 28-е сутки. Активность кислород-обусловленной бактерицидности микрофагов также имела тенденцию к снижению, особенно на 7-й день ($2,83 \pm 0,60\%$) с последующим увеличением ($18,0 \pm 1,55\%$) и повторным снижением. Уровень ЛКБ нейтрофилов незначительно увеличивался ($0,80 \pm 0,11$ Ед) на 14-е сутки суперинфекции.

Таким образом, получены новые данные об особенностях изменения бактерицидного потенциала фагоцитов при

остром бруцеллезе и повторном инфицировании. Выявленные особенности указывают на формирование выраженной супрессии бактерицидного потенциала фагоцитов в инициальную фазу инфекции и после реинфицирования. Анализ функциональной активности нейтрофилов крови может быть информативным для клинического мониторинга инфекций. В качестве информативного прогностического критерия можно рассматривать показатели кислородзависимой бактерицидности (НСТ-тест) и МПО нейтрофилов.

Короткоцепочечные жирные кислоты в качестве сигнальных молекул биопленок кишечной микрофлоры

Матосова Е.В.¹, Бынина М.П.¹, Шеховцова О.А.², Андрюков Б.Г.¹, Обухова В.С.¹

¹ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация;

²Департамент химии и материалов Института наукоемких технологий и передовых материалов ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Российская Федерация

Комменсальные бактерии кишечника используют различные механизмы, препятствующие колонизации слизистой патогенными бактериями. Одна из защитных стратегий реализуется посредством выделения в экзополисахаридный матрикс (ЭПС) биопленки вторичных метаболитов, выполняющих роль сигнальных молекул (СМ) в системе Quorum Sensing (QS). В последние годы среди СМ приоритетное значение отводится короткоцепочечным жирным кислотам (КЦЖК), которые в качестве индукторов ингибируют размножение патогенных бактерий.

Целью исследования являлась оценка роли КЦЖК при взаимодействии комменсальной микрофлоры кишечника при совместном культивировании с патогенными энтеробактериями в составе биопленок.

Материалы и методы. В качестве моделей комменсальных и патогенных бактерий использовались тест-штаммы *Escherichia coli* M17 и *Salmonella enterica* сер. *Typhimurium* ATCC 13311. Бактерии совместно культивировали в течение 7 суток в составе биопленок в смеси LB-бульона с 0,85%-м раствором NaCl в соотношении 1:3 в начальной концентрации бактерий 1000 КОЕ/мл при +37°C *in vitro*. Биопленки отделяли от дна чашки, центрифугировали при тех же условиях для разрушения ЭПС, после чего отделяли супернатант 2. Омыление образцов проводили с применением реагента, состоящего из гидроксида натрия, карбинола и воды. Анализ КЦЖК проводили на газовом хроматографе Agilent 6850 (США) с пламенно-ионизационным детектором с предварительным омылением и последующим гидролизом КЦЖК минеральной кислотой. В качестве контроля использовались стандартные растворы КЦЖК (Merck Life Science): уксусной (C2:0), пропионовой (C3:0), изомасляной (C4:0) и валериановой (C5:0).

Результаты. Наиболее показательная динамика изменения содержания КЦЖК в процессе формирования биопленок установлена для уксусной и пропионовой кислот. При

совместном культивировании энтеробактерий максимальное содержание уксусной кислоты (38,09 мг/мл) было выявлено через 7 суток после инокуляции внутри биопленки. Аналогичная тенденция наблюдалась и внутри биопленки *E. coli* (70,56 мг/мл). Содержание пропионовой кислоты достигло максимальных значений (0,75 мг/мл) через 7 суток в супернатанте 2 *E. coli*. Выявлено увеличение содержания валериановой кислоты внутри биопленки *E. coli* в динамике наблюдения (0,02 мг/мл → 0,06 мг/мл → 0,43 мг/мл). Для пропионовой и изомасляной кислот зависимости количества КЦЖК от течения времени не выявлено.

Заключение. При увеличении количества бактериальных клеток в биопленке к 7-м суткам содержание КЦЖК достигает максимального уровня, индуцируя синтез белков стационарной фазы и репрессируя синтез белков конструктивного метаболизма и таким образом влияя на функции систем QS. Увеличение количества КОЕ/мл бактерий в биопленке останавливается.

Работа выполнена в рамках Госзадания АААА-А19-119011090003-7.

Антиадгезивное действие холодной гелиевой плазмы на грибы рода *Candida*

Махрова Т.В.¹, Галка А.Г.², Лукова О.А.¹, Заславская М.И.¹

¹ФГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет», Нижний Новгород, Российская Федерация;

²Федеральный исследовательский центр «Институт прикладной физики Российской академии наук», Нижний Новгород, Российская Федерация

Антибиотикорезистентность является глобальной проблемой современного общества. Одним из факторов, способствующих устойчивости микроорганизмов к препаратам, является способность к формированию биопленок, образование которых начинается с обязательного этапа – адгезии. Меры борьбы с устойчивостью микроорганизмов к этиотропным препаратам не ограничиваются только созданием новых лекарств, но и предполагают поиск новых способов вариантов решения данного вопроса. Одним из перспективных физических факторов, обладающим выраженным фунгицидным действием, является низкотемпературная плазма атмосферного давления, называемая также «холодной», т.к. температура нагрева сопоставима с физиологическими показателями.

Цель исследования – изучение влияния холодной гелиевой плазмы (как потенциально эффективного и безопасного фунгицидного средства для лечения кандидоза слизистых оболочек, в том числе вызванного кандидами, резистентными к стандартной медикаментозной терапии) на адгезивные свойства грибов рода *Candida*.

Материалы и методы. В работе использовали клинические изоляты *Candida albicans*. Микромицеты выращивали на агаре Сабуро (48 ч, 28°C). Культуру кандид трижды отмывали и готовили рабочее разведение 10⁸ КОЕ/мл. В качестве источника холодной гелиевой плазмы был использован генератор (собственная разработка сотрудников ИФП РАН)

со следующими характеристиками: барьерный разряд – непрерывный; скорость прокачки 2 л/мин; мощность 20 Вт; частота 17 кГц, температура 42°C. Кандиды в планктонной форме в объеме 2 мл помещали в чашки Петри (пластик, диаметр 4 см) и воздействовали на поверхность взвеси холодной гелиевой плазмой в течение 2 и 4 мин. В качестве контроля использовали интактные микроорганизмы и микроорганизмы, обработанные гелием. Для изучения влияния плазмы на адгезивные свойства кандидат использовали модель искусственной колонизации *S. albicans* на буккальных эпителиоцитах путем расчета индекса искусственной колонизации (среднее количество адгезированных кандидат в перерасчете на один эпителиоцит (канд/эп)). Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерной программы MS Excel.

Результаты. При обработке кандидат холодной гелиевой плазмой были получены следующие результаты: двухминутная обработка приводила к снижению показателя искусственной адгезии до $5,21 \pm 1,6$, а четырехминутная – до $4,88 \pm 1,2$ ($p < 0,05$). Адгезия в контрольных образцах составляла $8,36 \pm 1,8$, после обработки гелием – $8,7 \pm 1,9$ (2 мин) и $8,3 \pm 2,2$ (4 мин).

Выводы. Низкотемпературная гелиевая плазма атмосферного давления при данном режиме обработки влияет на адгезивные свойства кандидат, эффект зависит от времени экспозиции.

Способность холерных вибрионов различных серогрупп и токсигенности формировать биопленку на поверхности хитинового панциря речного рака

Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

В настоящее время известно, что большинство бактерий существуют в природных экосистемах не в виде свободно плавающих клеток, а в виде прикрепленных к субстрату биопленок. Такая форма существования представляет бактериям массу преимуществ в условиях воздействия неблагоприятных факторов внешней среды и организма-хозяина. В ходе исследования установили, что у большинства токсигенных штаммов холерных вибрионов, выделенных от человека, начало образования биопленки происходило со 2-х суток от начала эксперимента. Показатель биопленкообразования этих штаммов на 2-е сутки составлял от 1,0 до 1,7. На 6–7-е сутки от начала эксперимента количество микробных клеток (м.к.) на хитиновом панцире превышало количество м.к. в планктоне (от 2,4 до 8,1). Исключение составили штаммы *Vibrio cholerae* El Tor *ctxA⁺tcp⁺*, *V. cholerae classical*, у которых максимальное количество м.к. на хитиновом субстрате отмечали на 35-е сутки от начала эксперимента (3,0 и 7,5 соответственно). Интересно отметить, что эти штаммы относятся к разным сероварам (Инаба и Огава). У *ctxA⁺*-штаммов водного происхождения на 2-е сутки от начала эксперимента этот показатель был ниже – от 0,5 до 0,8. К 7-м суткам инкубации показатель биопленкообразования токсигенных штам-

мов, выделенных из воды, значительно превышал этот показатель *ctxA⁺*-штаммов, выделенных от человека (от 3,5 до 8,1). У штаммов *V. cholerae* El Tor *ctxA⁺tcp⁺* и *V. cholerae* non O1/non O139 водного происхождения количество м.к. на хитиновом панцире превышало количество м.к. в субстрате также на 6–7-е сутки, однако показатели биопленкообразования были значительно ниже, чем у токсигенных штаммов (от 0,1 до 1,7). Возможно, данный процесс у этих штаммов остановился на стадии обратимой адгезии. Сравнительный анализ электронограмм показал, что образование биопленки на поверхности хитина у холерных вибрионов происходит независимо от наличия генов *tcpA* и холерного токсина *ctxA*, однако интенсивность биопленкообразования у данных штаммов различна. Исходя из полученных данных, токсигенный штамм *V. cholerae* с наличием гена *tcpA⁺* обладает большей интенсивностью биопленкообразования, чем нетоксигенный, у которого ген *tcpA* отсутствует.

Способность холерных вибрионов образовывать биопленку на хитиновых субстратах может объяснить механизм формирования экологической ниши для сохранения и переноса возбудителя в новые регионы с вероятностью формирования новых очагов холеры. Полученные результаты могут быть использованы как в фундаментальных научных исследованиях, так и в практических целях для дополнительной оценки патогенетического и персистентного потенциала штаммов *V. cholerae*.

Работа проведена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Анализ циркуляции геновариантов новой коронавирусной инфекции SARS-CoV-2 на территории Челябинской области

Москвина Т.И., Усольцева Н.М., Софьина Н.С.,
Лебедева Я.Е., Балташева Р.А.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии
в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

С начала пандемии, вызванной SARS-CoV-2, выявлено более 1000 различных генетических линий. Исходя из распространенности различных вариантов вируса среди населения и данных об их биологических свойствах (контагиозность, патогенность, отношение к нейтрализующей активности антител) выделяют варианты, вызывающие обеспокоенность (variant of concern/VOC), и варианты, вызывающие интерес (variant of interest/VOI).

VOI широко распространены во многих странах мира, имеют мутации, которые потенциально способны изменить их биологические свойства, но доказательства этому в настоящий момент отсутствуют.

VOC наряду с мутациями обладают биологическими свойствами, повышающими контагиозность, патогенность или снижающими нейтрализующую активность антител.

На сегодняшний день к вариантам VOC отнесены:

- альфа (линия PANGO B.1.1.7, впервые обнаружена в Великобритании в сентябре 2020 г.),
- бета (линия PANGO B.1.351, впервые обнаружена в ЮАР в мае 2020 г.),

- гамма (линия PANGO P.1, впервые обнаружена в Бразилии в ноябре 2020 г.),
- дельта (линия PANGO B.1.617.2, впервые обнаружена в Индии в октябре 2020 г.),
- омикрон (линия PANGO B.1.1.529, впервые обнаружена в ЮАР и Ботсване в ноябре 2021 г.).

В Российской Федерации «британский» штамм коронавируса выявили в конце 2020 г. Во второй половине апреля 2021 г. обнаружен дельта-штамм SARS-CoV-2. Первый случай заражения омикрон-штаммом коронавируса SARS-CoV-2 в России выявили 6 декабря 2021 г.

Цель – проведение анализа циркуляции вариантов вируса SARS-CoV-2 на территории Челябинской области.

Материалы и методы. С целью мониторинга штаммов новой коронавирусной инфекции ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» (далее – ФБУЗ) с 2021 г. направляет биологический материал в научные организации Роспотребнадзора для проведения фрагментного (ФБУН «Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии») и полногеномного (ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор») секвенирования.

В исследовании использован биологический материал, полученный при взятии назофарингеальных мазков с учетом приоритетных критериев забора материала согласно Приказу от 19.02.2021 №56 (с изменениями от 08.07.2021), МР 3.1.0272-22, от пациентов, проживающих на территории Челябинской области.

У этих лиц наличие ПНК SARS-CoV-2 было подтверждено в лаборатории ФБУЗ методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием тест-систем «АмплиСенс CoV-Bat-FI» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), «АмплиСенс COVID-19-FI» (ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора), «РеалБест ПНК SARS-CoV-2» (АО «Вектор-Бест»).

Результаты. В 2021 г. на полногеномное секвенирование отправлено 105 проб. Первые пробы доставлены в референс центр 23.03.2021. В мае 2021 г. впервые выделен британский штамм у медицинского работника с бессимптомной формой течения заболевания. С середины июня 2021 г. в отправленных пробах преобладает геновариант индийского штамма (дельта).

На фрагментное секвенирование в 2021 г. отправлено 39 проб. В апреле подтверждены 2 пробы с одинаковыми наборами из 4 мутаций: делеция, характерная для британского геноварианта, две замены в локусах, характерных для бразильского геноварианта, но на другой нуклеотид, а также мутации, не относящиеся ни к одному из штаммов.

Пневмония, как клиническая форма заболевания новой коронавирусной инфекцией, встречалась чаще других форм в пробах с идентифицированными геновариантами.

В 2022 г. материал направлялся на мультилокусное секвенирование. За 3,5 мес. (15 нед.) 2022 г. отправлено 3602 пробы. При осуществлении фрагментного секвенирования идентифицированы геноварианты омикрон в 652 (18,1%) пробах, дельта – в 58 (1,6%) пробах. Геновариант омикрон выделен на 1-й неделе 2022 г. и в дальнейшем начал нарастать и превалировать над геновариантом дельта. С 7-й недели 2022 г. вариант дельта не генотипировался.

Из установленных геновариантов дельта 81% (47 проб) имели пороговый цикл обнаружения ПНК SARS-CoV-2 менее

20. Среди идентифицированных геновариантов омикрон пороговый цикл обнаружения ПНК SARS-CoV-2 менее 20 составил 96% (626 проб).

Новая коронавирусная инфекция, вызванная геновариантом омикрон, протекала, согласно клинической картине, в более легкой форме (ОРВИ). На основании эпидемиологического анамнеза выявлено, что дети оказались более подвержены заболеванию SARS-CoV-2, вызванному геновариантом омикрон, чем другими ранее циркулировавшими геновариантами. В большинстве домашних очагов источником заболевания являлись именно дети.

В связи с циркуляцией в Российской Федерации с конца 2021 г. двух преобладающих штаммов (дельта и омикрон), с целью выбора оптимальной стратегии лечения пациентов ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора разработана лабораторная методика, позволяющая определять эти два геноварианта. Лаборатория особо опасных инфекций ФБУЗ за период с 08.02.2022 по 17.04.2022 провела исследования 637 проб материала с положительным результатом на содержание ПНК SARS-CoV-2 на определение геновариантов новой коронавирусной инфекции. В результате исследований идентифицированы: омикрон – в 199 (31,5%) пробах, дельта – в 3 (0,5%). Геновариант не определен в 214 пробах. Вариант дельта не определялся в лаборатории с 7-й недели 2022 г., что соответствует результатам секвенирования в ФБУН «Тюменский НИИ краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора.

Заключение. Анализ результатов проведенных мероприятий подтверждает более высокую контагиозность геноварианта омикрон по сравнению с ранее циркулирующими геновариантами вируса на территории Челябинской области.

Пороговые циклы, при которых идентифицировался геновариант омикрон, также могут объяснить природу быстрого распространения этой инфекции.

Диагностическая ценность реакции коаггутинации при лабораторных исследованиях у пациентов с генитальной гонококковой инфекцией

Оборин Д.А., Годвалов А.П.

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

Несмотря на относительную стабильность в показателях заболеваемости генитальной гонококковой инфекцией (ГГИ), высока доля клинически трудно распознаваемых форм и случаев малосимптомного течения. Полиморфизм возбудителя, образование L-форм, нестабильность культуральных и биохимических свойств вносят дополнительные трудности при лабораторной диагностике ГГИ. Определение антигенов возбудителя позволяет увеличить эффективность индикации и идентификации микроорганизма. Одним из средств для этого может служить реакция коаггутинации.

Целью исследования явилось изучение возможности использования реакции коаггутинации для экспрессного вы-

явления *Neisseria gonorrhoeae*, а также для быстрой идентификации выделенных культур.

Материалы и методы. Материалом для исследования служило отделяемое уретры и цервикального канала от 841 пациента с признаками острого инфекционно-воспалительного заболевания генитального тракта, в том числе от 246 пациентов с клиническим диагнозом ГГИ. От 202 человек бактериологическим методом были выделены *N. gonorrhoeae*. Реакция коагулирования ставилась в классическом варианте на стекле с первичным материалом и пробами, инкубированными в физиологическом растворе 16–18 ч при температуре 37°C. Кроме этого, для реакции использовали выделенные культуры и суспензии этих же штаммов, прогретые в пламени спиртовки 3 мин. Реакцию проводили при помощи диагностикума на основе кроличьих противогонококковых сывороток и аффинно-очищенных антител.

Результаты. При исследовании первичного материала с помощью агглютинации на стекле 76% проб были отрицательными, что сопоставимо с результатами последующего бактериологического анализа. При постановке реакции коагулирования с пробами, из которых выделены другие микроорганизмы, 18% из них дали положительный результат. При этом во всех этих пробах были идентифицированы трихомонады, которые, как известно, способны поглощать *N. gonorrhoeae*. Экспозиция отделяемого в физиологическом растворе снизила число негативных результатов при использовании реакции коагулирования.

В ходе исследования выделенных культур *N. gonorrhoeae* 87% из них дали положительный результат в реакции коагулирования, а 13% – отрицательный, что может быть обусловлено продукцией слизеподобного вещества. Прогревание культур в пламени спиртовки позволяет повысить эффективность реакции до 92%.

Заключение. Таким образом, в ходе исследования было показано, что реакция коагулирования может быть включена в комплекс методов лабораторной диагностики ГГИ как дополнительный метод, т.к. позволяет сравнительно быстро провести отбор лиц для дальнейшего углубленного исследования, а также может быть использована на этапе идентификации *N. gonorrhoeae*.

Оценка встречаемости и антибиотикорезистентности *Stenotrophomonas maltophilia* у детей

Петренко Е.А.¹, Зайцева Е.А.², Марьяш С.С.²

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

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

В последнее время в развитии инфекционных заболеваний все большую роль играет условно-патогенная микрофлора. Известно, что *Stenotrophomonas maltophilia* становится причиной внутрибольничных инфекций, различных заболеваний с летальным исходом, особенно у пациентов с ослабленной иммунной системой.

Цель исследования. Оценить частоту встречаемости и формирование антибиотикорезистентности у штаммов *S. maltophilia*, выделенных от пациентов детского возраста.

Материалы и методы. Анализ бактериологического исследования биоматериалов, полученных от детей ($n = 30$) с патологиями дыхательной системы, желудочно-кишечного тракта, центральной нервной системы, почек, врожденными пороками развития, онкологическими и аутоиммунными заболеваниями, а также в тяжелых состояниях, находящихся на стационарном лечении (в возрасте от 3 дней до 15 лет), по результатам исследований микробиологической лаборатории многопрофильного стационара в г. Владивосток за 2019–2021 гг.

Результаты. В период 2019–2021 гг. *S. maltophilia* среди исследуемого биоматериала выявлялась в 0,19% случаев (2019 г. – 0,14%, 2020 г. – 0,1%, 2021 г. – 0,33%), в основном у лиц мужского пола (66,7%) и в возрастной группе детей до года (79,17%).

Наиболее часто *S. maltophilia* изолировали от пациентов с заболеваниями респираторного тракта (39,5%), врожденными пороками развития (11,6%) и при тяжелых состояниях (недоношенность, анемии, кома и пр.) (20,9%). Важно отметить, что все пациенты с патологиями респираторного тракта находились на искусственной вентиляции легких.

S. maltophilia выявлялась с одинаковой частотой как в моноинфекции (54,2%), так и с сопутствующей микрофлорой (45,8%). Среди сопутствующих микроорганизмов встречались *Enterococcus* spp. (26%), *Pseudomonas aeruginosa* (22,2%), *Klebsiella* spp. (22,2%), *Acinetobacter baumannii* (11,1%), *Bacillus cereus* (7,4%), *Candida* spp. (7,4%), *Staphylococcus epidermidis* (3,7%).

При оценке антибиотикорезистентности *S. maltophilia* наибольшая чувствительность отмечалась к триметоприм/сульфаметоксазолу (82,2%). В 2021 г. впервые был изолирован штамм *S. maltophilia*, резистентный к имипенему (2,2%), выделенный из трахеобронхиального дренажа. Отмечено, что начиная с 2020 г. стали появляться штаммы с промежуточной устойчивостью к триметоприм/сульфаметоксазолу, чего не было зафиксировано ранее. В 2021 г. количество таких штаммов *S. maltophilia* возросло с 12,5 до 22,2%.

Таким образом, за 2019–2021 гг. частота выявления *S. maltophilia* увеличилась в 2,4 раза. Наиболее часто *S. maltophilia* выделялась при заболеваниях респираторного тракта у детей до 1 года. С 2020 г. возросло количество резистентных к антимикробным препаратам штаммов *S. maltophilia*.

Анализ исследований гистологического метода определения растительных углеводов и белковых добавок в мясе и мясных продуктах

Петрова О.С., Дубовая Н.Н.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Проблема фальсификации мясных продуктов широко распространена в настоящее время в Российской Федера-

ции. Фальсификация качества мясных продуктов может быть произведена путем замены более ценного сырья менее ценным, а также нарушением технических условий на данный вид продукции (введением в состав животного белка, сои, крахмала или увеличением их содержания и др.). Действующие требования к маркировке содержат исчерпывающий перечень требований, позволяющий потребителю получать полную информацию о продукции, изготовителе, условиях и сроках хранения, а также о составе. Все составляющие продукта должны быть указаны на маркировке, но, как показывает практика, часто эти требования не соблюдаются. Для выявления незаявленных добавок в составе мяса и мясных продуктов используется метод гистологической идентификации, который основан на идентификации состава мяса и мясных продуктов и идентификации углеводных и белковых растительных компонентов.

Цель. Проведение ретроспективного анализа результатов гистологической идентификации мяса и мясных продуктов на территории Челябинской области за период с 2017 по 2021 г. на соответствие составу.

Материалы и методы. Исследования гистологического состава мяса и мясных продуктов выполнены бактериологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» согласно следующим нормативным документам:

- ГОСТ 31479-2012 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологической идентификации состава»;
- ГОСТ 31474-2012 «Мясо и мясные продукты. Гистологический метод определения растительных белковых добавок»;
- ГОСТ ГОСТ-31500 «Мясо и мясные продукты. Гистологический метод определения растительных углеводных добавок»;
- ГОСТ 19492013 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологического исследования»

Для проведения исследований использовали современный настольный криостат-микротом STARLET-2212. Анализ исследованных проб проводили на основании обнаруженных добавок, которые не были заявлены в составе продукта. Приготовленные гистологические препараты исследовали под световым микроскопом. Для получения достоверных результатов пробы анализировали по двум срезам с 3 кусочков каждого отобранного образца. Выявление растительных углеводных и белковых добавок проводили на тех же срезах, что и для анализа животных компонентов.

Обработка результатов проводилась в соответствии с ГОСТ 31479-2012 «Мясо и мясные продукты. Метод гистологической идентификации состава» по классам встречаемости добавок или других компонентов (преимущественно, в достаточном количестве, в среднем количестве, в умеренном количестве, в незначительном количестве, в отдельных случаях). На основании данных, полученных в результате гистологического анализа, выявляли наличие непредусмотренных компонентов и проводили выяснение соответствия реального состава образца.

Результаты. За период с 2017 по 2021 г. были исследованы 574 пробы мяса и мясных продуктов (2017 г. – 90 проб, 2018 г. – 76, 2019 г. – 184, 2020 г. – 160, 2021 г. – 64). Из всего количества исследованных проб колбасы и колбасные

продукты составили 386 (67,3%) проб, мясные консервы – 5 (0,9%), мясо и мясные полуфабрикаты – 183 (31,8%). Из исследованных образцов соответствовала составу 251 проба, что составило 43,7% от всех исследованных проб. Не соответствовали составу 323 пробы, что составило 56,3%.

Наибольший процент соответствующих рецептуре проб составили колбаса и колбасные изделия, они соответствовали в 75,7% случаев (190 проб), на долю мяса и полуфабрикатов из мяса пришлось 23,9% (60 проб), мясных консервов – 0,4% (1 проба). Из несоответствующих рецептуре проб колбасы и колбасные изделия составили 60,7% (196 проб), мясо и полуфабрикаты из мяса – 38,1% (123 пробы), мясные консервы – 1,2% (4 пробы).

При исследовании продукции в 154 пробах было выявлено по одной незаявленной добавке в составе: в 2017 г. из 37 нестандартных проб в 16 (43,2%) пробах, в 2018 г. из 48 нестандартных проб в 16 (33,3%) пробах, в 2019 г. из 99 нестандартных проб в 48 (48,5%) пробах, в 2020 г. из 106 нестандартных проб в 57 (53,8%) пробах, в 2021 г. из 33 нестандартных проб в 17 (51,5%) пробах. В колбасах и колбасных изделиях в 129 пробах выявлены следующие незаявленные компоненты: животный белок – в 96 (74,4%) пробах; крахмал – в 17 (13,2%), целлюлоза – в 11 (8,5%), соя – в 2 (1,5%), гелеобразователь – в 2 (1,5%), камедь – в 1 (0,9%) пробе. При исследовании мяса и полуфабрикатов из мяса в 25 пробах были выявлены: крахмал – в 9 (36%) пробах, гелеобразователь – в 6 (24%), целлюлоза – в 5 (20%), соя – в 3 (12%), животный белок – в 2 (8%) пробах. В 53,2% случаев в составе обнаруживались по две и более незаявленных добавок (169 проб). Наиболее часто встречаемое сочетание – животный белок и крахмал, выявлено в 32% случаев, а также сочетание крахмала и целлюлозы (17%).

Всего за 5 лет в 574 исследуемых пробах были обнаружены 562 незаявленные в составе добавки. Наиболее часто в составе встречался животный белок, он был выявлен в 159 пробах, что составило 28,3% от общего количества выявленных добавок. На 2-м месте по частоте обнаружения – зерна крахмала, на их долю приходится 26,9% (обнаружены в 151 пробе). Различные модификации соевого белка, такие как соевый изолят, концентрат, текстурат и соевая гранула, были выявлены в 94 (16,7%) пробах. Целлюлоза и различные виды гелеобразователей встречались в исследованных пробах с одинаковой частотой – 12,8% (в 72 пробах) и 12,1% (в 68 пробах). Наименее часто в образцах выявлялись камедь и каррагинан, на их долю приходится всего по 1,6% (в 9 пробах).

Заключение. По результатам проделанной работы можно сделать вывод, что почти половина (43,7%) исследуемой продукции мяса и мясных продуктов не соответствует заявленному составу на этикетке. Проведенные лабораторией исследования предотвратили попадание нестандартной мясной продукции на прилавки магазинов Челябинской области. С целью предотвращения фальсификации необходимо продолжать работу по созданию, утверждению и применению стандартов на методы обнаружения фальсификации продуктов питания.

Микробиологический мониторинг за циркуляцией сальмонелл на территории Челябинской области в 2019–2021 годах

Петрова О.С., Терентьева Н.В., Дубовая Н.Н., Мухомедьярова И.И., Лямкина Д.Д., Москвина Т.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Сальмонеллезы на протяжении последних десятилетий продолжают оставаться одними из самых распространенных инфекционных заболеваний в мире, которые поражают как животных, так и людей. По данным НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, в 2019 г. в России зарегистрировано 50 тыс. случаев заболеваний сальмонеллезом.

Цель исследования. Проведение ретроспективного анализа циркуляции сальмонелл различных серовариантов среди людей и в объектах внешней среды на территории Челябинской области в 2019–2021 гг. Выявление вероятных факторов передачи сальмонеллезной инфекции.

Методы исследования. Эпидемиологический и статистический анализ учетных данных в динамике за 3 года (2019–2021 гг.).

Результаты. В Челябинской области в течение последних 3 лет заболеваемость сальмонеллезной инфекцией остается на высоком уровне, несмотря на некоторое снижение: в 2021 г. зарегистрировано 597 случаев заболеваний, при показателе 18,4 на 100 тысяч населения, что в 1,37 раза ниже показателя 2020 г. – 821 случай заболеваний, показатель 25,12; в 2019 г. зарегистрировано 813 случаев заболеваний, показатель 24,81 (снижение в 1,35 раза).

Заболеваемость в большинстве случаев этиологически связана с сальмонеллами группы D: в 2021 г. – 504 случая заболеваний, показатель 15,53 на 100 тыс. населения, что в 1,35 раза ниже показателя 2020 г. – 685 случаев заболеваний, показатель 20,96; в сравнении с 2019 г. снижение в 1,22 раза – 619 случаев заболеваний при показателе 18,89.

Заболеваемость, обусловленная серовариантами сальмонелл группы С, в 2021 г. составила 51 случай, показатель 1,57 на 100 тыс. населения, что в 1,25 раза ниже показателя 2020 г. – 64 случая, показатель 1,96; в 2019 г. зарегистрировано 70 заболевших, показатель составил 2,14 (снижение в 1,36 раза). В то же время в Челябинске отмечается рост заболеваний сальмонеллезом, связанных с серологическими вариантами группы С: в 2021 г. 37 случаев заболеваний, показатель 3,11; в 2020 г. – 26 случаев, показатель 2,17 (рост в 1,43 раза); в 2019 г. – 27 случаев, показатель 2,25 (рост в 1,38 раза).

В 2021 г. зарегистрировано 34 случая заболеваний, этиологически обусловленных сальмонеллами группы В, показатель 1,05 на 100 тыс. населения; в 2020 г. – 55 случаев, показатель 1,68 (снижение в 1,61 раза); в 2019 г. – 91 случай, показатель составил 2,78 (снижение в 2,65 раза).

За 3 года лабораториями ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» (далее – ФБУЗ) и его филиалов из биоматериала от людей, обследованных преимущественно с профилактической целью, изолировано

108 сальмонелл 4 серологических групп, 22 серологических вариантов. Высеваемость сальмонелл из биоматериала от людей в 2019–2021 гг. остается на уровне 0,2%.

Доминирующее положение среди изолятов от людей на протяжении многих лет занимают сальмонеллы группы D – 50,0% (54 культуры); сальмонеллы группы С составляют 35,19% (38 культур); группы В – 11,11% (12 культур); группы Е – 3,7% (4 культуры). В группе В преобладающий серовариант *S. Typhimurium* – 50% (6 культур). В группе С доминировал серовариант *S. Kentucky* – 26,32% (10 культур); *S. Infantis* – 21,05% (8 культур). Впервые циркуляция штамма сероварианта *S. Kentucky* на территории Челябинской области выявлена в 2018 г. В 2021 г. серовариант *S. Kentucky* в группе С составлял 43,75% (7 культур). В группе D *S. Enteritidis* составляют 100% (54 культуры).

Кроме того, единичные находки сальмонелл представлены серовариантами: *S. Sandiego*, *S. Brandenburg*, *S. Bredeney*, *S. Agona*, *S. Derby* (гр. В); *S. Muenchen*, *S. Belfast*, *S. Montevideo*, *S. Choleraesuis*, *S. Litchfield*, *S. Bovismorbificans*, *S. Tshongwe*, *S. Manhattan*, *S. Newport*, *S. Lindenburg*, *S. Banalia* (гр. С); *S. London*, *S. Westthampton* (гр. Е). Сероваровый пейзаж сальмонелл, изолированных в лабораториях медицинских учреждений, где преобладают диагностические исследования, отличается еще большим разнообразием. Сальмонеллы группы D в этой группе составляют 77,14%, где *S. Enteritidis* – 99,70%; сальмонеллы группы С – 12,71%, наиболее часто встречающиеся в группе *S. Kentucky* – 27,13%, *S. Infantis* – 15,92%, *S. Muenchen* – 9,42%, *S. Newport* – 7,85%, *S. Bovismorbificans* – 6,28%, *S. Virchow* – 5,83%; сальмонеллы группы В составляют 8,95%, доминируют в группе *S. Typhimurium* – 43,95%, *S. Brandenburg* – 24,52%, *S. Bredeney* – 8,52%. Единичные находки сальмонелл представлены серовариантами: *S. Koessen* (гр. А); *S. Abony*, *S. Agona*, *S. Derby*, *S. Coeln*, *S. Finaghy*, *S. Fyris*, *S. Hato*, *S. Heidelberg*, *S. Lagos*, *S. Stanley* (гр. В); *S. Montevideo*, *S. Choleraesuis*, *S. Manhattan*, *S. Newport*, *S. Lindenburg*, *S. Braenderup*, *S. Bulgaria*, *S. Djugu*, *S. Hadar*, *S. Kivu*, *S. Potsdam*, *S. Tshongwe*, *S. Yovokome*, *S. Be* (гр. С); *S. Eastbourne*, *S. Moscow* (гр. D), *S. London*, *S. Westthampton* (гр. Е).

Сальмонеллы обладают сравнительно высокой устойчивостью к воздействию различных факторов внешней среды, в том числе хорошо сохраняются в различных пищевых продуктах. За период с 2019 по 2021 г. лабораториями ФБУЗ и филиалов из пищевых продуктов выделено 254 сальмонеллы 4 серологических групп, 31 серологического варианта. Высеваемость сальмонелл лабораториями составила: в 2019 г. – 0,3%, в 2020 г. – 0,4% (рост в 1,3 раза), в 2021 г. – 0,5% (рост в 1,7 раза). Среди выделенных штаммов преобладали сальмонеллы группы С – 52,8% (134 культуры), доминировали серологические варианты *S. Infantis* – 61,2% (82 культуры), *S. Kentucky* – 5,51% (14 культур). Сальмонеллы группы D составляют 29,1% (74 культуры), *S. Enteritidis* – 100% (74 культуры); сальмонеллы группы В выделялись в 14,96% (38 культур) с преобладанием *S. Typhimurium* – 46,4% (18 культур).

Из всех исследуемых продуктов чаще всего сальмонеллы обнаруживали в мясе птицы, субпродуктах и полуфабрикатах из мяса птицы – 68,5% (174 культуры), на 2-м месте –

мясо, полуфабрикаты и субпродукты из свинины и говядины – 31,1% (79 культур).

В течение последних 3 лет лабораториями ФБУЗ и филиалов из поверхностных водных объектов изолировано 17 сальмонелл, в том числе: *S. Infantis* – 3 культуры, *S. Kentucky* – 3 культуры, *S. Enteritidis* – 2 культуры, *S. Concord* – 2 культуры. Штаммы *S. Amager*, *S. Montevideo*, *S. Typhimurim*, *S. Westhampton*, *S. Brandenburg*, *S. Oranienburg* выделены в единичном экземпляре. Одна культура – *Salmonella* spp. Из сточной воды в течение 3 лет изолированы 10 сальмонелл: *S. Kentucky* – 4 культуры, *S. Brandenburg* и *S. Bredeney* – по 2 культуры, *S. Aba* и *S. Mission* – по 1 культуре.

Заключение. Этиологическая структура сальмонеллезов коррелирует с сероваровым пейзажем сальмонелл, изолированных из биоматериала от людей, пищевых продуктов и объектов внешней среды. Ведущее место среди изолятов сальмонелл, выделенных из биоматериала от людей, занимает *S. Enteritidis*, что свидетельствует о более низкой заражающей дозе. Отмечается снижение значимости *S. Infantis* и заметное увеличение штаммов *S. Kentucky*, изолированных из биоматериала от людей и пищевых продуктов, что может повлиять на эпидемиологическую ситуацию.

Штаммы *Yersinia pestis* из природных очагов чумы Кавказа и Закавказья в контексте глобальной эволюции вида

Писаренко С.В., Ковалев Д.А., Бобрышева О.В.

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

В литературе имеются сведения о генетическом разнообразии штаммов *Yersinia pestis*, циркулирующих на территории Кавказа и Закавказья. Однако не определены временные рамки дивергенции генетических линий возбудителя и роль очагов чумы, расположенных на Кавказе, в распространении инфекции в прошлом.

Цель работы – дополнить современные представления о генетическом разнообразии популяции возбудителя чумы, определить временные рамки дивергенции генотипов *Y. pestis* и исторические пути возможного распространения возбудителя.

Геномы 16 штаммов *Y. pestis*, выделенных на территории природных очагов чумы на Кавказе в период с 1950 по 2012 г., и 329 геномных последовательностей, находящихся в открытом доступе, использовали для филогенетической реконструкции и построения эволюционно-филогеографической модели распространения возбудителя.

Штаммы, изолированные на территории Восточно-Кавказского высокогорного, Закавказского высокогорного и Приараксинского низкогорного природных очагов чумы, относятся к наиболее древним из существующих на сегодняшний день генотипам возбудителей чумы, филогенетическая ветвь O.PE2 (78 г. до н.э.). Изоляты самой древней ветви средневекового биовара – 2.MED0, дивергенция которой произошла менее 500 лет назад (1534 г.), – были обнаружены исключительно на территории Центрально-Кавказского

высокогорного природного очага чумы. Они обладают рядом уникальных характеристик, в том числе несут дополнительную плазмиду СКФ. Филогенетическая структура генетической линии 2.MED1 включает три кластера на основе географического распределения изолятов. Кластер 2.MED1a (1649 г.) соответствует среднеазиатско-китайской ветви. Кластеры 2.MED1b и 2.MED1c (1786 г.) включают, соответственно, каспийские и кавказские изоляты.

В результате ретроспективного эволюционно-филогеографического анализа современной популяции возбудителя чумы были определены вероятные временные рамки дивергенции генетических линий *Y. pestis*, а также предположены возможные пути его исторического распространения.

Влияние цистеина гидрохлорида и глутамината на рост *Lactobacillus iners*

Подкопаев Я.В., Домотенко Л.В., Шепелин А.П.

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

Lactobacillus iners – один из наиболее распространенных представителей микробиоты влажной среды человека. Этот вид относится к труднокультивируемым микроорганизмам и не растет на питательных средах, традиционно используемых для выделения лактобацилл (MRS-агаре или его аналоге – лактобакагааре). Основной питательной средой, на которой возможно выделение *L. iners*, является колумбийский агар с добавлением 5% крови (кровяной агар). На кровяном агаре *L. iners* через 72 ч инкубирования формирует очень мелкие, малозаметные невооруженным взглядом колонии, которые по морфологическим свойствам неотличимы от колоний *Gardnerella vaginalis*. Данная ситуация приводит к ошибкам при учете результатов бактериологических посевов исследуемого материала. Кроме того, качество кровяного агара напрямую зависит от качества и типа используемой крови.

Целью данной работы явился поиск стимуляторов роста для последующей разработки питательной среды для выделения *L. iners* без использования нативной крови.

Материалы и методы. Исследования проводили на модели колумбийского агара с добавлением 5% крови бараньей дефибрированной и без добавления крови с использованием музейного штамма *L. iners* DSM 13335 и трех клинических изолятов *L. iners*. В качестве стимулирующих веществ использовали ростовую добавку (РД) к питательной среде для выделения возбудителей гнойных бактериальных менингитов (ГБМ-агар), содержащую цистеина гидрохлорид, глутамин, аденин, никотинамидадениндинуклеотид, цианкобаламин и тиамин пиррофосфат, а также стимулятор роста гемофильных микроорганизмов (СРГМ).

Результаты. В ходе проведенных исследований установлено, что добавление РД в кровяной агар значительно повышает чувствительность среды и скорость роста всех исследованных штаммов *L. iners*. Показано, что из всех компонентов РД стимулирующим действием в отношении *L. iners* обладают лишь два из них: цистеина гидрохлорид и глутамин.

При этом основное стимулирующее действие на рост оказывает цистеина гидрохлорид, а глутамин лишь усиливает его.

Несмотря на то, что цистеина гидрохлорид и глутамин термостабильны, их стимулирующее воздействие на культивирование *L. iners* на плотных питательных средах возможно только при условии, что они не подвергаются автоклавированию и вносятся в стерильную расплавленную питательную среду в виде раствора, простерилизованного мембранной фильтрацией.

Отмечено, что добавление этих двух компонентов в бульон MRS позволяет получить рост *L. iners* через 24–48 ч инкубирования (в зависимости от посевной дозы), но не способствует росту на MRS-агаре. Характер роста *L. iners* в бульоне MRS в отличие от кровяного агара не зависит от режима стерилизации данных компонентов.

Определены концентрации цистеина гидрохлорида и глутамина, при которых колумбийский агар поддерживает рост *L. iners* при замене крови на СРГМ.

Выводы. Исследования показали, что добавление цистеина гидрохлорида и глутамина в питательную среду позволяет заменить кровь на СРГМ и получить рост *L. iners*, сопоставимый с ростом на 5%-м кровяном колумбийском агаре, что делает возможным конструирование питательной среды для выделения и культивирования *L. iners* без использования нативной крови.

Работа выполнена в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Системный подход к определению микробиологических показателей объектов санитарной микробиологии

Полосенко О.В., Шепелин А.П.

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

Своевременная и правильная идентификация выделенных культур микроорганизмов является одним из важнейших аспектов оценки качества сырья, пищевой продукции и объектов окружающей среды. Решение вопроса о наличии или отсутствии в исследуемых объектах микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней человека невозможно без использования классического культурального метода. Для повышения достоверности результатов исследований используемые питательные среды требуют проведения внутрилабораторного контроля на музейных тест-штампах.

Цель работы – анализ системного подхода к определению микробиологических показателей пищевых продуктов и объектов окружающей среды.

Результаты. Регулярный мониторинг качества пищевой продукции, объектов окружающей среды на наличие сальмонелл, шигелл, стафилококков, листерий и др. патогенов предполагает быстрый и достоверный способ идентификации, основанный на бактериологическом исследовании с использованием накопительных, селективных и дифференциально-диагностических питательных сред.

Наряду с такими общепринятыми питательными средами, как среда КМАФАнМ, мясо-пептонный агар, триптон-соевый агар (для определения общего микробного числа), ЕС-бульон, среды Мосселя, лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7 (для выявления колиформ), забуференная пептонная вода, RVS-бульон, XLD-агар (для выявления сальмонелл), солевой бульон, агар Фогеля–Джонсона (для выявления стафилококков), бульоны ПБЛ, Фрейзера, агары ПАЛ, ПАЛКАМАГАР (для выявления листерий) и ряд других питательных сред, в последнее время бактериологами используются разработки в соответствии с требованиями нормативных документов: гекотенагар – для выделения шигелл и сальмонелл; селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином – для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*; селективный бульон – для бактерий рода *Shigella*.

В результате сравнительных исследований было доказано, что не все питательные среды разных отечественных производителей в полной мере соответствуют требованиям по биологическим показателям. Для проведения бактериологических исследований необходимо выполнение внутрилабораторного контроля качества питательных сред на музейных тест-штампах, что гарантирует получение достоверных результатов.

Выводы. Для улучшения результативности микробиологического контроля качества и безопасности продуктов питания и объектов окружающей среды необходим оптимальный набор соответствующих питательных сред, прошедших обязательный внутрилабораторный контроль, для первичного посева и накопления возбудителя с учетом типа объекта и характерных свойств искомого микроорганизма.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Микробные сообщества поверхностных водоемов в местах выделения микроорганизмов рода *Vibrio*

Пономарева А.С., Миронова Л.В., Галачьянц Ю.П., Балахонов С.В.

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

Ежегодное выделение микроорганизмов рода *Vibrio* в стационарных точках мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов на территории Забайкальского края и Иркутской области, а также установленное сходство генотипов *V. cholerae*, изолированных в разные годы, определяет значимость анализа микробных сообществ водных биоценозов для выяснения вероятных экологических условий сохранения вибрионов в данных водоемах течение ряда лет.

В связи с этим цель исследования – изучение структуры микробных сообществ в стационарных точках мониторинга вибриофлоры поверхностных водоемов, выявление возможных таксонов –индикаторов присутствия *V. cholerae*.

Проанализированы 64 пробы фильтратов воды и ила, отобранные на территории Забайкальского края и Иркутской

области. Подготовка проб осуществлялась путем фильтрации воды через систему поликарбонатных фильтров с последующим выделением суммарной ДНК. Для оценки структуры бактериальных сообществ проведена амплификация, подготовка библиотек ампликонов, секвенирование гиперварибельной области V3-V4 последовательности гена 16S рРНК по протоколам Illumina MiSeq. Анализ результатов секвенирования ампликонов 16S рРНК проводили с помощью программ usearch, vsearch и mothur с использованием референсной базы данных Silva (v.138). Надежность результатов секвенирования и разнообразие сообществ оценивали путем построения кривых разрежения и расчета наблюдаемого богатства операционных таксономических единиц (ОТЕ) и базовых индексов α -разнообразия сообществ. Анализ структуры сообществ и влияющих на них факторов проводили с использованием пакетов vegan, deseql2, phyloseq и pvclust в среде программирования R.

В результате установлены различия в таксономическом составе сообществ, определившие группировку проб на три непересекающихся крупных кластера. Отдельный кластер составили пробы ила (i), пробы воды распределились на два кластера – (ii) и (iii). Показано, что частота встречаемости 83 ОТЕ различна в кластерах сообществ (i) и (ii).

Группировка микробных сообществ по составу и численности ОТЕ показала высокую корреляцию с характером антропогенной нагрузки, наблюдаемой в точке отбора водной пробы. Пробы кластера (ii) в большинстве своем отобраны в местах сброса сточных вод и зонах рекреации, кластер (iii) составили водные пробы, отобранные в местах водозабора и сброса технических очищенных вод. Выявлена корреляция распределения проб на кластеры с температурой водоема: более высокие значения температур отмечены среди проб кластера (iii). Отмечено, что среди 16 проб в кластере (iii) только в 4 пробах изолированы культуры *V. cholerae*, а из 17 проб, относящихся к кластеру (ii), – в 9 пробах, что предполагает наличие условий для жизнедеятельности вибриона и является возможным следствием повышенной антропогенной нагрузки.

Таким образом, определена корреляция таксономического состава микробных сообществ с влиянием антропогенной нагрузки и температурой водоема. Идентификация ОТЕ, численность которых различается в группах сообществ с повышенной/умеренной антропогенной нагрузкой, даст возможность поиска в их составе видов – индикаторов присутствия *V. cholerae*.

Иммуноферментный метод в лабораторной диагностике *Aspergillus fumigatus*

Попова С.В., Коротаева К.Н., Зайцева И.В., Поярков Ю.А.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация

Диагностика аспергиллеза – сложная задача комплексного характера, при выполнении которой лабораторные методы играют ведущую роль. Бактериологический метод оста-

ется золотым стандартом, но позволяет подтвердить диагноз в течение 3–4 суток, а возможность использования иммуноферментного анализа (ИФА) сокращает сроки до нескольких часов.

Цель исследования – определить диагностическое значение ИФА для предварительной постановки диагноза аспергиллеза и раннего назначения лечения при поступлении в стационар.

Материалы и методы. Исследованы 260 образцов сывороток крови на наличие антител класса IgM и IgG с использованием коммерческих и отечественных тестов ИФА. Использовались тест-системы для определения галактоманна методом ИФА – «IgM-антитела к *Aspergillus fumigatus*» (Германия) и «Аспергилл-IgG-ИФА-БЕСТ» (Россия).

Результаты. Выявлено, что у 17 (6%) пациентов в ответ на инфицирование грибом рода *Aspergillus* обнаружены специфические антитела, вырабатываемые иммунной системой, что является показателем инфекции, протекающей в настоящий момент или не выявленной ранее. При учете результатов выявлено, что 3 (1%) образца показали положительный результат по IgM; 6 (2%) – по IgM и IgG, 8 (3%) – только по IgG.

В комплексе с клиническими исследованиями при диагностике аспергиллеза пациенты, поступившие в стационар с диагнозом неуточненной пневмонии, чаще имели в сыворотке крови антитела класса IgM (1%), у пациентов с диагнозом неуточненной астмы, астмы неконтролируемой, астмы персистирующей обнаружены антитела класса IgG (2%), пациенты с диагнозом аллергического ринита, хронического синусита, дерматита неуточненного имели антитела суммарные IgM и IgG (3%).

Госпитализированным пациентам с симптомами заболевания при положительном результате на иммуноглобулин IgM назначалось противогрибковое лечение, с последующим дообследованием на аспергиллез бактериологическим методом.

Выводы. Таким образом, с учетом высокой летальности при аспергиллезе, особенно важны быстрая диагностика и немедленное начало лечения, поэтому использование ИФА позволяет в течение суток выявить у больного маркеры иммунного ответа на *A. fumigatus* и предположить диагноз. Проводимые в последующем микробиологические исследования у этих же пациентов подтвердили этиологический фактор – *Aspergillus*, что позволило проводить корректировку лечения.

Фенотипические особенности биологических свойств *Enterococcus faecalis*, выделенных из разных биотопов

Пушилина А.Д.¹, Зайцева Е.А.¹, Коменкова Т.С.¹, Вайсера Н.С.², Трегубова Т.С.³, Маркина П.С.¹, Матушинец А.О.¹

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

²ГБУЗ «Приморская краевая клиническая больница №1», Владивосток, Российская Федерация;

³Медицинский центр ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Российская Федерация

В настоящее время *Enterococcus faecalis* все чаще является ведущим этиологическим агентом катетер-ассоциированных инфекций в урологических отделениях, а также инфекций мочевых путей в амбулаторной практике. Энтерококки с высокой частотой выявляются при инфекционно-воспалительных заболеваниях урогенитального тракта у мужчин – простатите, инфекциях семенных пузырьков. У женщин *E. faecalis* выделяются при эндометрите, цервиците, аэробном вагините. Отличительные особенности этиологически значимых штаммов *E. faecalis* на сегодняшний день изучены недостаточно, поэтому комплексная оценка микробиологических свойств *E. faecalis* может служить одним из решений вопроса о разработке современных и информативных подходов в оценке диагностически значимых энтерококков при инфекции мочеполовой системы.

Цель исследования – оценить особенности фенотипических проявлений микробиологических свойств *E. faecalis*, выделенных из разных биотопов.

Материалы и методы. В работе исследованы клинические изоляты *E. faecalis*, выделенные при инфекции мочеполовой системы из различных биотопов: мочи ($n = 32$), цервикального канала ($n = 66$), эякулята ($n = 23$) и секрета простаты ($n = 21$) у пациентов в возрасте 18–79 лет в 2016–2019 гг. Микробиологические свойства и чувствительность к антимикробным препаратам определяли классическими микробиологическими методами. Статистическую обработку результатов выполняли в программе IBM SPSS Statistic v. 22.

Результаты. Установлены фенотипические особенности микробиологических свойств *E. faecalis*, выделенных из различных биотопов, связанные с некоторыми факторами патогенности (протеолитической, липолитической активностями) и антибиотикорезистентностью. Отмечено, что липолитическая активность чаще определялась у *E. faecalis*, выделенных из эякулята и секрета простаты ($\chi^2 = 33,1$, $df = 3$, $p = 0,001$), а протеолитическая – у фекальных энтерококков, изолированных из цервикального канала ($\chi^2 = 21,3$, $df = 3$, $p = 0,001$).

Установлена связь между наличием некоторых факторов патогенности (протеолитической, липолитической активностей) и антибиотикорезистентностью у *E. faecalis*. Выявлена зависимость между протеолитической активностью и устойчивостью к триметоприму-сульфаметоксазолу ($\Phi = 0,37$,

$p = 0,005$) у изолятов фекальных энтерококков, полученных из цервикального канала. Отмечено, что фекальные энтерококки, выделенные из эякулята и секрета простаты, чаще обладали липолитической активностью и были резистентны к тейкопланину ($\chi^2 = 19,3$, $df = 2$, $p < 0,01$).

Таким образом, выявлены фенотипические особенности микробиологических свойств, прямая связь между наличием определенных факторов патогенности, антибиотикорезистентностью и биотопом выделения фекальных энтерококков, что предполагает более углубленные исследования на молекулярно-генетическом уровне.

Оценка резистентности бактериальных патогенов в отношении нановолокон на основании куркумина

Рогачева Е.В., Краева Л.А.

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

Бактериальные инфекции сопровождали человечество на протяжении всей его истории и приобрели жизненно важное значение, особенно в условиях пандемии. Наиболее патогенными бактериями являются штаммы с множественной лекарственной устойчивостью. Актуальной задачей является поиск высокоэффективных антибактериальных средств природного происхождения, которые, однако, обладают низкой растворимостью и, как следствие, плохой биодоступностью. Куркумин, полученный из *Curcuma longa*, является примером таких природных биологически активных веществ с широким спектром биологической эффективности, особенно в отношении грамположительных бактерий.

Цель исследования: оценить антибактериальную активность разработанных нановолокон с содержанием куркумина в отношении полирезистентных бактерий группы ESKAPE: *Enterobacter cloacae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterococcus faecalis*.

Материалы и методы. Резистентность к волокнам куркумина изучали в отношении штаммов ESKAPE ($n = 8$) из коллекции ATCC. Оценка антибактериальных свойств проводили в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) и Европейского комитета по тестированию чувствительности к противомикробным препаратам (EUCAST). Нановолоконные мембраны получали методом электроформования на универсальном оборудовании NANON-01A. Натриевую соль гиалуроновой кислоты растворяли в бинарной эквивалентной смеси с получением раствора с концентрацией полимера, равной 19,0 мг/мл. Весовые соотношения биополимера к куркумину: 1:0, 25:1, 15:1 и 5:1.

Результаты. Наблюдался более сильный эффект в отношении грамположительных бактерий. Зоны задержки роста для грамположительных бактерий составляли от 9,0 до 19,0 мм, а для грамотрицательных – от 6,0 до 14,0 мм. Минимальные ингибирующие концентрации для грамположительных бактерий достигали значений ~90 мкг/мл (медиана

90 мкг/мл), для грамотрицательных – от 90 до 360 мкг/мл (медиана 360 мкг/мл). Нановолокна с большим содержанием куркумина проявляли наибольшую антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий. Впервые продемонстрировано подавление грамотрицательных бактерий под действием куркумина.

Выводы. В последние годы была продемонстрирована антибактериальная активность куркумина в отношении грамположительных бактерий. Большое значение имеет бактерицидная активность разработанных волокон, которые могут быть предложены в качестве кандидатов на антибактериальные средства для наружного применения при бактериальных инфекциях, поверхностных повреждениях или внутреннего применения при глубоких повреждениях.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям.

Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры озера г. Копейска, Красноармейского района Челябинской области в период 2019–2021 годов

Ромазанова Д.К., Щербаклова Т.А., Кухранова Л.И.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Актуальность данной проблемы обусловлена вероятностью завоза (заноса) холеры на территорию Российской Федерации из эндемичных регионов, «взрывным» характером водных вспышек в летнее время, быстрой отрицательной динамикой клинических проявлений, связанной с обезвоживанием, высокой частотой осложнений и летальных исходов.

На сегодняшний день случаев холеры в России нет. Ранее эпидемические проявления холеры в стране характеризовались единичными заносами инфекции российскими гражданами, возвратившимися из Индии в Башкирию и Москву, без последующего распространения возбудителя инфекции. В 2019–2022 гг. случаев завоза холеры не фиксировалось.

Завозные случаи холеры в настоящее время фиксируются в ряде европейских стран, в том числе граничащих с Россией. В течение последних 10 лет инфекцию выявляли в Финляндии, Украине, Казахстане, Великобритании, Испании, Франции, Германии. За это время в мире было зафиксировано более 4,5 млн случаев холеры в 97 странах.

Таким образом, стоит отметить, что холера остается одной из актуальных и наиболее опасных инфекций, единичные случаи и вспышки которой рассматриваются как чрезвычайная ситуация. В связи с этим бактериологическая лаборатория Испытательного лабораторного центра ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» участвует в проведении планового мониторинга контаминации холерными вибрионами серогрупп O1 и O139 поверхностных водоемов и других объектов окружающей среды с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры. Согласно СП 3.3686-21 (Приложение №20),

Челябинская область по районированию территории Российской Федерации по типам эпидемических проявлений холеры относится к территории III типа, подтип А (исследования на холерный вибрион проводятся в июле–августе в контрольных точках один раз в 7 дней).

Цель – провести анализ результатов лабораторных исследований на холерный вибрион воды поверхностных водоемов г. Копейска и Красноармейского района.

Методы исследования. Проведенное исследование носит комплексный характер, включающий эпидемиологический (описательный) метод за 3 отчетных года (2019–2021 гг.).

Результаты. Обязательному бактериологическому исследованию воды открытых водоемов на возбудителей холеры в г. Копейске и Красноармейском районе подлежат: стационарные точки водоемов 1-й категории, используемых в качестве источника для питьевого и хозяйственно-бытового обслуживания населения; вода из водоемов 2-й категории в местах рекреации и местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод.

Целенаправленное исследование воды открытых водоемов г. Копейска и Красноармейского района на холерный вибрион проводится с 1971 г. С этой целью были определены точки отбора. На территории г. Копейска водоемов, используемых для целей питьевого водоснабжения, нет. Для купания используются водоемы: озеро Курочкино и озеро Сугояк.

Краткая характеристика водоемов

Озеро Курочкино. Площадь 1,92 км². Здесь осуществлялся сброс технических вод, отработанных шахтами, в прошлом, на текущий момент – предприятиями. За период 2019–2021 гг. бактериологической лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» были выполнены исследования на холерный вибрион 54 проб воды из озера Курочкино, что составляет 108 исследований. За 2019 г. было выделено 11 культур, в 2020 г. – 17 культур, в 2021 г. – 13 культур *Vibrio cholerae* non O1/non O139.

Распределение биоваров в данном озере было представлено следующим образом: *V. cholerae* non O1/non O139 I группы Хейберга – 22 культуры, что составляет 54% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 II группы Хейберга – 18 культур, что составляет 44% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 III группы Хейберга – 1 культура (2% от общего числа культур).

Озеро Сугояк. Площадь 13,4 км². На территории данного озера расположено около 10 баз отдыха и, вероятно, происходит слив необеззараженной воды в данный водоем. За период 2019–2021 гг. было выполнено исследование на холерный вибрион 81 пробы воды из озера, что составляет 162 исследования. В 2019 г. было выделено 19 культур, в 2020 г. – 32 культуры, в 2021 г. – 19 культур.

Распределение биоваров в данном озере было представлено следующим образом: *V. cholerae* non O1/non O139 I группы Хейберга – 45 культур, что составляет 47% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 II группы Хейберга – 49 культур, что составляет 51% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 III группы Хейберга – 1 культура, 2% от общего числа

культур, *V. cholerae* non O1/non O139 IV группы Хейберга – также 1 культура, 1% от общего количества выделенных культур.

Озеро Курлады. Площадь 45 км². В озеро осуществляется сброс сточных вод очистных сооружений. За период 2019–2021 гг. было выполнено исследование на холерный вибрион 27 проб воды из озера, что составляет 54 исследования. Из них в 2019 г. было выделено 15 культур *V. cholerae* non O1/non O139, в 2020 г. – 9 культур, в 2021 г. – 10 культур. Распределение биоваров в данном озере было представлено следующим образом: *V. cholerae* non O1/non O139 I группы Хейберга – 17 культур, что составляет 59% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 II группы Хейберга – 10 культур, что составляет 34% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 III группы Хейберга – 2 культуры (7%).

Озеро Шелюгино. Площадь 5,4 км². В озеро осуществляется сброс сточных вод поселка Потанино и завода пластмасс. За период 2019–2021 гг. было выполнено исследование на холерный вибрион 54 проб воды из озера, что составляет 108 исследований. Из них в 2019 г. было выделено 15 культур *V. cholerae* non O1/non O139, в 2020 г. – 20 культур, в 2021 г. – 15 культур.

Распределение биоваров в данном озере представлено следующим образом: *V. cholerae* non O1/non O139 I группы Хейберга – 28 культур, что составляет 44% от общего числа выделенных культур, *V. cholerae* non O1/non O139 II группы Хейберга – 31 культура, что составляет 48% от общего числа выделенных культур; *V. cholerae* non O1/non O139 III группы Хейберга – 1 культура (2% от общего числа выделенных культур); *V. cholerae* non O1/non O139 IV группы – 4 культуры (6% от общего числа выделенных культур).

За период 2019–2021 гг. в перечисленных водных объектах бактериологической лабораторией всего было выделено 237 культур *V. cholerae* non O1/non O139, в том числе 111 культур *V. cholerae* non O1/non O139 I группы Хейберга (47%); 117 культур

V. cholerae non O1/non O139 II группы Хейберга (50%); 4 культуры *V. cholerae* non O1/non O139 III группы Хейберга (1%); 5 культур *V. cholerae* non O1/non O139 IV группы Хейберга (2%).

Обсуждение. Анализ данных говорит о том, что в водоемах г. Копейска и Красноармейского района преобладают, хотя и незначительно, холерные вибрионы II группы Хейберга, что можно связать с их биохимической активностью и более обширным распространением в водоемах.

Согласно нашим данным, за период 2019–2021 гг. больше всего холерных вибрионов было выделено в озере Сугояк (98 культур), на 2-м месте по количеству находок – озеро Шелюгино (64 культуры), на 3-м месте – озеро Курочкино (41 культура), затем озеро Курлады (34 культуры).

Озера Курлады и Шелюгино являются водоемами, в которых осуществляется сброс сточных и технических вод, что подтверждается количеством выделяемых культур. В 2019 г. в данных водоемах было выделено 44 культуры *V. cholerae* non O1/non O139, в 2020 г. – 29 культур, в 2021 г. – 25 культур. Количество выделяемых культур имеет тенденцию к снижению, возможно, из-за качества воды, которая сбрасывается в водоем.

В водоем Курочкино осуществлялся сброс технических вод. Высеваемость в данном водоеме остается постоянно низкой, ~38%, а именно: в 2019 г. – 11 культур, в 2020 г. – 17 культур, в 2021 г. – 19 культур. Однако в 2021 г. произошло небольшое увеличение выделенных культур, что, возможно, объясняется улучшением качества воды за счет уменьшения сброса.

Озеро Сугояк является условно чистым озером, без сброса сточных вод, однако, согласно данным наших исследований за 2019–2022 гг., число выделенных культур составило 98, что является наибольшим количеством среди культур, выделенных из анализируемых водоемов.

Таким образом, на основе проведенного анализа можно сделать следующие выводы:

1) установлена циркуляция *V. cholerae* non O1/non O139 в воде открытых водоемов;

2) наиболее высокая высеваемость холерных вибрионов наблюдается в озере Сугояк, что связано с его санитарным состоянием;

3) за анализируемый период в озерах г. Копейска, Красноармейского района Челябинской области преобладают *V. cholerae* non O1/non O139 II группы Хейберга;

4) осуществление постоянного бактериологического контроля за состоянием вибриофлоры в воде открытых водоемов является эпидемиологически оправданным и дает возможность своевременно проводить комплекс противоэпидемических мероприятий.

Сравнительная характеристика α- и β-дефензинов при лечении инфицированных ран в эксперименте

Рубайло М.В., Базиков И.А., Мальцев А.Н., Боташева В.С.

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

Рост лекарственной устойчивости микроорганизмов является серьезной проблемой современного здравоохранения. Эндогенные дефензины обладают уникальной врожденной антимикробной активностью. К дефензинам практически не развивается бактериальная устойчивость, так как основой эффективности их действия являются гидрофобность клеточной мембраны и уникальный состав бактериальных фосфолипидов. В этой связи актуально использование таких эндогенных антибиотиков в создании нового поколения антимикробных средств.

Целью данной работы явилось сравнительное изучение выделенных из клеток крови α-дефензинов и из плацентарной ткани – β-дефензинов.

Материалы и методы. Эндогенные дефензины выделяли из клеток крови и ткани плаценты с помощью хроматографии. Моделировали экспериментальную инфицированную рану на лабораторных крысах Wistar. Рану наносили с помощью инструментов для панч-биопсии, затем рану инфицировали добавлением 2 мл суспензии клинических штаммов *Staphylococcus aureus* (стандарт мутности 0,5 по Мак-

Фарланду). Скорость заживления ран (V , мм²/сутки) и площадь раны (S , мм²) оценивали с помощью программного обеспечения Lesion Meter на 7-й и 14-й день. В двух опытных группах ($n = 10$) на 3-й день после инфицирования раны начинали проводить наружное лечение растворами эндогенных α -дефензина (1-я группа) и β -дефензина (2-я группа) в объеме 0,5 мл и дозе 0,05 мг/мл 1 раз в сутки. В качестве контроля использовали группу животных ($n = 10$), которой проводили наружное лечение инфицированной раны 3%-й тетрациклиновой мазью.

Результаты. Лечение ран, инфицированных антибиотикорезистентным штаммом *S. aureus*, показало, что V на 7-й день эксперимента составила $0,0051 \pm 0,0147$ мм²/сутки в контрольной группе. У крыс, получавших лечение буферным раствором с эндогенными α -дефензинами в дозе 0,05 мг/мл, была установлена более высокая V по сравнению с контрольной группой, но ниже, чем в группе крыс, получавших раствор с β -дефензином. Так, среднее значение V в 1-й опытной группе составило $0,0236 \pm 0,0120$ мм²/сутки ($p < 0,05$), а во 2-й группе – $0,034 \pm 0,011$ мм²/сутки ($p < 0,05$). На 14-й день в контрольной группе V составила $0,0051 \pm 0,0071$ мм²/сутки, в 1-й опытной группе – $0,0286 \pm 0,0146$ мм²/сутки, во 2-й – $0,029 \pm 0,01$ мм²/сутки. Различия между группами были статистически достоверными ($p < 0,05$).

Показатели средней S на 7-й день лечения в контрольной группе составили $4,5 \pm 1,9$ мм², в 1-й опытной группе – $2,1 \pm 0,86$ мм², во 2-й опытной группе – $2,75 \pm 0,61$ мм². На 14-й день лечения средняя S в контрольной группе была $3,6 \pm 1,6$ мм², в 1-й опытной группе – $1,47 \pm 0,87$ мм², во 2-й опытной группе – $1,1 \pm 0,9$ мм². Различия между экспериментальными группами были статистически достоверными ($p < 0,05$).

Вывод. Установлено, что при инфицировании ран антибиотикорезистентным штаммом *S. aureus* наиболее эффективно наружное применение буферного раствора с эндогенными β -дефензинами.

Микробиологический мониторинг в системе эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями

Рудаков Н.В.^{1,2}, Шпынов С.Н.^{1,2}, Рудакова С.А.¹, Пеньевская Н.А.^{1,2}, Штрек С.В.^{1,2}, Кумпан Л.В.^{1,2}, Санников А.В.^{1,2}, Савельев Д.А.^{1,2}, Самойленко И.Е.¹, Блох А.И.^{1,2}

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, Омск, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, Омск, Российская Федерация

В основе эпидемиологического надзора за природно-очаговыми инфекциями лежит мониторинг их паразитарных систем, включая микробиологический мониторинг теплокровных хозяев и переносчиков (в трехчленных паразитарных системах клещевых трансмиссивных инфекций (КТИ)). С учетом развития современных лабораторных технологий необходимо совершенствование комплексного применения

классических микробиологических (бактериологических, вирусологических, иммунологических) и молекулярно-биологических методов, включая фрагментное и полногеномное секвенирование.

Данные по многолетней динамике заболеваемости КТИ населения свидетельствуют не только о различной степени эпидемиологической опасности регионов, но и об изменениях в распределении территорий риска, «флюктуации» очаговых территорий. В связи с этим территориальное распределение заболеваний КТИ в динамике в различные периоды отличается сменой долевого значения отдельных регионов России и их региональной структуры.

Сравнительная эпидемиология КТИ позволяет выявить как общие, так и региональные особенности распространения их природных очагов, вариабельность проявления активности и, с учетом применения комплекса современных лабораторных методов, спектр этиологических агентов. В основе эпидемиологического надзора, диагностики и профилактики КТИ должен быть положен комплексный подход, включающий мониторинг паразитарных систем, слежение за интенсивностью эпидемиологического процесса, прогнозирование неблагоприятных тенденций, оптимизацию мер своевременной профилактики с учетом различной степени риска заражения населения.

При эпидемиологическом надзоре за КТИ необходимо учитывать сочетанность и сопряженность природных очагов, применять современные алгоритмы лабораторной диагностики с использованием классических и экспресс-методов и практиковать дифференцированный подход к превентивной индивидуальной профилактике.

Клещевые риккетсиозы и иксодовые клещевые боррелиозы представляют группу облигатных трансмиссивных природно-очаговых инфекций, которые передаются человеку иксодовыми клещами. В работе референс-центров по мониторингу за риккетсиозами и боррелиозами ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора применяется комплексный подход, основанный на микробиологическом и молекулярно-биологическом изучении штаммов клещевых патогенов человека с эколого-эпидемиологическим районированием территории России по их распространению в иксодовых клещах различных родов, эпидемиологическом районировании очаговых территорий по риску заражения населения, включая комплексную оценку риска заражения и прогноз заболеваемости КТИ.

Свойства асоризина А – многофункционального белка возбудителей аспергиллеза

Рябинин И.А.

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

Современные средства биоинформатики позволяют идентифицировать белки и пептиды микроорганизмов, ионы которых формируют масс-спектры при MALDI-TOF-масс-

спектрометрии клеточного экстракта. Среди таких соединений у возбудителей аспергиллеза встречаются белки, осуществляющие базовые метаболические процессы, опосредующие взаимодействие *Aspergillus* spp. с организмом человека, а также малоизученные соединения.

Цель – структурная реконструкция и анализ свойств асоризина А как одного из «спектрообразующих» белков клинических штаммов *Aspergillus oryzae*.

Материалы и методы. Использована аминокислотная последовательность асоризина А GenBank BAS02281.1, соответствующая ионам с m/z 13196 из MALDI-масс-спектров экстрактов из культур *A. oryzae*. Обработку выполнили в биоинформационных редакторах BLAST, Phyre2, RaptorX, Swiss-Model и String 10.

Результаты. Ближайший гомолог асоризина А и его гипотетический предшественник – белок, «ассоциированный с множественной лекарственной устойчивостью», значительно больше по протяженности (793 остатка в сравнении с 141), – в результате реконструкции оказался трансмембранным α -каналом. Он относится к семейству транспортеров синаптических пузырьков типа SVOP, способен взаимодействовать с аналогичными транспортерами, β -глюкозидазой и ДНК-топоизомеразой II.

По результатам реконструкции в Phyre2 глобула асоризина размерами около $36 \times 46 \times 54$ ангстрема состоит в основном из α -спиралей, но модель имеет низкую достоверность. В редакторе RaptorX по совокупности индикаторов (p -уровень $3,23e-06$; uGDT 53; GDT 43; uSeqID 19; SeqID 15; Score 22) модель, напротив, отличается высокой достоверностью, доля ошибочно ориентированных остатков 3%. Глобула состоит в основном из нерегулярных вторичных структур, имеются также небольшие β -складки. Асоризин А, как оказалось, способен связывать N-ацетил-D-глюкозамин. Этот факт косвенно указывает, что белок-предшественник, в составе которого есть цепь асоризина находится в мембране пузырьков, участвующих в синтезе клеточной стенки. Вероятно, такие пузырьки сосредоточены в «кружевной тельце» растущей гифы.

Заключение. Со времени открытия (2015 г.) асоризин А не обсуждался в печати, агрегированной в российские и международные базы цитирования. Авторы, получившие его последовательность, предположили, что асоризин А является ингибитором эстераз, но не привели его подробную характеристику. В данном исследовании впервые удалось определить структуру этого метаболита и его дополнительные функциональные особенности. Асоризин А следует ожидать в протеоме *A. flavus* – вида, близкородственного *A. oryzae*.

Источник финансирования: Минздрав России, тема НИР Государственного задания «Молекулярно-генетические и иммунологические аспекты микозов легких, вызванных грибами рода Aspergillus. Фокус на адаптивный иммунный ответ и механизмы иммунной толерантности».

Совершенствование серологической диагностики холеры с помощью липосомальной диагностической тест-системы

Савельева И.В., Подопригора Е.И., Савельев В.Н., Куличенко А.Н.

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

В соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.3712–21 «Объемы и методы исследований, связанных с выявлением возбудителя холеры» для оперативного и ретроспективного эпидемиологического анализа рекомендованы серологические методы: определение агглютининов в сыворотке крови; реакция агломерации объемная; определение вибриоцидных антител в сыворотке крови по чашечному методу или на основе ферментации сахарозы Финкельштейна (Finkelsstain, 1962).

Основным патогенетическим фактором холеры, обусловленной типичным токсигенным холерным вибрионом Эль Тор или генетически измененными вариантами биовара Эль Тор, является энтеротоксин, биосинтез которого кодируется, соответственно, генами *ctxBEI* (СТ2) или *ctxBCI* (СТ1) и на который организм человека отвечает выработкой антитоксических (антиэнтеротоксических) антител. При этом следует учесть, что геноварианты продуцируют энтеротоксин классического типа (СТ-1) и в значительно большем количестве, вследствие чего можно ожидать сильный иммунологический ответ при возникновении инфекционного процесса в организме человека. В 2001 г. нами сконструирована липосомальная диагностическая тест-система на основе липосомального энтеротоксического диагностикума (ЛХЭД), лиофильно высушенного, в 1 мл которого содержится 200 мг ганглиозидсодержащих липосом, связанных с 11,6 КЕ чистого энтеротоксина классического типа. Ингредиенты, входящие в состав тест-системы, обеспечивают постановку реакции связывания комплемента ЛХЭД с сывороткой крови больного (подозрительного на заболевание) холерой для выявления антиэнтеротоксических антител и выдачу ответа через 5–6 ч. Данная тест-система апробирована в экспериментальных условиях (Савельева И.В., 2001, 2002), и показано, что ЛХЭД четко выявляет в РСК холерные антиэнтеротоксические антитела в кроличьих антитоксических сыворотках в разведениях 1:5 до 1:160–1:320. Ни в одном случае диагностикум не реагировал с 25 сыворотками здоровых людей. Диагностикум хранится в лиофильно высушенном состоянии в условиях холодильника (+4°C). Диагностическая ценность липосомального диагностикума подтверждена в РСК с сыворотками крови больных холерой при завозе инфекции в Москву авиарейсом из Индии в 2010 и 2012 гг. Штаммы холерных вибрионов, выделенные от двух взрослых (женщины) и ребенка десяти месяцев в 2010 г. и от мужчины в 2012 г., оказались генетически измененными вариантами холерного вибриона биовара Эль Тор. Так, в сыворотках крови, взятых у женщины и ее ребенка на 6-й день среднетяжелого течения болезни, с помощью ЛХЭД в РСК выявлены антиэнтеротоксические антитела в титрах 1:600 и 1:800 соответственно. В парных сыворотках крови,

взятых у стюардессы на 7-й и 14-й дни с легким течением болезни, антитела выявлены в титрах 1:50 и 1:200 соответственно, то есть отмечено 4-кратное нарастание титра. Более выраженное нарастание титра антиэнтеротоксических антител отмечено при исследовании парных сывороток, взятых на 5-й и 12-й дни пребывания в стационаре мужчины со среднетяжелым течением холеры, – соответственно 1:100 и 1:3200, то есть 32-кратное нарастание титра антител, что свидетельствует о мощном иммунологическом ответе организма человека при выраженной холерной инфекции, обусловленной гибридными вариантами биовара Эль Тор. Разработанная в ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора липосомальная диагностическая тест-система (ЛХЭД) пригодна для серологической диагностики современной холеры Эль Тор.

Изучение спонтанной зараженности клещей возбудителями инфекций, передающихся клещами

Савицкая Т.А.¹, Исаева Г.Ш.^{1,2}, Решетникова И.Д.^{1,3}, Тюрин Ю.А.^{1,2}, Бруслик Н.Л.¹

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

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

³ФГАОУ ВО «Казанский федеральный университет», Казань, Российская Федерация

Среди инфекций, передающихся клещами, наибольшее распространение в европейской части страны получил иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ), или болезнь Лайма. В Республике Татарстан боррелиоз также доминирует среди клещевых инфекций. За последние 10 лет интенсивный показатель на 100 тыс. населения варьировал в пределах от 0,48 до 1,8. Среднегодовалый показатель заболеваемости боррелиозом за последние 10 лет составил 0,9 на 100 тыс. населения. Наряду с этим в Республике Татарстан отмечаются лишь единичные случаи заболевания клещевым вирусным энцефалитом (КВЭ). Среднегодовалый показатель за последние 10 лет составляет 0,05 на 100 тыс. населения, причем в основном заражения происходили на территории других субъектов РФ. Появление в настоящее время малоизученных болезней, которые также передаются клещами (моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ) и лихорадки, вызываемые флавивирусами), требует дальнейшего изучения.

Целью исследования являлось изучение спонтанной зараженности клещей возбудителями боррелиоза, КВЭ, МЭЧ, ГАЧ и флавивирусами.

Материалы и методы. Спонтанная зараженность клещей патогенными геновидами определялась с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.

Результаты. Переносчиками клещевых инфекций в Республике Татарстан являются клещи *Ixodes persulcatus*, *Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus*. Казанским НИИЭМ за

период 2012–2021 гг. было исследовано на ИКБ 1640 клещей, из них положительными на возбудители боррелиоза были 172 (10,4%) пробы. Основное количество положительных проб было связано с *Borrelia burgdorferi* s.s. Однако проведенные лабораторные исследования клещей выявили их зараженность также *Borrelia miyamotoi*. За последние четыре года данный возбудитель выделен в 9 пробах: в 2017 г. в 1 пробе из Елабужского района, в 2018 г. в 3 пробах из Альметьевского района и в 2020 г. в 5 пробах из Сармановского района Республики Татарстан.

Зараженность клещей возбудителем ВКЭ в Татарстане встречается достаточно редко. Так, за период 2011–2021 гг. из 1418 клещей только 2 пробы были положительными (2018 г., Альметьевский район Татарстана). На инфицированность клещей возбудителями МЭЧ и ГАЧ за период 2010–2021 гг. было исследовано 1823 клеща, из них положительными на возбудители МЭЧ было 93 (5,1%), на ГАЧ – 103 (5,6%).

В соответствии с договором о сотрудничестве на базе «ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова РАН», было исследовано методом ПЦР 759 клещей из 6 районов Татарстана на флавивирусы. В иксодовых клещах рода *I. ricinus* положительный результат был получен в 45 (42,8%) из 105 пулов. Были выявлены флавиподобные вирусы Алонгшань.

Полученные данные лабораторных исследований свидетельствуют о том, что в природных очагах, расположенных на территории Татарстана, циркулируют возбудители ВКЭ, ИКБ, МЭЧ, ГАЧ и флавиподобные вирусы Алонгшань в популяции клещей родов *Ixodes* и *Dermacentor*.

Работа выполнена в рамках отраслевой темы Роспотребнадзора.

Изучение сочетанного действия масла чабера горного и химиопрепаратов на рост условно-патогенных микроорганизмов

Сатаева Т.П., Логадырь Т.А., Постникова О.Н., Шевкопляс Л.А.

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

В медицине большой проблемой остается устойчивость микроорганизмов к лекарственным препаратам. Многие эфирные масла обладают широким спектром биологической активности. В отличие от антибиотиков, эфирные масла сочетают антибактериальный эффект с антифунгальной активностью.

Целью исследования является изучение влияния масла чабера горного и его комбинаций с химиопрепаратами на рост культур условно-патогенных микроорганизмов.

Материалы и методы. Объектами исследования служили резистентные к антибиотикам изоляты *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и грибы рода *Candida*, устойчивые к ряду антимикотиков. Выделение чистых культур данных микроорганизмов из биоматериала пациентов

осуществляли на мясо-пептонном и желточно-солевом агаре а также на среде Сабуро с последующим определением морфологических и культуральных признаков. В исследованиях использовали эфирное масло чабера горного *Satureja montana L.*, произрастающего в Республике Крым. Определение чувствительности к маслу чабера и его комбинаций с химиопрепаратами проводили диско-диффузионным методом. При исследовании масла его наносили на стерильные диски. Исследовали действие неразведенного эфирного масла и в разведениях (v/v) 1:2; 1:5; 1:10. Масло также наносили на диски с препаратами оксациллин, ципрофлоксацин, амикацин, цефтриаксон, левофлоксацин, амфотерицин В, клотримазол, итраконазол. Плотность суспензии бактерий составляла 0,5 ед., а грибов – 1 ед. мутности по Мак-Фарланду, микроорганизмы культивировали при температуре 37°C в течение 24–48 ч.

Результаты. Установлено, что эфирное масло чабера горного, как неразведенное, так и разведенное, обладает хорошей антибактериальной и антимикотической активностью.

При сочетанном действии неразведенного масла с антимикотиками на грибы рода *Candida* наблюдали увеличение зоны задержки роста грибов с итраконазолом в 8 раз (чувствительность к препарату составляла 9–11 мм, совместно с чабером – 69–73 мм); с клотримазолом – в 6 раз, с амфотерицином В – в 5,5 раза (рост колоний практически отсутствовал). Разведенное масло чабера 1:2, 1:5 и 1:10 усиливало антифунгальный эффект в 4,3–2,8 раза соответственно. Бактерицидный эффект также наблюдался для штамма *P. aeruginosa*: зона задержки роста увеличилась в 2,5 раза с ципрофлоксацином; с цефтриаксоном – в 2,0 раза. В разведениях масла чабера 1:2; 1:5 и 1:10 активность с ципрофлоксацином увеличилась в 2,2–2,0 раза, а с цефтриаксоном – в 1,8–1,7 раза.

Антибактериальная активность эфирного масла чабера усиливает действие ципрофлоксацина, амикацина и левофлоксацина в отношении *S. aureus* в 1,2–1,7 раза.

Выводы. Проведенное исследование показало, что сочетанное действие эфирного масла чабера горного с химиопрепаратами обладает большим ингибирующим эффектом на резистентные штаммы микроорганизмов по сравнению с применением только антибиотиков или антимикотиков. Наибольшее подавляющее действие масла чабера наблюдалось в отношении грибов рода *Candida*.

Исследование филогении и популяционной структуры *Yersinia pestis* из природных очагов чумы Прибалхашья методом SNP-анализа

Сидорин А.С., Балыкова А.Н., Никифоров К.А., Ерошенко Г.А.

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

В Российской Федерации, других странах СНГ и ближнего зарубежья находятся 45 природных очагов чумы, во многих из которых распространены штаммы *Yersinia pestis* высоко-

вирулентного средневекового биовара. Высокой эпизоотической активностью в настоящее время характеризуются очаги Прибалхашья в Республике Казахстан, в связи с чем возрастает вероятность заноса возбудителя чумы на территорию Российской Федерации. Значимость приобретает изучение актуальной популяционной структуры и филогенетической истории *Y. pestis* из очагов Прибалхашья. Это необходимо для разработки эффективных способов дифференциации и молекулярной идентификации штаммов из этого региона с целью повышения эффективности эпидемиологического надзора и санитарной охраны территорий Российской Федерации.

Целью данного исследования является изучение филогении и популяционной структуры *Y. pestis* из природных очагов чумы Прибалхашья методом SNP-анализа.

Для построения дендрограммы были использованы 20 полногеномных последовательностей штаммов *Y. pestis* из Мойынкумского, Таукумского и Прибалхашского очагов чумы, 6 штаммов из сопредельных очагов и 9 штаммов из других очагов мира в качестве аутгрупп. Анализ SNPs в коровых областях геномов проводили в программе Wombac 2.0. Филогенетический анализ сравниваемых штаммов осуществлялся с использованием метода максимального правдоподобия (Maximum Likelihood) в программе PhyML 3.1 и FigTree 1.4.4.

По данным полногеномного SNP-анализа идентифицированы 1164 SNPs и установлена принадлежность большинства исследованных штаммов к филогенетической ветви 2.MED1 средневекового биовара. В структуре популяции 2.MED1 из Прибалхашья в XX веке выявлены три филогенетические группы, включающие штаммы первой половины XX века из Прибалхашского пустынного очага (отличаются по 2 уникальным SNPs); штаммы 1951–1982 гг. из Прибалхашского и Таукумского природных очагов (2 SNPs) и штаммы 1965–1993 гг. преимущественно из Мойынкумского пустынного очага чумы (1 SNP).

Таким образом, полученные филогенетические данные и референсные последовательности *Y. pestis* создают основу для филогеографической идентификации штаммов из природных очагов чумы Прибалхашья. Эти результаты могут быть использованы для проведения молекулярно-генетической паспортизации природных очагов чумы стран СНГ и повышения эффективности эпидемиологического мониторинга, проводимого в целях санитарной охраны территорий Российской Федерации.

Проблемы получения и очистки рекомбинантного эндолизина, нового антимикробного средства против штаммов MRSA

Скрябин Ю.П., Фурсова А.Д., Коробова О.В., Абаев И.В.

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

Staphylococcus aureus является возбудителем различных инфекций кожи, мягких тканей и слизистых как при внутрибольничных, так и при внебольничных условиях. К важным

характеристикам возбудителя относятся мультирезистентность к различным классам антибиотиков и способность формировать биопленки. Создание антимикробных средств против устойчивых штаммов *S. aureus* является актуальной проблемой современной медицины.

Эндолизины, пептиглицангидролазы бактериофагов *S. aureus*, рассматриваются как наиболее перспективное направление в разработке новых антимикробных средств вследствие способности быстро разрушать биопленки и элиминировать клетки резистентных штаммов. Получение эндолизинов связано с преодолением ряда сложностей, таких как наработка белка в штаммах-продуцентах *Escherichia coli* в виде нерастворимой белковой фракции, проблемы с ренатурацией рекомбинантного белка и высокая нестабильность растворимой фракции после ренатурации.

Клонирование гена эндолизина бактериофага SA18 в плазмидный вектор pET21a позволяет получить белковый продукт с гистиридиновым хвостом для последующей очистки с помощью колонок, содержащих никелевый матрикс. Полученная плаزمида pET21a_LysSA18 была трансформирована методом теплового шока в штамм-продуцент *E. coli* BL21(DE3). Он обладает высоким уровнем экспрессии рекомбинантных белков, находящихся под контролем T7-промотора, благодаря наличию в геноме рекомбинантного бактериофага, кодирующего ген T7 РНК полимеразы. В результате получен штамм-продуцент с высоким уровнем экспрессии эндолизина LysSA18. Но при высоком уровне экспрессии эндолизина белковый продукт формирует тельца включения. Получаемый в таком виде белок нерастворим и при рефолдинге не восстанавливает активность. Для повышения выхода растворимой фракции белка культивирование проводится в обедненной среде с добавлением 0,5% глюкозы при температуре 19°C, что позволило значительно повысить выход рекомбинантного эндолизина в растворимой форме.

Для разрушения клеток часто используется метод ультразвуковой дезинтеграции, но он приводит к сильному загрязнению рекомбинантного эндолизина. При использовании метода замораживания/оттаивания общий выход белка снижается, но в растворимой фракции мажорную часть составляет рекомбинантный эндолизин. Текущей задачей является очистка полученного продукта. При очистке с помощью никелевого матрикса белок теряет до 70% своей активности. Вероятно, это связано с нарушением третичной структуры белка и потерей двухвалентных ионов металлов, находящихся в каталитическом центре. Более перспективным методом очистки является ионообменная хроматография. В этом случае рекомбинантный эндолизин LysSA18 практически не теряет своей активности, однако недостатком является низкая степень очистки. Повышение степени очистки рекомбинантного эндолизина является дальнейшим направлением работы.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение № 075-15-2019-1671).

Взаимосвязь лабораторных показателей и клинических проявлений новой коронавирусной инфекции (COVID-19)

Славнухина Л.В.¹, Зубова М.В.¹, Игнашева Я.С.²

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области», Вологда, Российская Федерация;

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

Новая инфекция, вызываемая вирусом SARS-CoV-2 из семейства коронавирусов, стала серьезной проблемой во всем мире. Появившись в 2019 г. в Китае, пандемия SARS-CoV-2 поставила человечество и в первую очередь медико-биологические науки перед сложнейшей проблемой борьбы с новым инфекционным агентом.

На базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области» регулярно исследование проб на COVID-19 проводится с февраля 2020 г. Лаборатория особо опасных и вирусных инфекций Центра на постоянной основе взаимодействует с референс-центрами, участвует в молекулярно-генетическом мониторинге возбудителя новой коронавирусной инфекции на территории области.

Основной целью проведенного анализа является установление связи лабораторных показателей (значения пороговых циклов, определение циркулирующего штамма у инфицированных) с клинической картиной заболевания у пациентов. Оценка пороговых циклов по тестированию у заболевших дает возможность корректирования тактики ведения пациентов, определения рисков для контактных лиц. Генетический мониторинг за циркулирующими штаммами COVID-19 и особенностями патогенеза при инфицировании различными геновариантами вируса дает возможность составления эпидемиологических прогнозов по развитию инфекционного процесса.

Для оценки взаимосвязи лабораторных показателей и течения инфекции проводился анализ выборки заболевших ($n = 581$). Выборка составлена из заболевших лиц 2020 и 2021 гг., рандомных по возрасту и полу. Группа была разделена в зависимости от сроков отбора материала и даты заболевания (клинических проявлений).

Все исследования данной группы выполнены на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области», в лаборатории особо опасных и вирусных инфекций. В работе использовались тест системы «COVID-19 Amp» производства НИИ им. Пастера, выявляющие РНК коронавируса SARS-CoV-2.

В ходе ретроспективного анализа рабочих протоколов исследований и информационных карт заболевших была выявлена взаимосвязь сроков заболевания и значений порогового цикла (C_t), полученного методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Выявлено, что в 78,4% случаев при взятии анализа в 1–4-е сутки заболевания значения C_t ПЦР составляли 8,4–26,9, а при взятии мазка после 5–8-го дня заболевания – колебались в значениях от 23,1 до 37,1.

Данная зависимость может быть связана с патогенезом новой коронавирусной инфекции, интенсивностью выделения вируса заболевшим и косвенно доказывает наибольшее

количество выделяемых вирусных частиц в острой фазе заболевания. Однако необходимо учитывать погрешности по качеству забора материала у пациентов, что может снижать определяемую вирусную нагрузку и значения порогового цикла.

С 2021 г. лаборатория особо опасных и вирусных инфекций взаимодействует с НИИ микробиологии им. Пастера, г. Санкт-Петербург, для проведения генетического мониторинга, секвенирования циркулирующих на территории региона штаммов COVID-19 (приказ 56 от 19.02.2021, МР 3.1.0272-22.3.1 утверждены 10.01.2022). Данный опыт взаимодействия вносит большой вклад в прогнозирование эпидемиологической обстановки.

Основным циркулирующим штаммом второй половины 2021 г. (по данным секвенирования проб из региона) являлись штаммы дельта SARS-CoV-2, а в 2022 г. превалирует штамм омикрон.

Для анализа взаимосвязи генетических особенностей возбудителей и клинического течения заболевания у пациентов ретроспективно было проанализировано 2 группы лиц. Выборка 2-го полугодия 2021 г. составляла $n = 621$, выборка пациентов 2022 г. – $n = 781$ человек, рандомные по полу и возрасту.

При анализе группы заболевших 2021 г. было выявлено 11,5% с бессимптомным течением, 39,9% со среднетяжелым течением (включает симптомы повышения температуры до субфебрильной, ринита, головной боли), 45,4% с тяжелым течением (стойкая гипертермия до 39°C и более, повышение артериального давления, значимое снижение оксигенации и др.), госпитализировано 3,2% лиц, отдельно проанализированы пациенты с потерей обоняния (15,4%).

Также была проанализирована выборка пациентов 2022 г. с подтвержденным SARS-CoV-2 штаммом омикрон. Среди них 12,6% лиц имели бессимптомное течение, 53,6% – течение средней тяжести, с повышением температуры до субфебрильной, ринита, 32,6% – тяжелое течение заболевания, с выраженной гипертермией до 38–39°C, 1,2% – госпитализированы; в группе 2022 г. пациенты с потерей обоняния составили 3,5%.

Проведенный анализ позволяет сделать вывод о снижении тяжести и длительности заболевания, а также течения заболевания, вызванного геновариантом омикрон, постепенного исчезновения патогномичного симптома для первичных штаммов новой коронавирусной инфекции – потери обоняния.

В результате проведенных исследований выявлена взаимосвязь лабораторных показателей, прямая зависимость значений Ct и сроков от начала клинических проявлений. Данный факт подтверждает необходимость изоляции больных и обоснованность карантинных мероприятий при выявлении заболевших в организованных коллективах.

Анализ генетической структуры штаммов COVID-19 у пациентов позволяет сделать вывод о снижении тяжести и длительности заболевания, а также течения заболевания, вызванного геновариантом омикрон, отличие структуры клинических проявлений от штамма-предшественника дельта. Данные исследования позволяют подтвердить необходимость постоянного молекулярно-генетического мониторинга за возбудителями COVID-19 для регуляции санитарно-эпи-

демиологического контроля за распространением инфекции и принимаемыми противоэпидемическими мерами.

Оценка вирулентности микроорганизмов III–IV групп патогенности на модели личинок *Galleria mellonella*

Слукин П.В., Горемыкина Е.А., Подгорная Н.Н., Воложанцев Н.В., Абаев И.В., Хохлова О.Е., Фурсова Н.К.

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

Микроорганизмы III–IV групп патогенности вызывают широкий спектр инфекций: эпидемических, оппортунистических и госпитальных. Оценка вирулентности микроорганизмов III–IV групп на *in vivo* модели сталкивается со значительными трудностями, связанными с толерантностью классических лабораторных животных (грызунов) к возбудителям этих инфекций. Подобная ситуация приводит к необходимости использования моделей на низкоорганизованных животных: рыбах, нематодах и личинках большой восковой моли *Galleria mellonella*. Адекватность использования модели на *G. mellonella* обеспечивается наличием у личинок элементов иммунной системы (гемоциты гемолимфы, антимикробные пептиды и факторы опсонизации), аналогичных элементам иммунной системы человека.

Целью исследования была оценка вирулентности микроорганизмов III–IV групп патогенности на личинках *Galleria mellonella*.

Материалы и методы. Штаммы *Escherichia coli* ($n = 30$), *Candida* spp. ($n = 23$), *Staphylococcus aureus* ($n = 19$), *Corynebacterium* spp. ($n = 10$), *Klebsiella pneumoniae* ($n = 7$), *Acinetobacter baumannii* ($n = 5$) и *Enterococcus faecalis* ($n = 2$) получены из коллекции лаборатории антимикробных препаратов ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск). Кроме того, использованы штаммы *E. coli* ($n = 4$), несущие ген термостабильного энтеротоксина (EТЕС) и не патогенный для человека и лабораторных животных штамм *E. coli* С600, полученные из коллекции «ГКПМ-Оболенск». Уровень вирулентности штаммов определяли на личинках *G. mellonella*, учитывая количество особей, погибших через 7 суток после введения им в гемоцель суспензии штамма в дозах 10^2 – 10^9 КОЕ/особь. Расчет среднелетальной дозы (LD_{50}) штаммов для личинок проводили методом Кербера в модификации Ашмарина (Ашмарин, 1968).

Результаты. Тестируемые штаммы микроорганизмов были выделены из мочи, ликвора, крови, желчи, ран, легочного аспирата, мазков из зева и кожи пациентов с сепсисом, дерматитом, инфекциями мочевыделительной и легочной системы. Показано, что штаммы *E. faecalis* обладали $LD_{50} = (2-5) \times 10^5$ КОЕ, *A. baumannii* – $9 \times 10^3 - 5 \times 10^6$ КОЕ, *K. pneumoniae* – $2 \times 10^4 - 3 \times 10^6$ КОЕ, *Corynebacterium* spp. – $1 \times 10^6 - 6 \times 10^7$ КОЕ, *S. aureus* – $8 \times 10^3 - 5 \times 10^5$ КОЕ, *Candida* spp. – $6 \times 10^3 - 6 \times 10^6$ КОЕ, *E. coli* – $1 \times 10^5 - 9 \times 10^6$ КОЕ. При этом EТЕС-штаммы обладали $LD_{50} = (0,02-2) \times 10^2$ КОЕ, а *E. coli* С600 – 3×10^8 КОЕ.

Вывод. Использование модели личинок *G. mellonella* позволяет быстро и эффективно оценить вирулентность микроорганизмов III–IV групп патогенности: дифференцировать патогенные и непатогенные штаммы, а также определить уровень их среднетелальной дозы.

Работа выполнена в рамках отраслевой темы Роспотребнадзора.

Эпидемиологическая ситуация по описторхозу на территории Челябинской области в период 2019–2021 годов

Смолина Е.В., Сухоручкина М.С., Колесникова Е.А.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Одной из самых распространенных патологий в популяции человека является паразитарная, занимающая четвертое место в структуре всех болезней. Немалый ущерб здоровью населения приносят биогельминтозы (описторхоз, дифиллоботриоз, эхинококкоз, трихинеллез). Одной из самых актуальных и социально значимых проблем остается описторхоз, передающийся через зараженную рыбу и рыбную продукцию. На долю описторхоза приходится 90% от числа всех зарегистрированных биогельминтозов. Возбудителем описторхоза является сибирская, или кошачья, двуустка (*Opisthorchis felineus*). Длина гельминта составляет около 1 см. Половозрелая двуустка паразитирует в желчных протоках, желчном пузыре, протоках поджелудочной железы человека и ряда животных. Выделяясь с калом зараженных описторхозом людей и животных, яйца паразита попадают в воду, где они заглатываются моллюском *Bethygnia leachi*. В организме этих моллюсков происходит развитие и размножение колоний личинок гельминтов, которое заканчивается выходом в воду церкариев (хвостатых личинок). При проникновении в организм карповых рыб церкарии попадают в мышцы, где инкапсулируются с образованием цист. Человек заражается личинками описторхоза при употреблении в пищу сырой или плохо просоленной рыбы. Паразит оказывает на организм человека механическое, токсическое и аллергическое действие. Точно определить истинный уровень пораженности населения описторхозом достаточно сложно, поскольку ранние стадии инвазии в большинстве случаев протекают без клинических проявлений, а в хронической стадии клиническая симптоматика неспецифична. Клинические проявления этого гельминтоза имеют полиморфную картину с отсутствием четких симптомов, позволяющих адекватно и своевременно поставить диагноз. В связи с этим грамотная лабораторная диагностика и уровень выявляемости зависят от тщательного выполнения всех требований любой методики, правильного выбора материала для исследования, знания циклов развития гельминтов, а также путей выделения из организма человека, морфологического строения яиц гельминтов.

Цель. Проведение ретроспективного анализа частоты возникновения описторхоза на территории Челябинской области.

Материалы и методы. Проведенное исследование носит комплексный характер, включающий эпидемиологический (описательный) и статистический методы исследования в динамике за период 2019–2021 гг. Исходные данные взяты из государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения» Челябинской области за этот же период. В результате ретроспективного анализа проведено сравнение учетных данных. Проведен расчет статистических показателей (абсолютный прирост, темп прироста, роста) и анализ временных рядов. Обработка статистических материалов проводилась на персональном компьютере с использованием стандартных прикладных компьютерных программ пакета Microsoft Office (2010), Microsoft PowerPoint (2010), Statistica (2010).

Результаты. Проведенный анализ показал, что в 2019 г. было зарегистрировано 639 случаев описторхоза, показатель – 19,50 на 100 тыс. населения, превысив уровень заболеваемости 2018 г. в 2,4 раза (8,14). В 2020 г. зарегистрировано 156 случаев описторхоза, показатель – 4,77 на 100 тыс. населения, что ниже показателя

2019 г. в 4,08 раза (19,50), а по сравнению с 2018 г. – ниже в 1,7 раза (8,14). В 2021 г. зарегистрировано 104 случая описторхоза, показатель – 3,20 на 100 тыс. населения, что ниже показателя 2020 г. в 1,49 раза (4,77), а по сравнению с 2019 г. – ниже в 6,09 раза (19,50).

На территории России в 2019 г. было выявлено более 19,5 тыс. случаев описторхоза (13,35 на 100 тыс. населения), что выше показателя 2018 г. на 2,8% (12,99). В 2020 г. зарегистрировано 9932 случая описторхоза (6,77 на 100 тыс. населения), что ниже показателя 2019 г. в 2 раза. Неблагополучными по описторхозу являются практически все территории, примыкающие к бассейнам рек Обь, Иртыш, Томь и их притокам.

В Челябинской области за 2019 г. значительный рост заболеваемости описторхозом связан с регистрацией на территории очага групповой заболеваемости среди населения (141 случай) в связи с поступлением в реализацию на предприятия торговли необеззараженной рыбной продукции (язь вяленый, копченый), содержащей жизнеспособные метацеркарии описторхоза. Опасная рыбная продукция производилась в мае–июне на рыбоперерабатывающих предприятиях Челябинской области из сырья (язь мороженный), поступившего в период с апреля по июнь 2019 г. от 3 оптовых поставщиков, которые, в свою очередь, приобретали рыбу у производителей, расположенных на территории Ханты-Мансийского автономного округа, где расположен природный очаг описторхоза.

В паразитологических отделениях в составе бактериологических лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» и филиалов за 2019 г. исследовано 336 проб рыбы на паразитологические показатели, 5,4% проб не соответствовали гигиеническим нормативам; за 2020 г. исследовано 145 проб рыбы, удельный вес обнаружения личинок гельминтов в рыбе составляет 1,4%; за 2021 г. исследовано 207 проб рыбы, личинок гельминтов в рыбе не обнаружено.

Исследования проводились в соответствии с требованиями МУК 3.2.988-00 «Методы санитарно-паразитологической экспертизы рыбы, моллюсков, ракообразных, земноводных,

пресмыкающихся и продуктов их переработки» и инструкции 4.2.10-21-25-2006 «Паразитологический контроль качества рыбы и рыбной продукции».

Бактериологическая лаборатория (паразитологические исследования) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» ежегодно участвует в межлабораторных сравнительных испытаниях с официальными провайдером для подтверждения своей компетентности.

В Челябинской области присутствует местный природный очаг описторхоза в бассейне реки Уй, куда относятся территории г. Южноуральска, Увельского, Троицкого, Карталинского, Варненского районов.

Данный очаг описторхоза установлен в 1989–1990 гг. Омским НИИ природно-очаговых инфекций. Под руководством профессора В.А.Клебановского областным центром городского санитарно-эпидемиологического надзора совместно с областной ветеринарной лабораторией было проведено несколько гельминтологических экспедиций в бассейне р. Уй. Напряженность очага контролируется специалистами паразитологических отделений бактериологической лабораторий филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» путем ежегодного целенаправленного обследования населения указанных территорий и исследования рыбы карповых пород (язь, елец, плотва и др.) из местных водоемов.

В 2019 г. обследовано 307 человек (рыбаков) из групп риска по заболеваемости описторхозом, инвазированных яйцами описторхиса не выявлено.

На базе ветеринарных лабораторий области в рамках производственного контроля на паразитологические показатели в 2019 г. исследовано 9082 проб рыбы, в том числе 4607 проб рыбы семейства карповых, 1 (0,01%) проба не соответствовала гигиеническим нормативам (обнаружены *Bothriocephales*); в 2020 г. исследовано 7730 проб рыбы, все пробы соответствовали гигиеническим нормативам; в 2021 г. исследовано 4859 проб рыбы, все пробы соответствовали гигиеническим нормативам.

Обсуждение. Отмечено, что в динамике за период 2019–2021 гг. в Челябинской области случаи возникновения описторхоза имеют тенденцию к снижению. Это в большей мере связано с совместной работой паразитологических отделений бактериологических лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» и его филиалов и ветеринарных лабораторий в рамках производственного контроля рыбы и рыбной продукции на паразитологические показатели.

Заражение населения описторхозом в г. Челябинске и Челябинской области обусловлено наличием на территории области неблагоприятных по описторхозу водоемов и сформировавшегося природного очага в бассейне рек Уй, Увелка. Кроме этого, заражение населения области происходит при употреблении рыбы из наиболее эндемичных по описторхозу территорий: Ханты-Мансийского, Ямало-Ненецкого автономных округов, Тюменской, Томской, Курганской областей.

Бактериологическая лаборатория (паразитологические исследования) г. Челябинска применяет новый метод исследования биологического материала (метод формалин-эфирного осаждения), который позволяет более достоверно и

качественно определять наличие яиц гельминтов и цист патогенных и непатогенных простейших кишечника.

Общие принципы профилактики описторхоза направлены на разрыв эпидемических и эпизоотических звеньев в круговороте инвазий. Главное внимание необходимо уделять снижению риска заражения населения. Для это необходимо проводить оценку состояния рыбохозяйственных водоемов по паразитологическим показателям, паразитологический контроль рыбной продукции, обеззараживание рыбы от личинок описторхоза.

На территориях, где регистрируется заболеваемость человека описторхозом, необходимо проводить медицинские мероприятия, включающие обследование населения с целью раннего активного выявления инвазированных, их учет, дегельминтизацию, диспансерное наблюдение.

Существенную роль в защите от заражения описторхозом играет санитарно-эпидемиологический надзор за состоянием населенных мест, коммунальное благоустройство.

Санитарное просвещение населения – важнейший элемент в комплексе мероприятий по борьбе и профилактике заражения описторхозом. Основной задачей санитарно-просветительной работы является повышение уровня знаний населения об описторхозе. Необходимо обеспечение распространения информации о правилах кулинарной обработки рыбы.

Один из важных моментов в профилактике заболевания – ранняя диагностика. Для этого необходимо проводить обучение клинических специалистов по вопросам диагностики описторхоза у пациентов, просвещение населения о симптоматике заболевания, о необходимости своевременного обращения для обследования, особенно лиц с патологией органов пищеварения.

Разработка пробиотических препаратов на основе альгинатных микросфер

Сомов А.Н., Дунайцев И.А., Похиленко В.Д., Клыкова М.В., Чукина И.А.

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

В последние годы наблюдается рост интереса к использованию ряда микроорганизмов в качестве перорального лекарственного средства, улучшающего метаболизм, иммунитет и общее состояние здоровья человека и животных. Эффект максимален при достаточной концентрации таких микроорганизмов-пробиотиков в нижних отделах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Для защиты микробных клеток в агрессивной среде верхних отделов ЖКТ и удержания их в толстом кишечнике перспективно инкапсулирование в растворимую оболочку, способную раскрываться в нижних отделах ЖКТ. Для капсулирования часто используют полисахарид из морских водорослей – альгинат натрия, который в растворе кальциевой соли образует прочные и пластичные гелевые частицы, растворимые в водных средах с веществами, связывающими ионы кальция. В работе изучали препараты инкапсулированных пробиотиков двух разных

видов бацилл: *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* штамм №В-9352 и *Lactobacillus helveticus* штамм ФВ1.

Альгинатные микросферы (АМС) получали на пилотной установке Buchi Encapsulator B-395 Pro (Швейцария) с набором форсунок от 80 до 450 мкм для двух указанных видов культур. Для полимеризации каплей альгината натрия применяли водные растворы хлористого кальция (0,1 М) с добавлением неионного ПАВ Твин-20 и последующим отмыванием в физиологическом растворе с добавлением 10 мМ CaCl₂. Суспензию клеток в физрастворе смешивали с 1,5%-м либо 3%-м водным раствором альгината натрия в объемном соотношении 1:4 и диспергировали при помощи форсунки с наложением механических колебаний частотой от 200 до 2000 Гц. Образовавшиеся капли получали дополнительный электрический заряд и попадали в стерильную емкость с полимеризующим раствором. В зависимости от диаметра канала форсунки (80, 150 или 300 мкм) получали сферические гелевые частицы со средним размером 160, 375 и 850 мкм соответственно, как было определено методом анализа картины дифракции света на лазерном гранулометре MicroTec Plus (Fritsch, Германия).

Содержание живых бактериальных клеток в частицах оценивали после растворения альгинатной матрицы в 1%-м водном растворе цитрата натрия посевом на плотную питательную среду с подсчетом колониеобразующих единиц, оно варьировало для разных видов микроорганизмов и условий эксперимента от 10⁸ до 10⁹ КОЕ/см³ суспензии микросфер. Включение клеток в микросферы составляло в среднем 98% при практически полном сохранении жизнеспособности.

Препараты выдерживали в виде суспензии микрокапсул в физрастворе с добавлением ионов Ca²⁺ до 4 мес. в условиях бытового холодильника при температуре +4°C. После раскрытия капсул проводили контрольные высевы в течение всего срока хранения. Оказалось, величина КОЕ уменьшается в среднем в соответствии с обратной экспоненциальной зависимостью, причем лактобациллы теряли активность в несколько раз быстрее пропионовокислых бактерий.

На той же установке B-395 Pro возможно получение многослойных капсул/гранул, более устойчивых в агрессивной среде ЖКТ. Так, нанесение одного слоя хитозана на АМС увеличивает их средний диаметр всего на 50–80 мкм для разных форсунок, однако позволит получать существенно более защищенные препараты.

Работа выполнялась в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Некоторые аспекты по организации работы лаборатории особо опасных инфекций в период пандемии новой коронавирусной инфекции

Софьина Н.С., Усольцева Н.М., Балташева Р.А.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

SARS-CoV-2 – это новый представитель мира вирусов, с которым планета столкнулась в конце 2019 г. Он относится к коронавирусам и способен вызвать широкий диапазон забо-

леваний дыхательной системы: от незначительных проявлений рутинной вирусной инфекции до респираторного дистресс-синдрома с тяжелой дыхательной недостаточностью. 30.01.2020 Всемирная организация здравоохранения признала эпидемию, вызванную коронавирусом SARS-CoV-2, «чрезвычайной ситуацией, имеющей международное значение». Опыт предыдущих пандемий свидетельствует, что невозможно прекратить глобальную эпидемию без проведения диагностических тестов в больших объемах, быстрого получения качественных результатов лабораторных исследований.

Цель. Провести анализ работы лаборатории во время пандемии новой коронавирусной инфекции. Оценить такие аспекты, как: возможность работы во время пика подъема заболеваемости, обеспечение безопасности сотрудников лаборатории.

Исследование. Начальный этап работы лаборатории заключался в приеме биоматериала (мазки из ротоносоглотки, моча, кровь, секционный материал), оформлении документов, формировании посылок и отправке их с нарочным в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Все сотрудники лаборатории работали в средствах индивидуальной защиты: защитных костюмах типа Tyvek, перчатках медицинских, респираторах FFP3, защитных очках, шапочках медицинских, бахилах одноразовых. Первая отправка была сформирована лабораторией 28.12.2019. В дальнейшем в течение 1,5 мес. (по февраль 2020 г.) осуществлялась отправка биоматериала без проведения исследований.

Все работы проводились с соблюдением требований биологической безопасности: до 01.09.2021 в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)», с 01.09.2021 – в соответствии с СанПиН 3.3686-2021 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». Обеззараживание поступившего материала осуществлялось согласно требованиям МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».

С получением и внедрением в работу лаборатории зарегистрированной тест-системы для выявления коронавируса 2019-nCoV-RG методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией «Вектор-ПЦРrv 2019-nCoV-RG» ежедневно стали проводиться исследования.

Результаты. Этап выделения нуклеиновой кислоты проводился в ручном режиме. Мощность лаборатории при ручном выделении составляла 216 исследований.

Для выделения РНК на базе лаборатории было оборудовано три рабочих места. Работа проводилась в боксах микробиологической безопасности II класса. Все места были оборудованы центрифугами, отсасывателями медицинскими, термостатами, дозаторами. Обратная транскрипция проводилась в термоциклере «Терцик», который рассчитан на 40 проб одновременно. Проведение ПЦР-исследования осуществлялось в двух амплификаторах роторного типа Rotr-Gene 6000 и Rotr-Gene Q, а также в амплификаторе планшетного типа «ДТ-Прайм».

В связи с необходимостью обследования разных континентов населения и отсутствием других лабораторий, прово-

дящих аналогичные исследования, резко увеличилось количество исследований. Появилась необходимость в круглосуточном режиме работы лаборатории. Для усиления мощности лаборатории были привлечены кадры бактериологических лабораторий филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии». Сформированы бригады: группа приема, разбора, пробоподготовки и регистрации в журнале – 4 фельдшера-лаборанта, группа проведения ПЦР-исследования – 2 врача и 3 лаборанта, группа внесения результатов и формирования отчетов – 3 врача. Координатором и руководителем работы лаборатории являлся заведующий микробиологической лаборатории. Мощность лаборатории при ручном выделении составляла 1152 исследования. В марте 2020 г. в лаборатории был выдан первый положительный результат на наличие РНК новой коронавирусной инфекции. В апреле 2020 г. специалистами лаборатории была внедрена методика выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 набором «РеалБест РНК SARS-CoV-2», что ускорило время проведения исследований (отсутствие отдельного этапа обратной транскрипции) и снизило риск контаминации. Особое внимание при работе уделялось проведению внутрилабораторного контроля методом исследования смывов с объектов окружающей среды в ПЦР-лаборатории на остатки нуклеиновых кислот коронавируса.

По Федеральной программе лаборатория в сентябре 2020 г. дополнительно была оснащена оборудованием: прибором для проведения ПЦР в режиме реального времени Rotr-Gene Q, амплификаторами для проведения обратной транскрипции «Т-100» и модулем реакционным оптическим в составе термоциклера для амплификации нуклеиновых кислот CFX96.

В соответствии с требованиями МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» специалистами лаборатории проводился дистанционный инструктаж по соблюдению требований биологической безопасности с сотрудниками лабораторий медицинских учреждений. В дальнейшем лаборатории медицинских организаций доставляли в лабораторию особо опасных инфекций на ретестирование положительные пробы.

77% исследований, выполненных специалистами лаборатории особо опасных инфекций, пришлось на исследование на коронавирус (от населения – 135 555, из объектов окружающей среды – 917 исследований). В 2021 г. лаборатория продолжила работать в круглосуточном режиме, было проведено 93 727 исследований от населения, 8110 исследований смывов с поверхностей и оборудования из медицинских организаций.

В августе 2020 г. в работу лаборатории была внедрена методика с использованием набора реагентов для выявления РНК коронавирусов, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию (MERS-CoV и SARS-CoV), в биологическом материале методом ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией «АмплиСенс Cov-Bat-FL», в августе 2021 г. внедрили набор реагентов для выявления и количественного определения РНК SARS-CoV-2 методом ПЦР с обратной транскрипцией «АмплиСенс COVID-19-FL».

В дальнейшем продолжалось усиление материально-технической базы лаборатории. В октябре 2021 г. в работу лаборатории была внедрена система для автоматического

выделения и очистки нуклеиновых кислот из биологического образцов человека Auto-Pure 96, что значительно оптимизировало работу лаборатории особо опасных инфекций, сократило время выделения от 1 ч до 20 мин (одномоментно 96 проб) и значительно уменьшило риск контаминации. Время выдачи результатов с момента взятия проб в работу значительно уменьшилось. В ноябре лаборатория внедрила в работу автоматическую станцию выделения нуклеиновых кислот KingFisher Flex 96, после чего появилась возможность одномоментно выделять 192 пробы в течении 20 мин.

В 2021 г. в лаборатории появилась роботизированная станция Microlab STARlet для экстракции нуклеиновых кислот и подготовки проб к ПЦР и термоциклер для амплификации нуклеиновых кислот 1000, исполнения C1000Touch с модулем реакционным оптическим CFX384, что позволяло одновременно раскапать, а затем амплифицировать 384 пробы. Применение в работе данной аппаратуры полностью исключает риск контаминации.

Обсуждение. Сегодня уже стало очевидно, что новый вирус SARS-CoV-2 встал в одну линейку с существующими вирусами. В связи с этим оптимальное планирование профилактических и лечебных мероприятий требует налаживания точной диагностики. При анализе работы были выделены две ключевые проблемы. Основные сложности, с которыми столкнулись сотрудники лаборатории, – это круглосуточный график и нехватка кадров в условиях работы в пандемию. При получении автоматического оборудования и увеличении штата данная проблема решилась.

Лаборатория использует метод амплификации нуклеиновых кислот. Амплификация нуклеиновых кислот выполняется полимеразной цепной реакцией с обратной транскрипцией. Суммарная мощность лаборатории по диагностике COVID-19 составляет 800 исследований в сутки при работе в одну смену.

Спектр значимых микроорганизмов в развитии инфекции хирургической акушерской раны

Старикова Д.В., Богачева Н.В.

ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация

Инфекция хирургической акушерской раны после оперативного родоразрешения всегда сопровождается бактериальной контаминацией. Для своевременного начала терапии необходимо знать точную этиологию данного осложнения. Оценить спектр значимых микроорганизмов в развитии гнойно-септических осложнений после кесарева сечения предоставляется возможным с помощью микробиологической диагностики.

Цель – определить спектр значимых микроорганизмов в развитии инфекции хирургической акушерской раны.

Материалы и методы. В работе использовали биологический материал из раны на передней брюшной стенке после кесарева сечения. Идентификацию микроорганизмов проводили в лабораторных условиях при помощи бактерио-

логического анализатора VITEK 2 Compact (BioMerieux, Франция). Статистическую обработку результатов исследования выполняли на персональном компьютере с использованием статистической программы R-4.0.2.

Результаты. В исследование включили 38 пациенток в возрасте от 16 до 41 года, которые находились в стационарных условиях на базе гинекологических отделений г. Кирова. В 1-ю группу вошли 17 пациенток без инфекции хирургической акушерской раны после кесарева сечения (МКБ O82.1), во 2-ю группу – 21 пациентка с инфекцией хирургической акушерской раны после кесарева сечения (МКБ O86.1).

При оценке роста микроорганизмов из отделяемого раны на передней брюшной стенке выявили, что у 19 (90,5%) пациенток с инфекцией хирургической акушерской раны после кесарева сечения были обнаружены условно-патогенные микроорганизмы в посевах из раны. Среди выделенных микроорганизмов идентифицировали *Escherichia coli*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter koseri*, *Candida* spp., *Staphylococcus epidermidis*. По результатам статистического анализа значимыми микроорганизмами в посевах из отделяемого хирургической акушерской раны стали в 22,5% случаев *E. coli* ($p = 0,010$), в 16,9% – *S. saprophyticus* ($p = 0,033$), в 8,5% – *Streptococcus* spp. ($p = 0,033$), в 5,6% – *E. faecalis* ($p = 0,05$), в 4,2% – *S. epidermidis* ($p = 0,003$). В группе пациенток без инфекции хирургической акушерской раны после кесарева сечения вышеперечисленные микроорганизмы отсутствовали.

Таким образом, по результатам исследования определен спектр значимых микроорганизмов в развитии инфекции хирургической акушерской раны у женщин после кесарева сечения.

Работа выполнена в рамках гранта «УМНИК», договор (соглашение) № 17994ГУ/2022 от 30.05.2022.

Чувствительность к антибиотикам штаммов бактерий, выделенных из крови пациентов стационара Ростова-на-Дону

Старовойтова В.О., Козлова Н.С.

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

Цель исследования. Анализ чувствительности к анти-микробным препаратам (АМП) штаммов бактерий, выделенных в 2020–2021 гг. из крови пациентов в стационаре Ростова-на-Дону.

Материалы и методы. С 03.07.2020 по 04.07.2021 в стационаре Ростова-на-Дону было исследовано 518 проб крови больных с гнойно-септическими инфекциями. Для определения стерильности крови была использована система BacT/ALERT 3D 60 Microbial Detection System. Было выделено 100 штаммов бактерий, определение вида которых проводилось с использованием MALDI Biotyper 3.0 Bruker Daltonic. Для определения антибиотикорезистентности были использованы бактериологический анализатор VITEK 2 Compact или анализатор чувствительности к антибиотикам ADAGIO.

Результаты. Среди выделенных из крови культур преобладали стафилококки (58,0%). Они были представлены 7 видами – *Staphylococcus epidermidis* (41,4%), *Staphylococcus aureus* (25,9%), *Staphylococcus hominis* и *Staphylococcus haemolyticus* (по 13,8%), *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus capitis* (по 1,7%). Энтерококки включали *Enterococcus faecium* (10,0%) и *Enterococcus faecalis* (8,0%). Грамотрицательные бактерии были представлены в основном энтеробактериями (3,0% *Escherichia coli* и 20,0% *Klebsiella pneumoniae*), был выявлен только один штамм *Stenotrophomonas maltophilia*.

Подавляющее большинство (99,0%) выделенных штаммов оказались устойчивыми хотя бы к одному АМП, при этом 80,0% культур были полирезистентными. Чувствительным ко всем АМП был только один изолят *E. faecium*. Большинство культур стафилококков были нечувствительны к эритромицину (94,8%) и гентамицину (82,8%), более половины из них (60,3%) оказались метициллинрезистентными (MRS, устойчивыми к цефокситину), более трети проявляли устойчивость к норфлоксацину и амикацину (по 43,1%) и клиндамицину (37,9%). Все изоляты *S. hominis* и *S. saprophyticus* и 87,5% *S. haemolyticus* являлись MRS. Удельный вес MRS был значительно ниже среди *S. epidermidis* (50,0%) и *S. aureus* (40,0%). Доля полирезистентных штаммов среди стафилококков составила 81,0%. Большинство (88,9%) штаммов энтерококков были устойчивы к норфлоксацину, несколько меньше – к гентамицину (61,0%) и ампициллину (50,0%). Удельный вес культур, резистентных к линезолиду, составил 27,8%, при этом все они относились к *E. faecalis* (62,5% штаммов). Все культуры энтерококков были чувствительны к ванкомицину. 50% изолятов энтерококков были полирезистентными. Все штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы ко всем определяемым АМП, в том числе карбапенемам и амикацину. Все грамотрицательные бактерии оказались полирезистентными.

Выводы. Среди бактерий, выделенных из крови пациентов стационара Ростова-на-Дону, преобладали антибиотикорезистентные культуры (99,0%) с высоким удельным весом метициллинрезистентных стафилококков (60,3%). Преобладание среди выделенных штаммов (80,0%), особенно среди грамотрицательных бактерий (100%), полирезистентных изолятов значительно сужает список АМП для лечения инфекций крови в стационаре.

Проблема сохранения лечебно-профилактических свойств молозива здоровых коров в процессе его сбора и хранения

Танькова Н.Л.¹, Алешкин А.В.², Мизаева Т.Э.², Багандова К.М.², Зулькарнеев Э.Р.³, Воробьев А.М.², Киселева И.А.², Ефимова О.Г.²

¹ФГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», Москва, Российская Федерация;

²ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

³ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация

Использование молозива и его биологически-активных компонентов относится к перспективному направлению получения функциональных продуктов. Ввиду своего уникального состава в естественных условиях молозиво обеспечивает иммунную защиту теленка в первые часы жизни и способствует созданию у него собственной иммунной системы, а также выполняет целый ряд других функций, обеспечивающих полноценное развитие новорожденного организма. Молозиво первой дойки, истинное молозиво, содержит наибольшее количество белков, ростовых факторов, гормонов и метаболически активных веществ, высокое содержание иммуноглобулинов, что выдвигает этот ценный биологический продукт в число недорогих источников для конструирования иммуностимулирующих препаратов.

Учитывая то, что в нашей стране переработка молозива в промышленных масштабах находится в процессе становления по причине специфики сбора сырья и его обработки, в данной работе рассмотрены вопросы стандартизации условий сбора и резервирования (замораживанием) молозива по основным критериям: микробиологической чистоте и титру IgG молозива. В ходе исследований проведено сравнение бактериальной контаминации коровьего молозива в зависимости от точек сбора, возраста животного, момента замораживания после сбора и титра IgG в динамике резервирования. Определено, что уровень бактериальной контаминации асептического молозива от здоровых коров, при содержании в одинаковых условиях, в значительной степени зависит от возраста животного. Суммарное (экзогенное и эндогенное) обсеменение образцов молозива превышало 100 000 КОЕ/мл. Резервирование истинного молозива в бактерицидной фазе является важным фактором для сохранения концентрации IgG на исходном уровне в течение 6 мес., изменения микробиологических показателей в динамике не отмечена. Полученные данные определяют алгоритмы сбора и хранения молозива.

Видовое разнообразие бактерий рода *Lactobacillus*, изолированных из нижних дыхательных путей ковидпозитивных пациентов

Ташланова В.В., Катаева Л.В., Степанова Т.Ф.

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

Исследование состава микробиоты нижних дыхательных путей пациентов с диагнозом внебольничной пневмонии в период пандемии COVID-19 было нацелено на обнаружение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. При идентификации всех выросших колоний часто обнаруживались бактерии рода *Lactobacillus*. В литературных источниках отмечается дискуссия о влиянии бактерий рода *Lactobacillus* на микробиом человека. Большая часть исследований подтверждает действие бактерий рода *Lactobacillus*, направленное на профилактику патологического состояния организма, но имеются и негативные данные о воздействии на организм человека.

Проведено изучение качественного и количественного состава изолятов бактерий рода *Lactobacillus*, выделенных из отделяемого нижних дыхательных путей 88 пациентов (средний возраст – 64 года) с диагнозом «внебольничная пневмония различной степени тяжести, ассоциированная с COVID-19». Все обследованные пациенты находились на стационарном лечении в многопрофильных г. Тюмени и юга Тюменской области. Для культивирования использовали лактобакагар (дифференциально-диагностическая питательная среда). Высев выполнялся из разведений 10^3 и 10^4 с последующим термостатированием в CO_2 -инкубаторе при температуре $+37^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. Идентификация выделенных бактерий осуществлялась на приборе MALDI-ToF MS Bio Typer.

Бактерии рода *Lactobacillus* обнаружены у 92,04% обследуемых пациентов. В содержимом нижних дыхательных путей идентифицировано 14 видов бактерий, принадлежащих к видам: *L. salivarius*, *L. paracasei*, *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *L. oris*, *L. paraplantarum*, *L. plantarum*, *L. bresis*, *L. harbinensis*, *L. casei*, *L. curvatus*. Доминирующими видами оказались *L. rhamnosus* и *L. fermentum*, частота обнаружения которых составила соответственно 14,8 и 14%.

Видовая количественная оценка, представленная в следующих разведениях биоматериала, выявила: 10^7 КОЕ/мл – *L. salivarius*, *L. paracasei*; 10^6 КОЕ/мл – *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. casei*, *L. paraplantarum*, *L. oris*, *L. plantarum*; 10^5 КОЕ/мл – *L. bresis*; 10^4 КОЕ/мл – *L. casei*, *L. curvatus*, *L. harbinensis*.

Таким образом, качественное и количественное видовое разнообразие бактерий рода *Lactobacillus*, обнаруженное при исследовании отделяемого нижних дыхательных путей пациентов с диагнозом «внебольничная пневмония, ассоциированная с новой коронавирусной инфекцией», дает основание предполагать наличие патогенных свойств выделенных изолятов. Для подтверждения гипотезы необходимо провести более углубленное изучение наличия факторов патогенности бактерий рода *Lactobacillus* и исследовать ассоциации микробиоты нижних дыхательных путей.

Методические подходы к разработке инновационных подходов к санитарно-микробиологическому контролю прибрежных рекреационных зон морских экосистем залива Петра Великого Японского моря

Тимченко Н.Ф., Андрюков Б.Г.

ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П.Сомова» Роспотребнадзора, Владивосток, Российская Федерация

Повышение эффективности санитарно-микробиологического контроля объектов окружающей среды является одной из проблем современной эпидемиологии. Особенную актуальность этой проблеме придают некоторые аспекты совершенствования эколого-микробиологического мониторинга прибрежных рекреационных зон морских экосистем.

Своеобразие климатических условий и уникальность прибрежных зон Японского моря обуславливают их значение как главного рекреационного ресурса южного побережья России на Дальнем Востоке. Залив Петра Великого является самым большим заливом северной части Японского моря, в прибрежной зоне которого температура поверхностного слоя воды составляет летом от 20–23°C, до 27°C на мелководье.

Развитие хозяйственной деятельности на побережье и в акватории залива в последние годы вызвало ухудшение экологической ситуации в его отдельных районах. Это связано главным образом с загрязнением от сточных вод, ливневых стоков, рек и ручьев, содержащих вещества минерального и органического происхождения, а также патогенные микроорганизмы.

Большая часть залива Петра Великого находится под сильным антропогенным воздействием, в связи с чем необходим постоянный санитарно-микробиологический контроль. Патогенные энтеробактерии в морских экосистемах, попадая под воздействие биотических и абиотических факторов, оказываются в состоянии сублетального стресса. Для сохранения жизнеспособности и патогенного потенциала они реализуют свою фенотипическую пластичность, используя различные адаптационные стратегии и регулируя групповое поведение (формирование поликультуральных биопленок, в том числе в ассоциации с морскими сапротрофными бактериями). Оперативным методом контроля и мониторинга таких измерений является микробная индикация, характеризующая экологическую ситуацию в морских прибрежных рекреациях.

Основной проблемой залива является растущий рекреационный пресс, создаваемый отдыхающими в прибрежных зонах морского отдыха с июля по сентябрь. В результате выявлялись сезонные повышения концентраций органических загрязняющих веществ, биогенов, а также численности энтеробактерий. Наши исследования, проводимые в течение последних 10 лет, показали, что численность энтеропатогенных иерсиний в водах залива носила ярко выраженный сезонный характер и зависела от температуры воды.

Впервые в полевых условиях был проведен комплексный микробиологический мониторинг циркуляции энтеробакте-

рий в морских биосистемах залива Петра Великого. Изучены биологические и экологические свойства *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia enterocolitica*. Были выявлены особенности их биологических характеристик в сапрофитной и паразитической фазах их существования, показана их способность выживать в морской воде и гидробионтах (иглокожих и морских водорослях).

Таким образом, энтеропатогенные *Yersinia* должны привлечь внимание эпидемиологов, микробиологов, экологов, санитарных врачей. Выявление этой группы патогенов может являться показателем для определения микробиологического качества и безопасности морской воды и гидробионтов.

Работа выполнена в рамках Госзадания АААА-А19-119011090003-7.

Сохранение холерных вибрионов в биопленках на пластиковом субстрате в условиях эксперимента

Титова С.В., Меньшикова Е.А., Водопьянов С.О., Олейников И.П., Бородина О.В., Селянская Н.А.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

В условиях продолжительного эксперимента установлено использование *Vibrio cholerae* O1 El Tor (5 штаммов) и *Vibrio cholerae* O139 (4 штамма) пластиковых материалов, в том числе из материала медицинских масок, в виде абиотических субстратов для адгезии, колонизации и формирования биопленок.

Концентрация *V. cholerae* серогрупп O1 и O139 в биопленках на пластиковом субстрате через сутки культивирования в пробах при 23 ± 2°C становится равной концентрации клеток в планктоне – 10⁴–10⁵ м.к./мл. На протяжении 4 нед. при температуре 23 ± 2°C во всех экспериментальных пробах отмечено увеличение концентрации холерных вибрионов с некоторыми штаммовыми отличиями. У большинства штаммов *V. cholerae* O1 El Tor концентрация холерных вибрионов колебалась в пределах 10⁶–10⁷ м.к./мл, у *V. cholerae* серогруппы O139 – 10⁵–10⁷ м.к./мл. При дальнейшем культивировании этих проб, но при уменьшении температуры культивирования с 23 ± 2°C до 10 ± 2°C отмечен период адаптации к новым условиям температуры, равный 1 нед., проявляемый в виде небольшого снижения концентрации холерных вибрионов с последующим подъемом, однако в зависимости от штаммов и проб. В течение срока наблюдения (9 нед.), в том числе и при 10 ± 2°C, в экспериментальных пробах концентрация холерных вибрионов оставалась выше исходных значений, т.е. >10⁴ м.к./мл, в отличие от контрольных проб, в которых к концу эксперимента (примерно через 3 мес.) в 2 контрольных пробах холерные вибрионы серогруппы O139 не определялись.

При культивировании холерных вибрионов на полиуретановом материале, используемом в трехслойных медицинских масках, при температуре 23 ± 2°C в экспериментальных пробах через сутки отмечена адгезия клеток холерных вибрионов изучаемых штаммов ко всем слоям материалов

медицинской маски и формирование биопленок. Увеличение концентрации клеток холерных вибрионов регистрировали в течение 2 нед. с определенными особенностями: самая высокая концентрация наблюдалась в отношении второго промежуточного слоя «Мельтблаун» – до 10^9 м.к./мл, что превышало на 4 порядка их показатель для контрольных проб. Концентрация холерных вибрионов на первом и третьем слоях была примерно одинаковой у всех исследуемых штаммов с разницей на 2 порядка на протяжении 1 нед. С понижением температуры до $10 \pm 2^\circ\text{C}$ наблюдалось снижение содержания холерных вибрионов во всех пробах до значений 10^6 м.к./мл. У *V. cholerae* O139 отмечено плавное понижение концентрации, у двух штаммов *V. cholerae* O1 El Tor – резкое снижение концентрации с подъемом через 2 нед. До конца эксперимента концентрация холерных вибрионов держалась на уровне 10^6 м.к./мл.

Загрязнение поверхностных водоемов пластиковым мусором, в том числе фрагментами медицинских масок, может приводить к формированию микробных биопленок и способно создавать новую экологическую нишу для сохранения токсигенных вибрионов во внешней среде.

Работа проведена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Микробиологический контроль качества воды Северо-Крымского канала

Тихонов С.Н.¹, Пеньковская Н.А.², Листопад С.А.², Ситникова А.Л.¹, Василенко К.А.¹

¹ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора, Симферополь, Российская Федерация;

²МУ Роспотребнадзора по Республике Крым и городу федерального значения Севастополю, Симферополь, Российская Федерация

В 1965 г. был введен в строй Северо-Крымский канал (СКК) с сетью более мелких каналов, подающих воду из реки Днепр (с территории Украины) в степные районы Крыма. СКК обеспечивал 80% потребности Крыма в пресной воде (до 80% воды использовалось для нужд сельского хозяйства, из них 60% уходило на обеспечение выращивания риса; около 20% воды подавалось в водохранилища – источники централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения городов и сельских населенных пунктов Крыма). В апреле 2014 г. подача днепровской воды была прекращена, что привело к значительному сокращению сельскохозяйственного растениеводства и ликвидации рыболовческих хозяйств в северной и восточной частях Крыма. Это потребовало изменения схемы водоснабжения и отразилось на показателях обеспеченности доброкачественной питьевой водой в северных районах Крыма. 3 марта 2022 г. подача воды в СКК возобновилась, и канал стал постепенно заполняться водой. В Крым поступило около 250 млн м³ днепровской воды. Но, согласно официальной информации служб Украины, задействованных в контроле и наблюдении за качеством воды реки Днепр, в последние годы отмечается неудовлетворительное экологическое состояние, связанное со слабым контролем сброса отходов промышленных предприятий и авариями на них,

с частыми аварийными сбросами загрязненных сточных вод, сбросом большого количества сточных вод, из которых полное или частичное очищение проходило только 45%. Доля исследованных проб днепровской воды, не соответствующих по микробиологическим показателям, составляла от 0,9 до 22,5% в отдельные годы в разных точках контроля в Украине.

При взаимодействии МУ Роспотребнадзора по Республике Крым и г. Севастополю, ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора, ФБУЗ «ЦГиЭ в Республике Крым и г. Севастополе» оперативно было организовано исследование на микробиологические показатели днепровской воды из СКК. Первый отбор проб был проведен 04.03.2022 в точке приема днепровской воды на территории полуострова и на расстоянии 500 м от нее. С заполнением СКК водой количество точек было увеличено, определены аварийные места сброса воды СКК при возможных отклонениях в качестве и безопасности воды. Пробы на микробиологические исследования отбирались еженедельно по ходу течения днепровской воды по СКК.

В связи с отсутствием актуальной и достоверной информации по Украине (микробиологические показатели днепровской воды, эпизоотии и эпидемическая ситуация), а также возможного техногенного загрязнения (в том числе с террористической целью) р. Днепр был применен не только стандартный микробиологический анализ воды поверхностного водоема, но и расширенный анализ, включающий определение вирусов и бактерий кишечных инфекций, а также возбудителей I–II групп патогенности.

Расширенный микробиологический анализ воды СКК в сложившейся ситуации является актуальным и обоснованным для дальнейшего проведения.

Оценка фармакокинетики экспериментального коктейля холерных фагов на модели лабораторных животных

Тюрина А.В., Гаевская Н.Е., Иванова И.А., Погожова М.П., Аноприенко А.О., Филиппенко А.В., Труфанова А.А., Омельченко Н.Д., Пасюкова Н.И.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Регистрация вспышек холеры, а также антибиотикоустойчивость холерных вибрионов требуют разработки новых подходов для борьбы с этим заболеванием. Актуальна проблема расширения арсенала профилактических средств с использованием бактериофагов. При конструировании препаратов на основе фагов необходимо комплексно исследовать их действие на макроорганизм.

Целью нашей работы стало изучение фармакокинетики экспериментального коктейля холерных фагов на лабораторных животных.

В работу были отобраны 2 холерных фага из коллекции-депозитария лаборатории бактериофагов, обладающие высокой литической активностью в отношении холерных вибрионов серогруппы O1. Из данных фагов была создана композиция Rostov-M3 + Rostov-13 в соотношении 1:1.

Изучение биологических и генетических свойств фагов проводили общепринятыми методами.

Проведенное секвенирование и биоинформационный анализ показали, что в геномах данных бактериофагов не содержится генетических детерминант факторов резистентности и токсинов, характерных для умеренных фагов. Поэтому все отобранные фаги являются литическими, что позволяет рассматривать их в качестве компонентов профилактических препаратов против холеры.

Фармакокинетику экспериментального профилактического коктейля изучали на 12 морских свинках, которые были разделены на 3 группы по 4 особи (протокол №4 от 20.04.2022). Динамику выхода фагов из кишечника животных фиксировали через 3, 6, 9, 12, 24, 48 ч после однократного внутривенного введения 2 мл фагов Rostov-M3 ($n \times 10^8$ БОЕ/мл); Rostov-13 ($n \times 10^9$ БОЕ/мл) каждого отдельно и в составе смеси (1:1). Количество фаговых частиц определяли по числу негативных колоний (н.к.) в фекалиях по методу Грациа.

В результате работы установлено, что в испражнениях морских свинок в наибольшей концентрации определяется смесь фагов Rostov-M3 + Rostov-13 через 3, 6, 9 ч (24, 29, 31 н.к. соответственно) по сравнению с фагами, введенными отдельно. Фаговые частицы Rostov-M3 через 3 ч определялись в количестве 9 н.к., через 6 и 9 ч были обнаружены 17 и 23 н.к. Rostov-13 выявлен в фекалиях через 3, 6, 9 ч с численностью 13, 21, 28 н.к. соответственно. Показано, что максимальная концентрация данных фагов и смеси в кишечнике животных отмечена через 9 ч после их введения. Затем количество негативных колоний снижалось, и к 24 ч было зафиксировано 1 н.к. фага Rostov-M3, по 2 н.к. фага Rostov-13 и их смеси. Наличие фаговых частиц к 48 ч обнаружено не было.

Таким образом, в опытах *in vivo* показано, что бактериофаги, поступающие в желудочно-кишечный тракт, не выводятся сразу с экскрементами, а остаются в организме даже при отсутствии гомологичных к фагам культур в течении 24 ч.

Работа проведена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора.

Анализ устойчивости к дезинфектантам бактерий рода *Enterococcus*, выделенных из водных объектов г. Владивостока

Ускова С.С.¹, Мартынова А.В.^{1,2}

¹ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет», Владивосток, Российская Федерация;

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

Бактерии рода *Enterococcus* являются важным маркером фекального загрязнения водных объектов, однако характеристика идентифицируемых штаммов, включая основные характеристики их патогенности, а также устойчивости к антибактериальным химиопрепаратам и дезинфектантам, до сих пор изучаются спорадически и не позволяют говорить о полноценном мониторинге. Особенно это актуально по от-

ношению к дезинфектантам, так как последние играют важную роль в обеспечении здоровья населения и распространены более широко в окружающей среде прежде всего водных объектов как в городской черте, так и в сельской местности. Согласно данным последних литературных исследований, разбавленные и оставшиеся в окружающей среде дезинфицирующие средства могут повысить устойчивость бактерий за счет фенотипической адаптации, генных мутаций и горизонтального переноса генов [Cloete T.E., 2003].

На данный момент уже найдены микроорганизмы с множественной устойчивостью к действию антибиотиков, тяжелым металлам, в том числе и к дезинфектантам, представляющие серьезную угрозу для здоровья человека и экосистемы. Отчеты о механизме устойчивости к дезинфицирующим средствам недостаточно полны, а сводные данные о распространении устойчивости к дезинфицирующим средствам упоминаются редко [Tong C., Hu H., 2021].

В связи с отмеченным целью данной работы является изучение влияния дезинфицирующих средств на бактерии рода *Enterococcus*, выделенные из водных объектов г. Владивостока.

Материалы и методы. Материалом послужили 70 штаммов бактерий рода *Enterococcus*, выделенные из водных объектов г. Владивостока (бухта Золотой Рог и р. Вторая Речка).

Чувствительность к дезинфицирующим средствам определялась диско-диффузионным методом на среде АГВ. Стерильные диски из фильтровальной бумаги пропитывали такими растворами, как: «Белизна» (гипохлорит натрия 5% (NaOCl) (в разных концентрациях: 35, 70 и 140 мл/л); «Хлоргексидин» (хлоргексидина биглюконат 20%); «ДЕО-БАКТЕР» (алкилдиметилбензиламмонхлорид 18%).

Результаты. В ходе исследований было выявлено, что штаммы бактерий рода *Enterococcus*, выделенные из бухты Золотой Рог (территория г. Владивостока), проявляют устойчивость к гипохлориту натрия и биглюконату хлоргексидина, однако обладают чувствительностью к алкилдиметилбензиламмонхлориду. Бактерии рода *Enterococcus*, выделенные из р. Вторая Речка, оказались устойчивыми к действию гипохлорита натрия в концентрациях 35 и 70 мл/л и хлоргексидина биглюконату, но проявляли чувствительность к гипохлориту натрия в концентрации 140 мл/л и алкилдиметилбензиламмонхлориду.

Из полученных данных можно сделать вывод о том, что штаммы бактерий рода *Enterococcus* в общей картине устойчивы к действию дезинфицирующих средств, поскольку были выделены из среды с сильной антропогенной нагрузкой: в бухту Золотой Рог и р. Вторая Речка попадают бытовые, промышленные и медицинские сточные воды. Кроме того, выявленная устойчивость может быть связана с повсеместным использованием хлорсодержащих средств при очистке водопроводной воды и сточных вод, а также с применением в быту в качестве отбеливателей хлорсодержащих соединений.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы аспиранта Усковой С.С. при поддержке лаборатории морской микробиологии Института мирового океана ФГАО ДВФУ.

Молекулярно-клеточные механизмы взаимоотношения *Mycobacterium tuberculosis* с альвеолярными макрофагами – хозяевами инфекции в легких пациентов, больных туберкулезом

Уфимцева Е.Г.¹, Еремеева Н.И.^{2,3}

¹Научно-исследовательский институт биохимии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр фундаментальной и трансляционной медицины», Новосибирск, Российская Федерация;

²Институт дезинфектологии ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

³УНИИФ – филиал ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация;

³Уральский научно-исследовательский институт фтизиопульмонологии – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация

Mycobacterium tuberculosis (Mtb) – один из самых успешных патогенов человека: около 2 млрд населения нашей планеты инфицированы возбудителем туберкулеза (ТБ), почти 1,5 млн человек ежегодно умирают от ТБ-инфекции и ее осложнений. Распространение мультирезистентных штаммов Mtb, устойчивых одновременно к нескольким лекарственным препаратам, приняло характер мировой пандемии. В основе развития ТБ лежит внутриклеточная персистенция Mtb в макрофагах организма-хозяина. Для контроля количества и функционального состояния Mtb в альвеолярных макрофагах пациентов, больных различными формами остро прогрессирующего ТБ легких, нами разработана методика получения *ex vivo* культур альвеолярных макрофагов из операционного материала пациентов и их использования для анализа в течение первых суток с момента операции степени зараженности Mtb клеток-хозяев инфекции применительно к конкретному пациенту и ТБ-очагу в его легких, определения повышенной вирулентности патогена по наличию корд-колоний, аналога бактериальных биопленок, наиболее устойчивых к действию антибиотиков, в альвеолярных макрофагах пациентов, исследования механизмов взаимоотношения Mtb с клетками-хозяевами в различных ТБ-очагах из легких пациентов.

Установили, что Mtb с высокой и низкой вирулентностью, как одиночные, так и в колониях с разным количеством микробов, в том числе и с корд-морфологией, являются исключительно внутрифагосомальным патогеном в клетках легких при ТБ-заболевании человека. Фагосомы с Mtb динамично взаимодействуют с везикулярной транспортной системой клетки-хозяина, избегая при этом слияния с лизосомами. Сравнение зараженности Mtb альвеолярных макрофагов в стенках туберкулем и в тканях легких, удаленных от туберкулем, с одновременным анализом активационного и бактерицидного статусов альвеолярных макрофагов в этих районах легких пациентов определило стенки туберкулем, характеризующиеся недостаточным воспалением и микробицидной активацией, избыточным фиброзом, как одну из основ-

ных ниш выживания Mtb, в том числе и в колониях, в альвеолярных макрофагах исследованных пациентов.

Выявление факторов, участвующих в контроле Mtb-инфекции и развитии ТБ-патологии в легких пациентов, имеет решающее значение для разработки новых терапевтических стратегий и препаратов для эффективного лечения ТБ.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Протеомный анализ», поддержанного финансированием Минобрнауки России (соглашение №075-15-2021-691), в рамках государственного задания по Программе фундаментальных научных исследований на 2021–2030 гг., регистрационный номер темы НИР 122032300152-3.

Вспышки пищевых инфекций и эксфолиативного дерматита в период с 2018 по 2022 год в регионах Российской Федерации

Фурсова А.Д., Скрябин Ю.П., Мицевич И.П., Абаев И.В.

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

Staphylococcus aureus является широко распространенным микроорганизмом, способным вызывать разные по форме и тяжести инфекции, в том числе эксфолиативный дерматит новорожденных и пищевую токсикоинфекцию. Во ФБУН ГНЦ ПМБ за период с 2018 по 2022 г. методами молекулярно-генетического типирования были изучены 723 изолята *S. aureus* при расследовании 30 вспышек стафилококковых инфекций.

527 изолятов *S. aureus* были выделены и исследованы при 22 вспышках острой кишечной инфекции в 7 регионах России. Всего изучено 224 изолята *S. aureus* от заболевших, 100 изолятов из пищевых продуктов, 174 изолята от сотрудников пищеблоков и 29 изолятов из смывов с объектов окружающей среды. Наиболее массовые случаи пищевой инфекции произошли в 2019 г. в Красноярске и Алуште, в 2020 г. в Иркутске, в 2021 г. в Вологде и в 2022 г. в Кызыле. При исследовании изолятов *S. aureus* на наличие генов энтеротоксинов – этиологических факторов, ответственных за клиническую картину пищевых инфекций, – чаще встречался ген энтеротоксина А (в 95 изолятах), реже – гены энтеротоксинов В и С (в 15 и 24 изолятах соответственно). Следует отметить, что во многих случаях в качестве материала для исследования случаев пищевой инфекции, в том числе от заболевших, брались мазки из зева и носа. Изоляты *S. aureus*, несущие гены энтеротоксинов, были выделены из пищевых продуктов при расследовании 6 вспышек, от сотрудников пищеблока – в 5 вспышках и из смывов с объектов окружающей среды – в 4 вспышках. При расследовании 9 вспышек было установлено, что *S. aureus* не являлся причиной острой кишечной инфекции.

При расследовании 8 вспышек эксфолиативного дерматита новорожденных в 3 регионах Российской Федерации было исследовано 111 изолятов *S. aureus*: 11 изолятов от заболевших, 70 от сотрудников родильных домов и род-

стенников пострадавших, 30 изолятов из смывов с объектов окружающей среды.

Гены этиологических агентов эксфолиативного дерматита, эксфолиативного токсина А и эксфолиативного токсина В, были выявлены в 16 и 11 изолятах *S. aureus* соответственно. Изоляты, несущие гены эксфолиативных токсинов А и В, были выделены из грудного молока матерей при расследовании одной вспышки эксфолиативного дерматита. В изолятах, полученных от сотрудников учреждений и из смывов с объектов окружающей среды, гены эксфолиативных токсинов А и В не были выявлены. При расследовании одной вспышки не было выявлено изолятов, несущих гены эксфолиативных токсинов.

Таким образом, подтверждена целесообразность использования методов молекулярно-генетического типирования для расследования вспышек стафилококковых инфекций. Из 22 вспышек острой кишечной инфекции только в 13 случаях установлена стафилококковая этиология инфекции. Из них при расследовании 6 вспышек удалось установить источник пищевой инфекции. При расследовании вспышек эксфолиативного дерматита показано наличие по крайней мере двух неродственных генетических линий *S. aureus*, возбудителей эксфолиативного дерматита новорожденных.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Некультивируемые формы бактерий

Хайтович А.Б.

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

В бактериальной клетке, при действии неблагоприятных факторов, существуют различные защитные механизмы сохранения жизнеспособности. Для большинства видов бактерий резко снижается метаболическая активность, прекращается размножение и рост на питательных средах, но при создании условий они восстанавливаются. Это явление называется некультивируемым состоянием (НС), а микроорганизмы в таком состоянии называют некультивируемыми формами (НФ). НС впервые было описано в 1981 г. Colwell R.R. et al. у *Vibrio cholerae*. Известно 85 видов бактерий в НФ, среди которых 18 непатогенных и 67 патогенных. Основными методами исследования НФ являются молекулярно-генетические методы: полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее модификации, лигазная цепная реакция, гибридизация тотальной клеточной РНК. На основе ПЦР был разработан метод доказательства жизнеспособности бактерий в НС, который заключается в нахождении короткоживущей, специфической молекулы мРНК, которая экспрессируется в НФ у животных, людей, в окружающей среде. В настоящее время известно несколько гипотез механизма перехода бактерий в НС. Одна из них – гипотеза Льюиса – базируется на наличии в клетке модулей «токсин–антитоксин». В бактериальной клетке антитоксин связывается с токсином и нейтрализует его, но под действием неблагоприятных факторов

происходит нарушение синтеза антитоксина, который не нейтрализуется и связывается с мишенью, блокируя метаболизм. Другая гипотеза – двухкомпонентная система передачи сигнала в клетку и ген, участвующий в выживании клеток в стрессовых условиях и регулирующий адаптацию к кислородному голоданию, переходит в НС (размер клетки уменьшается, метаболизм прекращается, изменяется цитоплазматическая мембрана, в ней увеличивается состав жирных кислот, изменяется мембранный потенциал). Для некоторых бактерий (*Shigella dysenteriae*) доказан активный транспорт метионина в клетки и включение его в белки. Установлено, что для различных видов бактерий сохраняется экспрессия факторов вирулентности, хотя активность их и снижена. *V. cholerae* в НС продуцирует экзотоксин, который способен возвращаться в активное состояние, попадая в организм человека. Известно, что при НС увеличивается количество рибулозодифосфаткарбоксилазы (фермента, катализирующего реакции цикла Кальвина), что свидетельствует об активации альтернативного метаболического пути. Установлено, что индукторами для НС у разных микробов могут быть различные факторы (свет, температура, химические вещества и т.д.). Одной из проблем НС является возможность его индукции антибиотиками. Бактерии в НС входят в состав биопленок. Возврат из НФ в культивируемое состояние может происходить после прекращения воздействия неблагоприятных факторов, но этот процесс в некоторых случаях протекает с затруднением из-за большого спектра условий, и для разных бактерий эти условия неодинаковы. НФ бактерий являются важным приспособительным механизмом в биологии микроорганизмов, способствующим выживанию бактерий в изменяющихся условиях окружающей среды и в организме. Наличие патогенных факторов не позволяет рассматривать НФ как форму покоя и указывает на возможность возникновения эпидемического процесса.

Спектр антител классов А, М, G к *Rickettsia conorii* у пациентов с подтвержденным методом ПЦР диагнозом «астраханская пятнистая лихорадка»

Чеканова Т.А.¹, Неталиева С.Ж.², Петремгвдлшвили К.¹,
Бабаева М.А.²

¹ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»
Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;
²ГБУЗ АО «Областная инфекционная клиническая
больница им. А.М.Ничоги», Астрахань,
Российская Федерация

Предварительный диагноз «астраханская пятнистая лихорадка» (АПЛ) устанавливают на основании клинико-эпидемиологических данных (сезонность, факт присасывания клещей рода *Rhipicephalus* и/или их нимф, сыпь, лихорадка). Для лабораторной верификации диагноза используют метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) и иммуноферментный анализ (ИФА) для определения антител класса М и G к *Rickettsia conorii*. Впервые в 2019 г. была показана высокая диагностическая значимость определения антител класса А к возбудителям клещевых риккетсиозов наряду с

определением специфических антител классов М и G, что было реализовано в патенте на изобретение (RU 2726484 С1, заявка №2019113159 от 29.04.2019 «Способ диагностики риккетсиозов группы клещевой пятнистой лихорадки, иммуноферментная диагностическая тест-система для его осуществления», авторы – Чеканова Т.А., Костарной А.В., Кондратьев А.В., Гинцбург А.Л.).

Цель работы – оценка спектра антител А, М, G к *R. conorii* у пациентов с подтвержденным методом ПЦР диагнозом АПЛ.

Материалы и методы. Дифференциально на наличие антител классов А, М, G к *R. conorii* исследованы 112 образцов сыворотки крови пациентов, госпитализированных в ОИКБ им. А.М.Ничоги в весенне-осенний период 2015–2016, 2018, 2021–2022 гг. с предварительным диагнозом АПЛ. Диагноз был подтвержден ПЦР с применением набора «АмплиСенс *Rickettsia conorii*-FL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора). Сыворотки крови также были проанализированы в ИФА с использованием набора «ELISA *Rickettsia conorii* IgG/IgM» (Vircell, Испания) и его модифицированного варианта для выявления IgA по ранее валидированному протоколу анализа.

Результаты. Антитела к *R. conorii* были определены в 109 из 112 образцов сыворотки крови. Наиболее часто определяли спектр IgM + IgG – 34 (31,2%) образца. Максимально возможный спектр IgA + IgM + IgG определили в 28 (25,7%) сыворотках, IgM – в 9 (8,3%), IgG – в 16 (14,7%). Одиночные IgA были определены в 22 (20,2%) сыворотках крови.

Вывод. Полученные результаты подтверждают высокую значимость такого маркера, как специфические иммуноглобулины класса А к *R. conorii*, в диагностике АПЛ. При отсутствии возможности проведения ПЦР-тестирования или при его отрицательном результате дополнительное выявление IgA к *R. conorii* способствует повышению диагностической чувствительности общепринятых лабораторных методов.

Работа выполнена в рамках НИОКТР «Совершенствование системы эпидемиологического мониторинга в РФ за природно-очаговыми трансмиссивными инфекциями бактериальной природы (клещевые возвратные лихорадки, риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки, коксиеллез, бартонеллез)».

Генетические варианты вируса Крымской-Конго геморрагической лихорадки, циркулировавшие на территории Ставропольского края в 2016–2021 годах

Чекрыгина Е.В.¹, Тищенко И.В.², Ростовцева Д.В.², Лисицкая Я.В.², Василенко Е.И.², Речицкая Н.О.², Волюнкина А.С.²

¹ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ставрополь, Российская Федерация;

²ФКУЗ «Ставропольский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ставрополь, Российская Федерация

Ставропольский край эндемичен по ряду вирусных природно-очаговых инфекций (ПОИ), наиболее актуальной из

которых является Крымская-Конго геморрагическая лихорадка (ККГЛ). Важным элементом эпидемиологического надзора за ПОИ в настоящее время становится молекулярно-эпидемиологический мониторинг, направленный на получение информации в режиме реального времени о генетических вариантах вирусов, циркулирующих в регионе, слежение за динамикой изменения генетической структуры популяций возбудителей, своевременное выявление новых генетических вариантов.

Цель работы – идентификация генетических вариантов вируса ККГЛ, циркулировавших в Ставропольском крае в 2016–2021 гг., анализ особенностей их распространения.

Материалы и методы. Для идентификации генетических вариантов вируса ККГЛ использовали образцы полевого и клинического материала, положительные на наличие РНК вируса ККГЛ. Молекулярное типирование РНК-изолятов вируса ККГЛ проводили на основе анализа нуклеотидной последовательности фрагментов кодирующих областей S-, M- и L-сегментов размером 537, 435 и 437 н.о. соответственно.

Результаты. Выполнено секвенирование участков S-, M- и L-сегментов генома РНК-изолятов вируса ККГЛ, выявленных в 102 пробах сывороток крови от больных ККГЛ, 38 суспензиях клещей (*Hyalomma marginatum*) и 1 пробе печени южного ежа, собранных в Ставропольском крае в 2016–2021 гг. Установлена принадлежность исследуемых РНК-изолятов вируса ККГЛ к двум генетическим линиям: Европа-1 и Европа-3. Варианты вируса ККГЛ генотипа Европа-1 выявлены в 100 (98%) пробах сыворотки крови от больных ККГЛ, 1 пробе печени ежа южного и 29 пулах клещей. Варианты вируса ККГЛ генотипа Европа-3 обнаружены в 2 (1,9%) пробах сыворотки крови от больных ККГЛ (с. Безопасное, Труновский район, 2016 г. и с. Софиевка, Ипатовский район, 2019 г.), а также 9 пулах клещей *H. marginatum* (с. Журавское, Новоселицкий район, 2021 г.).

В популяции вируса ККГЛ на территории Ставропольского края в период с 2016 по 2021 г. преобладали штаммы генетической линии Европа-1 (70,9–100% среди всех РНК-изолятов). Доминировали штаммы геноварианта VaVaVa линии Европа-1 (73,2–86,7% в 2016–2019 гг., 100% – в 2020 г., 51,6% – в 2021 г.). Среди реассортантных геновариантов преобладал вариант VaVbVa генетической линии Европа-1 (24,4% в 2016 г., 12,1–13,3% – в 2017–2019 гг., 9,7% – в 2021 г.). Доля РНК-изолятов вируса ККГЛ линии Европа-3 составляла 2,4–3,0 % (2016 и 2019 гг.) и возросла до 29,0% в 2021 г.

Генетический вариант VaVaVa линии Европа-1 циркулировал на большей части территории Ставропольского края, остальные геноварианты вируса ККГЛ распространены локально.

Таким образом, в результате исследований получены новые данные о генетической гетерогенности и особенностях распространения вариантов вируса ККГЛ на территории Ставропольского края. Полученная информация может быть использована при эпидемиологическом анализе случаев (вспышек) ККГЛ для определения источника и путей распространения инфекции, а также мониторинга природных очагов инфекции.

Оценка антибиотикорезистентности токсигенных штаммов *Vibrio cholerae*

Чемисова О.С., Цырулина О.А., Сагакянц М.М.,
Селянская Н.А., Тришина А.В., Носков А.К.

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт»
Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Холера – это острое инфекционное диарейное заболевание, вызываемое бактериями вида *Vibrio cholerae* и имеющее тенденцию к эпидемическому распространению. Вспышки холеры регистрируются ежегодно и насчитывают миллионы заболевших и тысячи случаев смерти. Сообщения о выделении многочисленных штаммов холерных вибрионов, обладающих устойчивостью к антибактериальным препаратам, ранее с успехом применявшихся для экстренной профилактики и лечения холеры, вызывают опасения.

Согласно МУК 4.2.2495-09, для определения чувствительности/устойчивости холерного вибриона используют антибиотики, именуемые препаратами первого ряда (доксидиклин, цiproфлоксацин (или офлоксацин, пefлоксацин), триметоприм/сульфаметоксазол (или триметоприм/сульфамонотоксин), фуразолидон, гентамицин, налидиксовая кислота) и препаратами второго ряда (тетрациклин, левомицетин, ампициллин, стрептомицин, канамицин, рифампицин, цефтриаксон или цефотаксим). В связи с увеличением частоты встречаемости устойчивых к антибиотикам штаммов представляется весьма важным оценить чувствительность и возможность применения других антибактериальных препаратов.

Цель работы – изучение антибиотикорезистентности токсигенных штаммов *V. cholerae* к широкому набору антибактериальных препаратов.

В исследование было взято 39 токсигенных штаммов *V. cholerae* O1, изолированных из клинического материала и из ООС на территории РФ и Украины в период с 2010 по 2014 г. Чувствительность/устойчивость определяли к 23 антибактериальным препаратам 10 классов, в том числе к азитромицину, который не включен в перечень антибиотиков, рекомендуемых для лечения холеры. Исследования проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 диско-диффузионным методом.

В связи с отсутствием в нормативных документах РФ критериев интерпретации результатов исследования *V. cholerae* относительно значений диаметров зон подавления роста для азитромицина использовали критерии для энтеробактерий в соответствии с рекомендациями EUCAST «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2021-01».

Установлено отсутствие штаммов *V. cholerae*, чувствительных ко всем исследуемым препаратам. Отмечена устойчивость всех взятых в исследование штаммов *V. cholerae* к фуразолидону и триметоприм/сульфаметоксазолу. Чувствительность всех исследованных штаммов *V. cholerae* (100%) зарегистрирована для азитромицина, амикацина и гентамицина. Все клинические штаммы, независимо от региона и периода выделения, были чувствительны к доксициклину. Устойчивость одновременно к двум антибиотикам класса тетрациклинов отмечена у одного штамма, изолиро-

ванного из воды в г. Ялте (2010), трех штаммов из воды в г. Мариуполе (2011). Необходимо отметить высокую долю штаммов, устойчивых к налидиксовой кислоте – 82,1%, что может свидетельствовать о накоплении детерминант устойчивости к препаратам класса фторхинолонов и снижению эффективности применения фторхинолонов *in vivo* даже при чувствительности *in vitro*. Зарегистрирована высокая доля штаммов, устойчивых к фторхинолонам: цiproфлоксацину – 64,1%, пefлоксацину – 84,6%, офлоксацину – 64,1%, норфлоксацину – 82,1%.

Таким образом, большинство штаммов *V. cholerae* O1, циркулирующих в настоящее время, обладают устойчивостью к препаратам, рекомендуемым для лечения холеры. Все штаммы были чувствительны лишь к амикацину, гентамицину и к отсутствующему в МУК 4.2.2495-09 азитромицину. В связи с этим возникает необходимость в дополнении критериев оценки чувствительности и переработке нормативной документации.

Питательные среды для индикации и идентификации возбудителя холеры

Шепелин А.П., Полосенко О.В., Шолохова Л.П.,
Марчихина И.И.

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

В связи с постановлением главного санитарного врача РФ «О дополнительных мерах по профилактике холеры в Российской Федерации» Роспотребнадзором рекомендовано в сфере охраны здоровья населения обеспечить готовность не только госпитальной, но и лабораторной базы. Организация противохолерных мероприятий – объем профилактических и противоэпидемических мероприятий – опирается прежде всего на результаты бактериологического анализа.

В соответствии с требованиями МУ 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня» и МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры» при исследовании материала на наличие *Vibrio cholerae* используются: пептон основной сухой, 1%-я пептонная вода, щелочной агар, TCBS-агар, среды Гисса, среда Ресселя, агар Клиггера, среда Хью-Лейфсона, среда Кларка. Специфическая активность питательных сред проводится с использованием тест-штаммов II–IV групп патогенности, включая *V. cholerae* O1 P-1 (145) классического биовара, *V. cholerae* O1 M-878 (890) биовара Эль Тор, *V. cholerae* не O1 P-9741, полученные из «ГКПМ-Оболенск».

Пептон основной сухой, 1%-я пептонная вода обеспечивают накопление холерного вибриона через 6 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Для селективного выделения и культивирования *V. cholerae* широкое применение нашли щелочной агар и дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения и культивирования возбудителя холеры и других энтеропатогенных вибрионов (TCBS-агар). Щелочной агар обеспечивает рост единичных колоний пред-

ставителей *V. cholerae* в типичной S-форме в виде круглых, гладких, голубоватых, прозрачных в проходящем свете колоний диаметром не менее 1,0 мм через 12 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. На TCBS агаре рост тест-штаммов *V. cholerae* – в виде круглых, гладких колоний желтого цвета, диаметром не менее 1,0 мм через 18 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Для дальнейшей идентификации холерных вибрионов используются: среда Ресселя, агар Клиггера, среды Гисса – для определения ферментации углеводов; среда Хью-Лейфсона – для определения типа расщепления глюкозы; постановка реакции Фогеса–Проскауэра (на ацетилметилкарбинол) с применением среды Кларка – для дифференциации биоваров холерных вибрионов O1.

Таким образом, использование комплекса питательных сред для накопления, дифференциального выделения и идентификации холерных вибрионов позволит своевременно выявить в исследуемом объекте наличие возбудителя холеры. ФБУН ГНЦ ПМБ имеет все возможности для обеспечения служб Роспотребнадзора качественными питательными средами для выделения возбудителя холеры.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры воды озер г. Челябинска за 2019–2021 годы

Щербакова Т.А., Ромазанова Д.К., Кухранова Л.И., Москвина Т.И., Петрова О.С.

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области», Челябинск, Российская Федерация

Холера продолжает оставаться приоритетной проблемой мирового здравоохранения в связи с существованием угрозы возникновения чрезвычайных ситуаций биолого-социального характера, имеющих международное значение и проявляющихся в виде интенсивных и масштабных эпидемий и вспышек на различных континентах мира.

Цель. Анализ результатов мониторинга холеры как одного из основных компонентов эпидемиологического надзора в озерах г. Челябинска.

Материалы и методы. Проведение исследований носило комплексный характер, включающий бактериологические исследования воды открытых водоемов, статистический метод исследований в динамике за 2019–2021 гг. В результате ретроспективного анализа проведено сравнение лабораторных данных исследований на возбудителей холеры, расчет статистических показателей: высеваемость *Vibrio cholerae* по O1/139 в озерах г. Челябинска, распределение среди выделенных культур вибрионов по группам Хейберга. Обработка статистических материалов проводилась на персональном компьютере с использованием стандартных прикладных компьютерных программ пакета Microsoft Office (2010).

Обязательному бактериологическому исследованию воды открытых водоемов на возбудителей холеры в г. Челябинске

подлежат стационарные точки водоемов 1-й категории, используемых в качестве источника для питьевого и хозяйственно-бытового обслуживания населения, вода из водоемов 2-й категории в местах рекреации и местах сброса хозяйственно-бытовых сточных вод, к которым относятся озеро Смолино, озеро Первое, Шершневское водохранилище.

При выборе точек для исследования на холерный вибрион учитывали характер использования водного объекта, количество и место сброса в водоемах сточных вод, гидрологическую характеристику водоема (на контроле 16 точек).

Результаты. Лабораторией ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Челябинской области» выполнены следующие исследования на наличие холерного вибриона согласно МУК 4.2.2870-11 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней» и МУК 4.2.2218-07 «Лабораторная диагностика холеры»:

1) Шершневское водохранилище – искусственный водоем площадью 39 км², созданный в 1963–1969 гг. на р. Миасс на территории г. Челябинска и Сосновского района Челябинской области между поселками Полетаево и Шершни. Шершневское водохранилище используется как основной источник водоснабжения Челябинска, а также его городов-спутников: Копейска, Коркино, Еманжелинска.

За период 2019–2021 гг. из Шершневского водохранилища на вибриофлору отобрано 80 проб воды, выполнено 180 исследований. Из них в 2019 г. было выделено 36 культур *V. cholerae* по O1/139, в 2020 г. – 26; в 2021 г. – 21. Высеваемость составила 46%. Чаще других в водоеме выделялись вибрионы II группы Хейберга (52 культуры, 62,6%), единичные находки – вибрионы III, IV групп Хейберга;

2) озеро Смолино – естественный слабосоленый водоем (памятник природы), расположенный на территории Ленинского и Советского районов Челябинска на юго-востоке города. На северном берегу поселок Смольноозерная заимка и жилой сектор Ленинского района. С востока к водоему подступают Береговой и Сухомесово. На юге через систему протоков Смолино сообщается с озером Исаково, на берегу которого расположились одноименный поселок и садовые участки. Западная часть – рекреационная (п. Заимка, карьеры, сады). Здесь находятся многочисленные гостиницы, базы отдыха.

Из озера Смолино на вибриофлору отобрано 135 проб воды, выполнено 270 исследований. Из них в 2019 г. была выделена 61 культура *V. cholerae* по O1/139, в 2020 г. – 59; в 2021 г. – 46. Высеваемость составила 61,5%. Чаще других в водоеме выделялись вибрионы I группы Хейберга (89 культур, 32,9%), II группы Хейберга (75 культур, 27,7%), единичные находки – вибрионы III, IV групп Хейберга;

3) Первое озеро по происхождению является карстовым: равнинное озеро Зауралья на границе Зауральской возвышенной равнины с Западно-Сибирской низменностью. Вместе с озерами Второе (восточнее) и Шелюгино (южнее), за которыми следуют Третье и Четвертое, входит в систему технологических водоемов. Площадь 18,7 км². В естественном состоянии озеро имело незначительные размеры, было соленым, в засушливые годы высыхало до дна.

Из озера Первое за 3 года на вибриофлору отобрано 54 пробы воды, выполнено 108 исследований. Из них в

2019 г. было выделено 20 культур *V. cholerae* по O1/139, в 2020 г. – 20; в 2021 г. – 15. Высеваемость составила 50,9%. Чаще других в водоеме выделялись вибрионы II группы Хейберга (32 культуры, 29,6%), I группы Хейберга (21 культура, 19,4%), единичные находки – вибрионы III, IV групп Хейберга.

Выводы:

1. В озерах г. Челябинска выявлена циркуляция *V. cholerae* по O1/139.

2. За 3 года лабораторией выполнено 558 исследований воды из озер г. Челябинска на возбудителей холеры, выделено 304 культуры *V. cholerae* по O1/139.

3. Высеваемость *V. cholerae* по O1/139 в воде озер г. Челябинска составляет: 46% – Шершневокское водохранилище; 50,9% – озеро Первое; 61,5% – озеро Смолино.

4. Вибрионы I группы Хейберга преобладают в озере Смолино (32,9%), вибрионы II группы Хейберга – в Шершневокском водохранилище (28,8%), озере Первом (29,6%).

5. Осуществление постоянного бактериологического контроля за состоянием вибриофлоры в воде открытых водоемов является эпидемиологически оправданным и дает возможность своевременно проводить комплекс противозидемических мероприятий.

Анализ зараженности клещей, снятых с людей в Подмоскowie, возбудителями боррелиоза

**Щит И.Ю., Решетняк Т.В., Говорунов И.Г.,
Фольмер А.В., Бикетов С.Ф**

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

Риск возникновения заболеваемости тесным образом связан с вероятностью контакта населения с возбудителями инфекционных заболеваний, чему активно способствуют специфические переносчики. Эпидемиологически значимыми переносчиками на территории России являются иксодовые клещи, которые в зависимости от вида могут содержать ряд бактериальных, вирусных или протозойных возбудителей инфекционных болезней человека и животных.

В последнее время отмечаются тенденции к расширению ареала обитания и увеличению периодов активности клещей. Полная информация о клещах и переносимых ими патогенах, актуальных для данного региона, может помочь правильно диагностировать заболевание и назначить своевременное лечение.

Целью настоящей работы был анализ обсемененности иксодовых клещей, снятых с людей в двух населенных пунктах на юге Московской области, возбудителями иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ).

Материалы и методы. В 2017–2020 гг. в медицинские учреждения п. Оболенск (г.о. Серпухов) и г. Протвино Московской области по поводу укуса клещей обратились 533 человека. Укусы регистрировались в весенне-осенний период (апрель, октябрь). Нужно отметить, что данные населенные пункты располагаются в лесных массивах. Число обращений в медучреждение по годам колебалось в пределах 53–147 случаев/год. Исследование клещей, снятых с людей, на наличие возбудителей ИКБ проводили методом полимеразной цепной реакции по стандартной методике (Щит И.Ю. и соавт., 2021).

Результаты. В результате проведенных исследований установлено, что зараженность клещей колебалась в широких пределах – от 5,4 до 19%. Типирование возбудителей выявило наличие в образцах следующих представителей рода *Borrelia*: *B. afzelii* (преобладающий вид), *B. garinii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. valaisiana*.

Инфицирование *B. burgdorferi* в большинстве случаев проявляется артритом, *B. garinii* чаще вызывает расстройства нервной системы, *B. afzelii* – кожные хронические заболевания. Данные три геновида являются основными возбудителями наиболее распространенного заболевания, передаваемого клещами, – болезни Лайма. Патогенный потенциал *B. valaisiana* на сегодняшний день полностью не изучен.

Эти результаты подтверждают распространение возбудителей ИКБ (болезнь Лайма) в Подмоскowie в последние годы. Заболевание ранее не регистрировались в регионе, возможно, из-за отсутствия переносчиков, ареал распространения которых расширяется вследствие потепления климата в последние годы.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Проблемы учета заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации с использованием баз данных

И.Г.Говорунов

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

Статья посвящена вопросам мониторинга заболеваемости инфекционными заболеваниями на примере туляремии на территории Российской Федерации с использованием технологии баз данных. Описаны история создания базы данных «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации», ее структура и функциональные возможности. Обозначены проблемы и перспективы данной технологии.

Ключевые слова: туляремия, мониторинг заболеваемости, база данных

Для цитирования: Говорунов И.Г. Проблемы учета заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации с использованием баз данных. Бактериология. 2022; 7(3): 83–87. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-83-87

Problems of recording the incidence of tularemia in the Russian Federation using databases

I.G.Govorunov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The article is devoted to the issues of monitoring of the incidence of infectious diseases on the example of tularemia in the Russian Federation using database technology. The history of the creation of the database «The incidence of tularemia in the territory of the Russian Federation», its structure and functionality are described. The problems and prospects of this technology are outlined.

Key words: tularemia, morbidity monitoring, database

For citation: Govorunov I.G. Problems of recording the incidence of tularemia in the Russian Federation using databases. Bacteriology. 2022; 7(3): 83–87. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-83-87

Туляремия – особо опасное инфекционное заболевание. Возбудитель – грамтрицательная бактерия *Francisella tularensis* – часто вызывает системное заболевание с потенциальным распространением бактерий на всю ретикулоэндотелиальную систему в результате внутриклеточного образа жизни и способности размножаться внутри фагоцитарных клеток, таких как макрофаги.

Широкий спектр видов животных восприимчив к возбудителю инфекции, но за большинство случаев заболевания человека ответственны зайцеобразные и мелкие грызуны. Люди заражаются при прямом контакте с инфицированными животными, при укусах членистоногих или после контакта с зараженными объектами окружающей среды.

Для корреспонденции:

Говорунов Игорь Геннадиевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0046

E-mail: govorunov@obolensk.org

Статья поступила 17.08.2022 г., принята к печати 15.09.2022 г.

Наряду с теплокровными хозяевами, возбудителя туляремии обнаруживают в клетках простейших одноклеточных [1, 2].

Туляремия проявляется в разнообразных формах – от легкой, схожей с простудой, до хронических, приводящих к инвалидности, а иногда и к смерти. Высокая смертность от легочной формы туляремии объясняет потенциальное использование *F. tularensis* в военных целях и в актах биотерроризма.

В зависимости от способа проникновения бактерий в организм хозяина и возникающих в результате этого клинических проявлений различают шесть основных синдромов: язвенно-железистая форма (кожа), окулוגландулярная форма (слизистая оболочка конъюнктивы), ротоглоточная форма (слизистая оболочка пищеварительного тракта), пневмони-

For correspondence:

Igor G. Govorunov, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of Leading Researcher, Information Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, 142279 Obolensk, City District Serpukhov, Moscow Region.
Phone: (4967) 36-0046

E-mail: govorunov@obolensk.org

The article was received 17.08.2022, accepted for publication 15.09.2022

ческая форма (слизистая оболочка дыхательных путей или ткань легкого через бактериемию) и брюшной тиф (тяжелое системное заболевание без обнаруживаемых входных ворот или локальной инфекции).

Большинство стран северного полушария эндемичны по туляремии. Более вирулентные штаммы возбудителя распространены в Северной Америке, менее вирулентные – в странах северного полушария и Австралии (рис. 1) [3].

В Российской Федерации (РФ) по экономической значимости в период 2015–2020 гг. туляремия занимала 26–28-е места из 35 приоритетных инфекционных болезней, а экономический ущерб оценивался суммой от 8,1 до 31,3 млн руб. в год [4–9]. С 1965 г. заболеваемость туляремией по стране находится на относительно низком уровне (100–200 случаев в год), но ряд лет отмечен значительными вспышками туляремии (1978, 1981, 1993, 1995, 2005, 2013) [10]. Однако это заболевание относят к особо опасным ввиду высокой патогенности возбудителя, широкого распространения на территории РФ, а также возможного использования возбудителя туляремии в качестве агента биологического оружия [11].

В соответствии с принятыми нормами [12] в медицинских учреждениях все случаи заболевания людей туляремией регистрируются, собирается эпидемиологический анамнез и оформляется соответствующая медицинская документация (карта эпизоотолого-эпидемиологического обследования очага зоонозного заболевания, включающая вкладной лист со сведениями о больном, – форма №391/У).

В рамках функционирования референс-центра по мониторингу за туляремией при ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» от центральных и региональных Центров гигиены и эпидемиологии были получены электронные копии форм №391/У и других первичных медицинских документов. Для учета, хранения, анализа и презентации данных о случаях заболевания туляремией была разработана и зарегистрирована база данных «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации» [13]. Несмотря на то, что по этой базе данных ранее опубликовано несколько работ [14–17], нам представляется целесообразным описание истории ее создания и развития, структуры и возможностей, а также обсуждение проблем, связанных с использованием данной технологии в эпиднадзоре инфекционных заболеваний на территории РФ.

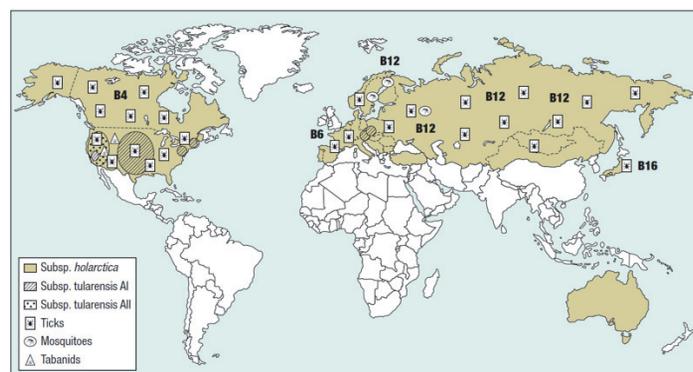


Рис. 1. Распространение возбудителя туляремии в мире.

Материалы и методы

База данных построена с использованием следующего программного обеспечения:

Наименование	Предназначение
Microsoft Access 2013 и выше	Формирование/ведение баз данных; создание SQL-запросов; построитель отчетов, выводимых на печать; экспорт данных в целях анализа и презентации
Google Earth Pro (7.1.2.2041)	Визуализация пространственно-временных данных из поступающих для исследования материалов
Microsoft Excel 2013 и выше	Импорт таблиц из базы данных, построение графиков и диаграмм
Графические программы MS Paint, Adobe Photoshop	Создание (редактирование) графических материалов для визуализации данных

База данных построена на основе первичной медицинской документации относительно случаев заболеваемости туляремией – карт «эпидемиологического обследования очага инфекционного заболевания» (учетные формы 357/У, 391/У и вкладные листы к ним) за период 2012–2022 гг., полученных из региональных центров гигиены и эпидемиологии, а также из ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора (В.П.Попов). Документы были получены в виде отдельных отсканированных страниц в графическом формате (jpg). Они были сформированы в отдельные документы формата PDF по каждому случаю заболевания. На основе информации из этих файлов была спроектирована и заполнена база данных, включая экранную форму ввода, несколько запросов и макросы экспорта данных.

Результаты и обсуждение

Рассматриваемая база данных с момента регистрации претерпела ряд изменений и в настоящее время включает в себя: форму ввода, одну основную и три вспомогательные таблицы, несколько запросов и специальные макросы для экспорта данных. На настоящий момент база данных содержит 420 записей о случаях заболевания туляремией на территории России за период с 2012–2022 гг.

Следует отметить, что в целях соблюдения законодательства о персональных данных база данных физически находится на одном персональном компьютере, доступна ограниченному кругу сотрудников Центра, задействованных в мониторинге инфекционных заболеваний. Из персональных данных в базе размещены только пол и возраст больного. Кроме того, указан адрес не места жительства, а места, где произошло заражение.

Основная таблица базы данных содержит следующие поля (таблица).

Поле «Первоначальный диагноз» было введено в базу данных после того, как обнаружилось, что почти в половине случаев заболевания согласно медицинским документам этот диагноз ошибочен, даже в эндемичных по туляремии районах [17]. Поля «Форма заболевания» и «Тяжесть течения заболевания» заполняются в экранной форме при помощи выпадающих списков, созданных на основе первичных медицинских документов.

Поля географических координат места, где произошло заражение (широта и долгота), служат для экспорта данных в геосервис Google Earth (Планета Земля) в целях визуализации (см. ниже). Эти координаты находили либо при помощи геосервиса Google Earth, либо при помощи Яндекс Карт (<https://yandex.ru/maps>).

Поле «Источник информации» было введено в базу данных после того, как обнаружилось, что учет заболеваемости туляремией ведется по месту обращения/лечения больного, а не по месту его заражения. Таким образом, Москва и Санкт-Петербург превратились в территории, эндемичные по туляремии, каковыми они на самом деле не являются [17].

Поле «Приложение» содержит вложенные электронные копии первичных медицинских документов, что позволяет при необходимости обратиться к первоисточнику информации (рис. 2).

Код	Дата	Первоначальн	Диагноз1	Пол	Воз	Регион	Лес по дороге от
1	05.09.2021	Правильный		муж	9	Архангельская область	Лес по дороге от
2	15.02.2021	Правильный		муж	56	Брянская область	г. Карачев, ул. Го
3	19.07.2020	Правильный		жен	66	Ямало-Ненецкий авто	г. Лабытнанги, у
4	11.05.2020	Неправильный	острый лимфаден	жен	16	Челябинская область	Аргаяшский рай
5	20.08.2019	Неправильный	лихорадка неясно	муж	64	Вологодская область	Шемогдское с/п
6	10.06.2021	Неправильный	подмышечный лим	муж	35	Вологодская область	г. Вологда, ул. Че
7	25.07.2018	Правильный		жен	9	Омская область	рп Любинский, у
8	29.08.2018	Правильный		муж	42	Омская область	г. Омск, просп. К
9	10.05.2018	Неправильный	острый левосторон	жен	9	Омская область	п. Одесское, ул. С
10	07.07.2018	Неправильный	Лигаментит право	жен	9	Омская область	п. Желанное, ул.
11	06.02.2017	Правильный		жен		Ставропольский край	с. Красногварде
12	28.01.2017	Правильный		жен		Ставропольский край	с. Покровское, ул
13	23.01.2017	Неправильный	Не указан	муж	32	Ставропольский край	ул. Андриевског

Рис. 2. Скриншот основной таблицы базы данных.

Форма_Данные

Код: Данные О ЗАБОЛЕВАНИИ Первоначальный диагноз:

Начало заболевания:

Диагноз поставлен:

Форма заболевания:

Тяжесть течения:

Источник заражения:

Обстоятельства: В лесу за грибами

Анализ: Анализ на АТ к F.tularensis (РНГА) 01.10.21_1:640+++
15.10.21_отрицательный

Рис. 3. Скриншот экранной формы ввода.

Таблица. Список полей базы данных	
Имя поля	Примечания
ДАнные О ЗАБОЛЕВАНИИ	
Дата начала заболевания	
Первоначальный диагноз	Выпадающий список с вариантами: правильный, неправильный
Диагноз 1	В случае неправильного первоначального, поясняется какой именно
Дата постановки диагноза	
Форма заболевания	Выпадающий список с вариантами: бубонная, кожно-бубонная, язвенно-бубонная, ангинозно-бубонная, glandулярная, легочная, абдоминальная, ангинозно-glandулярная, глазо-бубонная, язвенно-некротическая, нет данных
Тяжесть течения заболевания	Выпадающий список с вариантами: легкая, острая, реконвалесценция, средняя, нет данных
Источник заражения	Выпадающий список с вариантами: укус насекомого; контакт с грызунами и продуктами их жизнедеятельности; контакт с зайцами; купание; вода, пища; укус клеща; прочие
Обстоятельства	
Анализ	Данные анализа крови, если таковые имеются
ДАнные О БОЛЬНОМ	
Пол	Выпадающий список с вариантами: мужской, женский
Возраст	Количество полных лет на момент заболевания
Наличие прививки	Выпадающий список с вариантами: да, нет
ГЕОДАнные	
Регион	
Округ	Наименование федерального округа
Район	
Адрес	Адрес места, где произошло заражение
Широта	Географические координаты места, где произошло заражение
Долгота	
ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ	
Источник информации	Организация, регистрировавшая случай заболевания
Приложение	Вложенные копии исходных медицинских документов

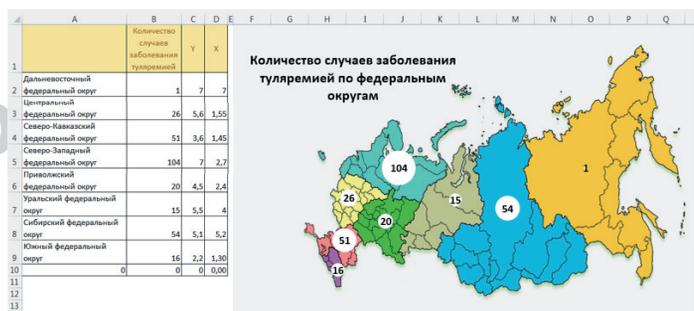


Рис. 4. Скриншот таблицы Excel по результатам выполнения команды макроса «Экспорт XCL».

Вспомогательные таблицы «Регионы», «Округа», «Источник заражения» предназначены для оптимизации процесса заполнения основной таблицы, а также для выполнения запросов о количестве случаев заболевания туляремией по регионам и субъектам РФ.

Форма «Ввод данных» предназначена для ввода исходной информации в основную таблицу, выполнения запросов и экспорта геопространственной информации в таблицу Excel для последующей презентации в форме графиков и в геопространственном сервисе Google Earth. Запросы в базе данных позволяют получать информацию об случаях заболеваемости по федеральным округам и регионам (рис. 3).

Из этой же экранной формы путем выполнения специально написанного макроса выполняется операция экспорта данных в таблицы Excel и файл формата KML. наглядно представить количественную информацию о заболеваемости туляремией по федеральным округам и регионам Российской Федерации. Специально подготовленные файлы Excel позволяют визуализировать обобщенную информацию о количестве случаев заболевания по регионам и федеральным округам РФ (рис. 4).

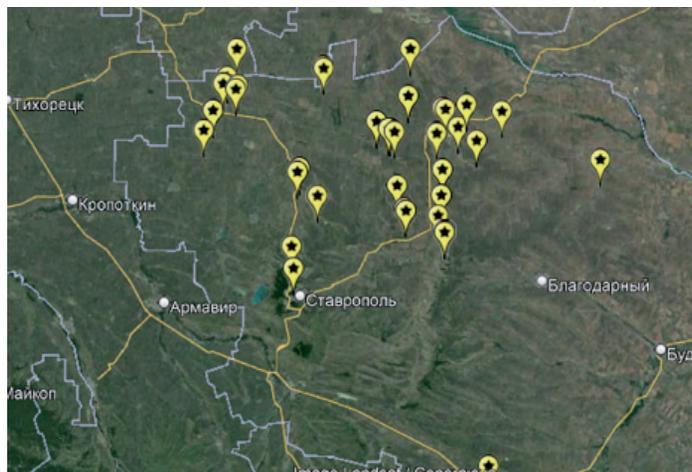


Рис. 5. Скриншот экрана геосервиса Google Earth. Цветные метки на карте отображают случаи заболевания туляремией.

Данные экспортируются в таблицу слева и визуально представлены в форме пузырьковой диаграммы, наложенной на карту рисунок региона. Размер пузырька пропорционален количеству случаев заболевания в регионе, указанному в его центре.

Файл формата KML открывается в программе Google Earth в виде точек, соответствующих местам заражения (рис. 5). К преимуществам использования этой программы относят следующие: (1) программное обеспечение бесплатно; (2) это самый распространенный браузер геоданных; (3) программа проста в использовании и интуитивно понятна; (4) она обеспечивает высококачественные изображения дистанционного зондирования и административные данные; (5) поддерживает формата файлов KML, легко используемый для обмена пространственными данными [18].

Настройки геосервиса позволяют визуализировать данные по заболеваемости туляремией по разным категориям (регион, источник заражения, дата заражения и пр.) в аналитических целях.

Таким образом, созданная база данных «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации» позволяет учитывать, хранить и анализировать данные о заболеваемости туляремией в России.

Однако в реализации этого современного подхода к эпидмониторингу на примере заболеваемости туляремией существует ряд проблем.

Прежде всего, это источник информации о заболеваниях. Как уже упоминалось, первый пул первичных медицинских документов был получен из ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора. В дальнейшем в целях обеспечения регулярного, легитимного и надежного источника информации в региональные центры гигиены и эпидемиологии от имени директора ФБУН ГНЦ ПМБ академика РАН И.А.Дятлова были направлены письма с просьбой о ежеквартальном представлении электронных копий первичной медицинской документации по случаям заболеваемости туляремией. Оперативно откликнулись Карелия, Крым, Омская область. Однако ряд региональных органов эпиднадзора ограничили отпиской «ознакомлен».

В настоящее время база данных ведется одним администратором. В случае увеличения объема поступающей информации или применения данного подхода для других на-

правлений эпиднадзора программное обеспечение Microsoft Access позволяет организовать заполнение баз данных удаленно, через соответствующие web-приложения. Однако в этом случае возрастает вероятность ошибок в заполнении по причине человеческого фактора.

Другой проблемой является качество представляемых электронных документов. Часть из них неполностью заполнены, иногда это рукописные тексты плохого качества.

Однако, несмотря на эти проблемы, можно заключить, что предложенная технология является эффективным инструментом хранения, анализа и презентации ретроспективных данных о заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Зуевский АП, Панова НС. Об инфицированности грунтовых вод возбудителем туляремии. Актуальные проблемы профилактики туляремии. Тезисы докладов Всесоюзной конференции (15-17 окт. 1991 г., г. Симферополь). М., 1991, с. 70-71.
2. Мирончук ЮВ, Мазепа АВ, Саппо СГ. Гидробиологические факторы в экологии *Francisella tularensis* (экспериментальные материалы). Журнал инфекционной патологии. 1998;4:58-63.
3. Max Maurin, 78 – Tularemia, Editor(s): Edward T. Ryan, David R. Hill, Tom Solomon, Naomi E. Aronson, Timothy P. Endy, Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases (Tenth Edition), Elsevier, 2020, Pages 630-635, ISBN 9780323555128, DOI: 10.1016/B978-0-323-55512-8.00078-8
4. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2016, 200 с.
5. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2017, 220 с.
6. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2017 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2018, 268 с.
7. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019, 254 с.
8. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад. М.:

- Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2020, 299 с.
9. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2021, 122 с.
 10. Медико-географический атлас России «Природно-очаговые болезни». Под ред. Малхазовой СМ. М.: Географический факультет МГУ; 2015, с. 96-102.
 11. Особо опасные инфекции для Российской Федерации [Electronic resource]. URL: <http://cgop.rospotrebnadzor.ru/content/63/2367> (accessed: 23.09.2021).
 12. СанПиН 3.3686-21. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней / утв. постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. №4 [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. Раздел XLIV. Профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573660140> (дата обращения: 03.02.2022).
 13. Борзенкова ВВ, Говорунов ИГ, Кудрявцева ТЮ. Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации: база данных. Свидетельство о регистрации базы данных RU 2018620877, 21.05.2018.
 14. Говорунов ИГ, Кудрявцева ТЮ. Проблемы мониторинга заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации. В кн.: Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018» Материалы IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума. 2018, с. 20-21.
 15. Кудрявцева ТЮ, Говорунов ИГ. Анализ заболеваемости и оценка риска инфицирования возбудителем туляремии на территории Центрального Федерального Округа России. В сборнике: SCVRT2018 Международная научная конференция Московского физико-технического института (государственного университета) Института физико-технической информатики. Труды Международной научной конференции. 2018, с. 307-309.
 16. Говорунов ИГ. Эпидобстановка по туляремии на территории Российской Федерации в 2017–2019 гг. В сборнике: Международная научная конференция SCVRT2019 «Ситуационные центры и информационно-аналитические системы класса 4i для задач мониторинга и безопасности» Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН и Научно-исследовательского центра физико-технической информатики. 2019. С. 84-89.
 17. Фольмер АВ, Говорунов ИГ. Некоторые аспекты мониторинга заболеваемости туляремией в Российской Федерации. В сборнике: Современная иммунопрофилактика: вызовы, возможности, перспективы: Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (7–8 октября 2021 г.). Под ред. академика РАН Акимкина ВГ. М.: ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; 2021, с. 80-81.
 18. Marek L, Tuček P, Pászto V. Using geovisual analytics in Google Earth to understand disease distribution: a case study of campylobacteriosis in the Czech Republic (2008–2012). *Int J Health Geogr.* 2015 Jan 28;14:7. DOI: 10.1186/1476-072X-14-7
 - Emerging Infectious Diseases (Tenth Edition), Elsevier, 2020, Pages 630-635, ISBN 9780323555128, DOI: 10.1016/B978-0-323-55512-8.00078-8
 4. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2015: State Report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2016, 200 p. (In Russian).
 5. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2016: State Report Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2017, 220 c. (In Russian).
 6. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2017: State Report Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2018, 268 c. (In Russian).
 7. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2018: State Report Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2019, 254 c. (In Russian).
 8. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2019: State Report Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2020, 299 c. (In Russian).
 9. On the state of sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2020: State Report Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2021, 122 c. (In Russian).
 10. Medico-geographical atlas of Russia "Natural focal diseases". Edited by Malkhazova SM. Moscow: Geographical Faculty of Moscow State University; 2015, pp. 96-102. (In Russian).
 11. Particularly dangerous infections for the Russian Federation [Electronic resource]. URL: <http://cgop.rospotrebnadzor.ru/content/63/2367> (accessed 23.09.2021). (In Russian).
 12. СанПиН 3.3686-21. Санитарные и эпидемиологические требования к профилактике инфекционных болезней / утверждено постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28 января 2021 г. №4 [Электронный ресурс] // КОДЕКС: электронный фонд правовых и нормативно-технических документов. Раздел XLIV. Профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. URL: <https://docs.cntd.ru/document/573660140> (accessed 03.02.2022). (In Russian).
 13. Borzenkova VV, Govorunov IG, Kudryavtseva TYu. The incidence of tularemia in the territory of the Russian Federation: database. Certificate of registration of the RU database 2018620877, 21.05.2018. (In Russian).
 14. Govorunov IG, Kudryavtseva TY. Problems of monitoring the incidence of tularemia in the territory of the Russian Federation. In: Microorganisms and the Biosphere "Microbios-2018" Proceedings of the IV National Congress of Bacteriologists and the International Symposium. 2018, pp. 20-21. (In Russian).
 15. Kudryavtseva TYu, Govorunov IG. Morbidity analysis and risk assessment of infection with tularemia pathogen in the Central Federal District of Russia. In the collection: SCVRT2018 International Scientific Conference of the Moscow Institute of Physics and Technology (State University) Institute of Physics and Technology Informatics Proceedings of the International Scientific Conference. 2018, pp. 307-309. (In Russian).
 16. Govorunov IG. Epidostatement of tularemia in the territory of the Russian Federation in 2017–2019. In: International Scientific Conference SCVRT2019 "Situational centers and information and analytical systems of class 4i for monitoring and security tasks" of the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences and the Research Center of Physical and Technical Informatics. 2019, pp. 84-89. (In Russian).
 17. Folmer AV, Govorunov IG. Some aspects of monitoring the incidence of tularemia in the Russian Federation. In: Modern immunoprophylaxis: challenges, opportunities, prospects: Collection of abstracts of the All-Russian Scientific and Practical Conference with international participation (October 7-8, 2021). Ed. Academician of the Russian Academy of Sciences Akimkin VG. Moscow: Central Research Institute of Epidemiology of Rosпотrebnadzor; 2021, pp. 80-81.
 18. Marek L, Tuček P, Pászto V. Using geovisual analytics in Google Earth to understand disease distribution: a case study of campylobacteriosis in the Czech Republic (2008–2012). *Int J Health Geogr.* 2015 Jan 28;14:7. DOI: 10.1186/1476-072X-14-7

References

1. Zuevskii AP, Panova NS. On the infection of groundwater with the causative agent of tularemia. Actual problems of prevention of tularemia. Abstracts of reports of the All-Union Conference (15-17 Oct 1991, Simferopol). Moscow, 1991, pp. 70-71. (In Russian).
2. Mironchuk YuV, Mazepa AV, Sappo SG. Hydrobiological factors in the ecology of *Francisella tularensis* (experimental materials). *Journal of Infectious Pathology.* 1998;4:58-63. (In Russian).
3. Max Maurin, 78 – Tularemia, Editor(s): Edward T. Ryan, David R. Hill, Tom Solomon, Naomi E. Aronson, Timothy P. Endy, Hunter's Tropical Medicine and

Оценка некоторых эксплуатационных характеристик инженерных систем биологической безопасности бактериологических лабораторий различных уровней защиты

Е.А.Тюрин, О.Б.Шишкина, С.А.Благодатских

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

В статье рассматривается вопрос о необходимости проведения регулярных контрольных мероприятий в лабораториях различных уровней защиты, проводящих диагностические, экспериментальные и производственные работы с микроорганизмами I–IV групп патогенности. Определены основные направления, принципы, характеристики, критерии и показатели эксплуатационных характеристик для оценки состояния инженерно-технического обеспечения биологической безопасности в лабораториях.

Ключевые слова: уровни безопасности, биологическая безопасность, инженерные системы биологической безопасности, контрольные показатели

Для цитирования: Тюрин Е.А., Шишкина О.Б., Благодатских С.А. Оценка некоторых эксплуатационных характеристик инженерных систем биологической безопасности бактериологических лабораторий различных уровней защиты. Бактериология. 2022; 7(3): 88–93. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-88-93

Evaluation of some operating characteristics of engineering biological safety systems of bacteriological laboratories with different protection levels

E.A.Tyurin, O.B.Shishkina, S.A.Blagodatskikh

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

The article deals with the need for regular control measures in laboratories, various levels of protection, conducting diagnostic, experimental and industrial work with microorganisms of I–IV pathogenicity groups. The main directions, principles, characteristics, criteria and indicators of operational characteristics for assessing the state of engineering and technical support of biological safety in laboratories have been determined.

Key words: safety levels, biological safety, engineering systems of biological safety, benchmarks

For citation: Tyurin E.A., Shishkina O.B., Blagodatskikh S.A. Evaluation of some operating characteristics of engineering biological safety systems of bacteriological laboratories with different protection levels. Bacteriology. 2022; 7(3): 88–93. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-88-93

Для корреспонденции:

Тюрин Евгений Александрович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0016
E-mail: turin@obolensk.org

Статья поступила 09.08.2022 г., принята к печати 15.09.2022 г.

For correspondence:

Eugene A. Tyurin, MD, PhD, Leading Researcher of the Laboratory of Biological Safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0016
E-mail: turin@obolensk.org

The article was received 09.08.2022, accepted for publication 15.09.2022

Современная научно-исследовательская или диагностическая лаборатория биологического профиля (бактериологическая или вирусологическая) – сложный инженерно-технический объект, насыщенный различными системами и оборудованием [1–5]. Для функционирования этого комплекса необходимы вспомогательные системы жизнеобеспечения, такие как холодное и горячее водоснабжение и водоотведение, электроснабжение, пар, сжатый воздух и оборотная вода. Все эти системы должны обеспечивать безопасное функционирование помещений комплекса, что, в свою очередь, возможно только в результате безотказной эксплуатации инженерных систем и технологического оборудования специального назначения, обеспечивающих высокий уровень биологической безопасности [1–4].

За многолетний период эксплуатации лабораторий различных уровней биологической защиты, действующих в нашей стране и за рубежом, накоплен большой теоретический и практический опыт. На его основе сформировался и эффективно действует комплекс инженерно-технических систем и средств, обеспечивающих биологическую безопасность учреждения [3, 5, 6]. К сожалению, от возникновения чрезвычайной ситуации на производстве не застрахован никто [7, 8]. Поэтому для обслуживания всего инженерно-технического комплекса требуется подготовленный штат специалистов по различным инженерно-техническим направлениям, обеспечивающий надлежащую эксплуатацию и ремонт оборудования.

При проведении микробиологических работ помимо основных продуктов, определяющих направление деятельности лаборатории, образуются отходы и материалы, могущие содержать патогенные биологические агенты (ПБА), неконтролируемый выход которых за пределы специализированных лабораторий может иметь неблагоприятные последствия. Для минимизации риска выхода ПБА за пределы контура необходимо проведение постоянного и периодического контроля эффективности защитных инженерно-технических средств и систем. Немаловажную часть системы защиты составляет персонал, работающий в этих помещениях и проводящий обслуживание лабораторных помещений. Деятельность такого персонала должна основываться на строгом соблюдении требований нормативных документов по безопасной работе с заведомо патогенными микроорганизмами, возможно патогенными или объектами, подозрительными на зараженность ПБА и, соответственно, опасными для человека [2, 8]. Согласно вышесказанному, для лабораторий различных уровней защиты требуются определенные условия, обеспечивающие функционирование комплекса защитных мер [1, 2, 5, 7, 9, 10]:

- применение правил безопасной работы, основанных на соблюдении положений нормативно-методических документов;
- постоянное поддержание высоких требований к состоянию здоровья персонала и контроль за ним, а также проведение специфической профилактики (при необходимости);
- наличие соответствующих поставленным задачам средств инженерно-технического оснащения для сдерживания ПБА;
- постоянный контроль эффективности работы инженерных систем.

Цель работы – проведение анализа и обоснование необходимости создания и эксплуатации инженерных систем биологической безопасности и их элементов, обеспечивающих безопасность персонала в лабораториях различных уровней защиты при проведении работ с целью недопущения выхода ПБА в окружающую среду.

Материалы и методы

В работе анализировали нормативно-методические документы, используемые для эксплуатации инженерных систем биологической безопасности и устройств, проводили анализ результатов и эксплуатационных характеристик, полученных на практике и обеспечивающих защиту сотрудников лабораторий в различных учреждениях и организациях путем проведения анализа протоколов и актов оценки эффективности работы систем, устройств и механизмов.

Результаты и обсуждение

Инженерно-техническое обеспечение биологической безопасности работ с ПБА имеет важное значение для защиты персонала и окружающей среды и является единым самодостаточным комплексом. В этот комплекс входят: система ограждающих строительных конструкций для качественной изоляции «заразных» помещений лабораторий от внешней среды; система приточно-вытяжной вентиляции и обеззараживания воздуха на высокоэффективных фильтрах класса не ниже H14 от аэрозолей патогенных микроорганизмов, применение различного защитного укрывного оборудования (боксов микробиологической безопасности, вытяжных шкафов, укрытий для центрифуг и дезинтеграторов различных типов, боксов для проведения реакций амплификации и т.п.); система сбора, обеззараживания и уничтожения твердых и жидких отходов; система использования средств индивидуальной защиты тела и органов дыхания; система контрольно-измерительных приборов и автоматики [1, 2].

Согласно действующей на территории Российской Федерации классификации патогенные микроорганизмы делят по отношению к человеку и теплокровным животным на четыре группы – от минимальной (IV группа) до максимальной (I группа) патогенности. Классификация, принятая в США, Канаде, Японии, а также используемая Всемирной организацией здравоохранения, отличается от существующей в России обратным порядком – микроорганизмы наиболее высокой степени патогенности у них отнесены к IV группе – и определяется «рисками» (таблица) [2, 9–11].

Сотрудникам лабораторий и представителям технических служб необходимо иметь соответствующую профессиональную и специальную квалификационную подготовку, в том числе и по вопросам биологической безопасности, основам микробиологии и эпидемиологии инфекционных заболеваний человека и животных. Сотрудники регулярно проходят аттестацию, переподготовку, специализацию и усовершенствование на курсах и тренингах [7, 10, 12, 13].

Современная бактериологическая лаборатория в обязательном порядке оснащена специальными инженерно-техническими средствами защиты и системами биологической безопасности, охранной, пожарной и аварийной сигнализа-

Группа патогенности	Группа риска – Название	Оценка риска	Уровень биобезопасности в лабораториях
IV	I – Отсутствие / низкая индивидуальная и общественная опасность	Микроорганизм, потенциально не являющийся возбудителем заболеваний человека или животных	Базовый уровень биобезопасности (УББ) 1
III–IV	II – Умеренная индивидуальная опасность, низкая общественная опасность	Патогенный микроорганизм, который может вызвать заболевание, но не представляет серьезного риска для персонала, населения, домашнего скота или окружающей среды. Неосторожность в лаборатории может вызвать инфекцию, однако существуют доступные лечебные и профилактические меры. Риск распространения ограничен	Базовый УББ 2 без накопления материала
II	III – Высокий индивидуальный и низкий общественный риск	Патогенный агент, который обычно вызывает серьезное заболевание человека или животных, но, как правило, не распространяется от больного к здоровому. Существуют эффективные лечебно-профилактические процедуры	Базовый УББ 2 без накопления материала. Изолированные – УББ 3
I	IV – Высокий индивидуальный и общественный риск	Патогенный агент вызывает обычно серьезное заболевание у человека или животных и легко распространяется от больного к здоровому или опосредованно. Эффективных мер в большинстве случаев не существует	Изолированные УББ 3, без накопления вирусов I группы максимально изолированные – УББ 4

ями. Требуемый технический уровень обеспечения безопасности работ необходимо ежегодно подтверждать с оформлением соответствующих документов в виде протоколов испытаний и актов проверки. Комплексное техническое обеспечение биологической и безопасности включает в себя:

- качественную изоляцию внутренних помещений лабораторий в виде контура герметизации с использованием передаточных шлюзов и переходных тамбуров;
- использование персоналом лаборатории и лицами, посещающими лабораторию (при необходимости) соответствующих средств индивидуальной защиты;
- применение аттестованного и сертифицированного защитного оборудования (вытяжных шкафов, боксов и т.п.) для выполнения лабораторных исследований;
- организованную систему приточно-вытяжной вентиляции для обеззараживания воздуха, выходящего за границу «заразной» зоны;
- регулярное проведение контрольных мероприятий по оценке защитной эффективности и работоспособности систем.

Приведенные требования относятся к изолированным лабораториям, в которых работают с микроорганизмами I–II группы патогенности в специальных зданиях, имеющих стандартный для каждого функционального блока набор помещений, штатный инженерно-технический комплекс систем биологической безопасности, который обслуживает квалифицированный собственный и/или приглашенный технический персонал.

Необходимо обеспечить биологическую безопасность средствами инженерной линии защиты по следующим стратегическим направлениям:

- создание и обеспечение внешнего и внутреннего изолирующих контуров внутреннего пространства лаборатории, между окружающей средой и смежными помещениями, ограждающими строительными конструкциями (ОСК);
- бесконтрольное распространение и сдерживание биологических аэрозолей (вентиляция, боксы микробиологической безопасности);
- бесконтрольное распространение жидких и твердых отходов (передаточные и обеззараживающие устройства) на границах зон.

Физическое состояние строительных конструкций и их соответствие требованиям безопасности проверяют не реже одного раза в год визуально, акустически, гидравлическими испытаниями межэтажных перекрытий (для реконструированных и вновь строящихся лабораторий). Но это способ возможен только в случае, если это предусмотрено проектом и приложенной соответствующей методикой. После выявления и устранения физических нарушений целостности ОСК выполняют контрольные измерения с применением инструментов, проводят анализ показаний приборов контроля с последующим выполнением расчетов и сравнением полученных данных с нормативными показателями. Физическое состояние строительных конструкций и их соответствие требованиям безопасности проверяют не реже одного раза в год.

Основа безопасного и эффективного применения систем воздухообмена в помещениях – обеспечение соблюдения направленности воздушного потока из зоны «чистой» в «загрязненную». Для вентилирования объема помещений микробиологического лабораторного бокса применяют принудительную общеобменную или локальную вентиляцию с фильтрацией подаваемого и удаляемого воздуха на фильтрах типа HEPA класса H13–H14. Особого внимания заслуживают вопросы, связанные с накоплением или аккумуляцией, т.е. способностью воздуха поглощать влагу, вредные пары и газы. Способность поглощения увеличивается с ростом температуры воздуха, тепловых избытков в лаборатории, так как современные микробиологические лаборатории имеют высокую степень оснащения оборудованием, которое является источником значительных тепловых поступлений. Практика показывает, что при монтаже вентиляционной сети и воздухораспределительных устройств особого внимания заслуживает их расположение по вертикали в микробиологических помещениях. Высотные отметки воздухопроводов приточных систем с воздухораспределительными устройствами следует размещать ниже отметки уровня электроосветительных приборов, а высотные отметки воздухопроводов для удаления потенциально контаминированного воздуха желательнее размещать выше уровня высотной отметки осветительных приборов. Это позволит лучше обеспечить проектные температурные режимы в лабораторных помещени-

ях, особенно в летний период. Для нормального функционирования помещений надо обеспечивать кондиционирование приточного воздуха для достижения разрешенных температур около 25°C, а также обеспечить отбор теплого воздуха из помещений, для чего воздухозаборники располагать в возможно верхней точке помещения. Кратность воздухообмена должна обеспечивать приток «свежего» воздуха без нарушения разницы давления между «заразной» и «чистой» зонами. Приточная и вытяжная системы должны располагаться, по возможности, как можно дальше друг от друга для одного помещения и функционировать стабильно, независимо от температуры и воздушных потоков окружающей среды здания.

Режим вентиляции в боксируемом контуре подлежит круглосуточному мониторингу. Регистрация параметров отражается на графиках, диаграммах и т.п. для каждого функционального блока. Вытяжной и технологический воздух обеззараживают на высокоэффективных фильтрах тонкой очистки воздуха типа HEPA класса H13 (для притока) и H14 (для вытяжки). Барьерную эффективность фильтров проверяют один раз в 3 мес. при работе с ПБА II группы и не реже одного раза в год при работе с ПБА III–IV групп. Методы контроля утечки (коэффициент проскока) определяют массовой или счётной концентрацией частиц. Для оперативного эксплуатационного контроля состояния и работоспособности системы вентиляции эксплуатационный и ремонтный персонал ведет оперативную документацию по формам, установленным и принятым в организации локальным документом. В оперативных документах фиксируют данные о работе вентиляционных систем. Кроме того, в оперативной службе должны быть заведены журналы периодической регистрации перепадов давления на фильтр-камерах по показаниям приборов визуального контроля. По графикам контроля специально подготовленный технический персонал проводит проверки и испытания оборудования и систем инженерной линии защиты. Информацию фиксируют в протоколах контроля аэродинамических и барьерных характеристик фильтрующих элементов, а также подготавливают протоколы результатов тестирования боксов микробиологической безопасности.

Для максимальной локализации и изоляции ПБА в микробиологических помещениях УББ предусмотрены укрытия и защитные устройства – боксы микробиологической безопасности (БМБ), которые устанавливают в микробиологических помещениях «заразной» зоны лаборатории. В БМБ постоянно контролируют защитную эффективность установленных в них фильтров. Минимизация риска вероятностного распространения аэрозольных частиц ПБА в пределах лабораторного помещения достигается соблюдением установленных нормативной документацией регламентов режима вентиляции ($P_{\min} = 50 \text{ Па}/5 \text{ мм в. ст.}$, $P_{\text{аб.мин}} = 100 \text{ Па}/10 \text{ мм в. ст.}$), а также предусмотренной проектом организации воздухообмена. Режим вентиляции обеспечивает направленность и скорость воздушного динамического потока на границе зоны лабораторного помещения.

В результате деятельности лабораторий помимо потенциально загрязненных воздушных потоков, циркулирующих в «заразной» зоне и очищаемых на высокоэффективных фильтрах очистки воздуха, необходимо обеззараживать твердые и жидкие отходы, которые образуются в процессе

проведения диагностических, производственных и научно-исследовательских работ и содержания экспериментальных животных.

Жидкие отходы (стоки) обеззараживают термическим или химическим методами. Режим обеззараживания контролируют приборами КИПиА. Параметры режима регистрируют на диаграмме процесса. При термическом методе обеззараживания жидких отходов применяют установки непрерывного или циклического обеззараживания на станциях тепловой обработки стоков. Метод термического обеззараживания стоков надежен и экологичен. Он позволяет не использовать дезинфицирующие средства и не требует дополнительных анализов остаточного количества химических веществ в сточных водах после проведения цикла обеззараживания.

При химическом методе обеззараживания применяют накопительные емкости для стоков, в которые засыпают сухой дезинфектант, перемешивают и выдерживают в течение определенного времени, но не менее 2 ч. При применении химического метода обеззараживания, кроме возможного загрязнения природного бассейна химическими веществами, в случае неоднородности поступающих жидких отходов и присутствия в них твердых включений, а также влияния человеческого фактора при засыпании реактивов, соблюдении времени экспозиции и т.д. полное обеззараживание стоков не гарантировано.

Комплекс инженерной линии защиты лаборатории с контролем параметров инженерно-технических и технологических систем, по нашему мнению, должен состоять из объектов, на которых постоянно ведут работы с ПБА, а также иметь соответствующие инженерные системы для обеспечения надлежащих условий соблюдения требований биологической безопасности:

- ОСК с элементами качественной изоляции «заразной» и «чистой» зон с надлежащим исполнением строительных швов, оконных и дверных проемов, бесшовным покрытием пола и потолка, выполненным из специальных конструкций или с применением технологии, позволяющей достигать ровной поверхности, окрашенной красителями, устойчивыми к применяемому моющему и дезинфицирующему растворам;
- принудительную приточно-вытяжную вентиляцию с воздуховодами, выполненными из материала, устойчивого к дезинфицирующим и моющим растворам, высокоэффективными фильтр-элементами тонкой очистки воздуха соответствующего класса, установленными на воздуховодах притока и удаления с целью очистки поступающего и деконтаминации потенциально загрязненного удаляемого воздуха;
- передаточные устройства, установленные на границах между «чистой» и «заразной» зонами лабораторного боксируемого контура помещений для обеззараживания передаваемых материалов или имущества;
- санитарные пропускники для санитарно-гигиенической обработки персонала лаборатории с достаточным набором помещений для переодевания и помывки после окончания работы с микроорганизмами, в случае возникновения аварийной ситуации или аварии;
- объектовую (учрежденческую) канализацию для приема и накопления стоков из «заразных» помещений лабораторий, с последующим обеззараживанием их в системах с га-

рантией безопасности окружающей среды, контролем остаточного содержания хлорсодержащих дезинфектантов при их применении и накоплении перед сбросом в канализацию.

Деятельность инженерно-технического персонала (штатного или приглашенного) в лабораториях основывается на коллективном опыте взаимодействия персонала, изучении и внедрении современного инженерного подхода в решении проблем защиты среды обитания человека от выхода ПБА.

Заключение

Благополучие среды обитания человека при эксплуатации лаборатории в данном регионе обеспечивается бесперебойной работой и постоянной эксплуатационной готовностью инженерно-технических систем и технологического оборудования, передовых технологий, методов и приемов выполнения работ, составляющих звенья единой цепи коллективной безопасности: «человек – инженерная защита – окружающая среда».

Принципы инженерного обеспечения биологической безопасности объекта едины для всех организаций, работающих с ПБА, независимо от места их размещения и ведомственной принадлежности. В связи с этим необходимо обучать инженерно-технический персонал приемам биологической безопасности при проведении работ в лабораториях, особенно с ПБА II группы, в условиях постоянного риска.

Только системный подход к реализации положений концепции безопасности биологических объектов, комплексного подхода к обслуживанию инженерно-технических систем и средств биологической безопасности и защиты с участием обученного инженерного и технического персонала, глубоко понимающего риски и осознающего последствия нарушений требований биологической безопасности, позволит обеспечить надежную биологическую безопасность лаборатории, организации или учреждения, в которых проводят диагностические, экспериментальные и производственные работы с ПБА в организациях, имеющих лаборатории различных уровней защиты.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectorial program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Найдёнов АЯ. Безопасность работ в микробиологических лабораториях. Защитная эффективность инженерных систем безопасности. М.: ДеЛи плюс; 2013, 224 с.
2. Дроздов СГ, Гарин НС, Джиндоян ЛС, Тарасенко ВМ. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина; 1987, 256 с.

3. Тюрин ЕА. Обеспечение требований биологической безопасности на биологически опасном объекте. Биозащита и биобезопасность. 2013;2:34-42.
4. Laboratory Biosafety Guidelines. 3rd edition. Canada. 2004, 113 p.
5. Дмитриева ВА, Боронин АМ, Дмитриев ВВ, Доброхотский ОН, Жариков ГА, Коломбет ЛВ, и др. Учебное пособие по биобезопасности. Пушино; Тула: Изд-во ТулГУ; 2013, 500 с.
6. Тюрин ЕА, Шишкина ОБ, Артеменко ЕВ. Современные требования к условиям эксплуатации инженерных систем биологической безопасности в учреждениях ветеринарии. Ветеринария. 2021;10:44-8. DOI: 10.30896/0042-4846
7. Тюрин ЕА, Чекан ЛВ, Маринин ЛИ, Дятлов ИА. Профессиональный риск сотрудников микробиологических лабораторий и меры его снижения. Анализ риска здоровья. 2014;3:44-50.
8. Тюрин ЕА. Индивидуальные и коллективные факторы биобезопасности. Жизнь без опасностей. 2010;5(4):148-53.
9. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях. 3-е изд. Всемирная организация здравоохранения. Женева, 2004, 139 с.
10. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112 Revised December 2009, 360 p.
11. Санитарные нормы и правила «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» СП 3.3686-21. 2021. 1092 с.
12. Федеральный закон «О промышленной безопасности опасных производственных объектов» от 21.07.1997 №116-ФЗ (ред. от 08.12.2020).
13. Чекан ЛВ, Тюрин ЕА, Маринин ЛИ. К вопросу оценки уровня профессионализма у сотрудников микробиологических лабораторий. Биозащита и биобезопасность. 2012;IV(2)(11):10-14.

References

1. Naidenov AY. Safety of work in microbiological laboratories. Protective efficiency of engineering security systems. Moscow: "DeLi" Publ., plus; 2013, 224 p. (In Russian).
2. Drozdov SG, Garin NS, Dzhindoyan LS, Tarasenko VM. Fundamentals of safety in microbiological and virological laboratories. Moscow: "Meditsina" Publ.; 1987, 256 p. (In Russian).
3. Tyurin EA. The securing of requirements of biological safety on biologically dangerous objects. Biozashchita i biobezopasnost'. 2013;2:34-42. (In Russian).
4. Laboratory Biosafety Guidelines. 3rd edition. Canada. 2004, 113 p. (In Russian).
5. Dmitrieva VA, Boronin AM, Dmitriev VV, Dobrohotsky ON, Zharkov GA, Colombet LV, et al. A biosafety textbook. Pushchino; Tula, 2013, 500 p.
6. Tyurin EA, Shishkina OB, Artemenko EV. Modern requirements for the life of the engineering systems of the world in veterinary institutions. Veterinary. 2021;10:44-8. DOI: 10.30896/0042-4846 (In Russian).
7. Tyurin EA, Checkan LV, Marinin LI, Dyatlov IA. Professional risks faced by microbiological laboratory workers and their mitigation measures. Health Risk Analysis. 2014;3:46-51. (In Russian).
8. Tyurin EA. Individual'nye i kollektivnye faktory biobezopasnosti. Zhizn' bez opasnostei. 2010;5(4):148-53. (In Russian).
9. Practical guide to biological safety in laboratory conditions. 3rd ed. World Health Organization. Geneva, 2004, 139 p. (In Russian).
10. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th Edition U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112 Revised December 2009, 360 p.
11. Sanitary norms and rules "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases" SP 3.3686-21. 2021. 1092 p. (In Russian).
12. Federal Law "On Industrial Safety of Hazardous Production Facilities" dated 21.07.1997 No 116-FZ (as amended on 08.12.2020) (In Russian).

13. Chekan LV, Tyurin EA, Marinin LI. K voprosu otsenki urovnya professionalizma u sotrudnikov mikrobiologicheskikh laboratorii. Biozashchita i biobezopasnost'. 2012;IV(2)(11):10-14. (In Russian).

Информация об авторах:

Шишкина Ольга Борисовна, ведущий инженер отдела эксплуатации и ремонта инженерных систем биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Благодатских Станислав Александрович, младший научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about authors:

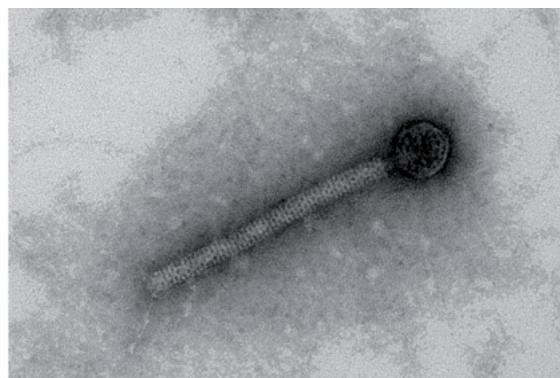
Olga B. Shishkina, Leading Engineer of the Department of Operation and Repair of Engineering Biological Safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Stanislav A. Blagodatskikh, junior researcher of the laboratory of biological safety, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

НОВОСТИ НАУКИ

Как бактериальные популяции защищаются от вирусных инфекций

Бактерии как одноклеточные организмы подвергаются атаке специализированных вирусов, так называемых бактериофагов или сокращенно фагов. Для защиты от фаговых инфекций бактерии обладают многоступенчатым защитным механизмом, который состоит из компонентов врожденной и приобретенной иммунной системы, как и у более сложных организмов. Он может прерывать течение инфекции в различных точках, например, предотвращая связывание фага с клеточной поверхностью и инъекцию ДНК фага в клетку, специфически удаляя чужеродную генетическую информацию или предотвращая репликацию фага в клетке. Исследовательской группе из Кильского университета удалось выявить дополнительный защитный механизм в этом каскаде бактериальной защиты.



Ученые исследовали белки семейства динаминов, участие которых в различных процессах в клеточных мембранах многоклеточных организмов уже было известно. Они обнаружили, что динамин также играет важную роль в защите бактерий от инфекций: поддерживая целостность клеточной мембраны, белки предотвращают разрыв бактериальных клеток и, таким образом, взрывное распространение фагов. Таким образом, они добавляют еще один барьер к защите бактерий от инфекции, что может препятствовать распространению вирусов в популяции бактерий, несмотря на уже инфицированные клетки.

Белки динамина участвуют во многих клеточных процессах в многоклеточных организмах, которые в основном связаны с взаимодействием с мембранами. К ним относятся, например, перетяжка мелких мембранных компонентов – везикул, которые у многоклеточных организмов транспортируют вещества-мессенджеры между клетками нервной системы. Несколько лет назад было доказано, что динамины также встречаются в одноклеточных организмах, таких как бактерии, где они способны удерживать компоненты мембраны вместе, образуя так называемые олигомеры.

Если бактериофаги встречаются с бактериальной популяцией, то от вида фага зависит, как протекает инфекция. Некоторые патогены проникают в бактерии и включают свой генетический материал в хромосому хозяина. Однако фаги только размножаются и, таким образом, имеют вредные последствия для бактериальных клеток, когда организм-хозяин подвергается стрессу. Этот режим также встречается у многочисленных вирусов, которые заражают людей и вызывают симптомы заболевания только тогда, когда иммунная система ослаблена. С другой стороны, литические бактериофаги, вызывают инфекционный цикл, предназначенный для прямого размножения и распространения. Если бактериальной клетке не удастся прервать это течение, инфекция заканчивается ее разрушением: фаговый белок перфорирует клеточную мембрану, что приводит к разрыву и последующему распространению фагов, которые затем вызывают многочисленные дальнейшие инфекции.

Чтобы прояснить вопрос о том, связан ли динамин с защитой от вирусов у бактерий, исследователи провели эксперименты с бактериальным модельным организмом *Bacillus subtilis*. Они исследовали, влияет ли присутствие или отсутствие динамина в бактериальных клетках на течение фаговой инфекции. Для этого они экспериментально создали разные бактериальные культуры, в которых динамин либо отсутствовал, либо был повышен. Оказалось, что при отсутствии динамина культуры становились очень чувствительными к фаговым инфекциям и заражались гораздо быстрее и эффективнее. Наоборот, клетки с усиленным динамином демонстрировали почти полную устойчивость к фаговым инфекциям.

Чтобы объяснить функциональную связь, исследователи шаг за шагом наблюдали за механизмом заражения и ролью в нем динамина. «Цикл первоначально протекает нормально от прикрепления фага до его размножения внутри клетки. Однако на самом деле динамин затем появляется в самом конце, связанном с дополнительным механизмом резистентности. Он обеспечивает лизис инфицированных клеток с задержкой, т.е. разрушаются медленнее и, главное, не взрываются», – говорит Брамкамп.

Last line of defense: How bacterial populations are protected against viral infections [Электронный ресурс]. URL: <https://phys.org/news/2022-02-line-defense-bacterial-populations-viral.html> (дата обращения: 01.03.2022).

Clostridioides difficile – возбудитель антибиотик-ассоциированной диареи и псевдомембранозного колита (часть 2)*

Б.В.Ерусланов, Э.А.Светоч, И.П.Мицевич, Н.К.Фурсова

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

Clostridioides difficile-инфекция (КДИ) широко распространена во многих странах мира, но особенно часто регистрируется в Северной Америке и Европе. Диагностируется инфекция и в Российской Федерации. *C. difficile* – возбудитель внутрибольничной инфекции (спорадических или вспышечных случаев), редко – внебольничной инфекции. Болезнь сопровождается диареей и часто псевдомембранозным колитом. Для инфекции характерны частые рецидивы. Основным источником токсигенных *C. difficile* – больные КДИ с клиникой диареи, бактерионосители и инфицированные животные. Основной путь заражения человека – фекально-оральный. Заражается человек при контакте с больными, бактерионосителями, с предметами, обсемененными спорами, инфицированными животными и при употреблении контаминированных продуктов питания. Основные факторы риска заражения КДИ – сниженная иммунологическая реактивность, генетическая предрасположенность, хронические патологии, длительная госпитализация и интенсивная антибиотикотерапия. Для профилактики КДИ и ее рецидивов разрабатываются новые подходы: создание вакцин, бактериотерапия, поиски новых антибиотиков, активных против *C. difficile*, но не влияющих на нормальную микрофлору. Лабораторная диагностика КДИ хорошо разработана. Для идентификации *C. difficile* используют культуральные методы, реакцию латекс-агглютинации, MALDI-TOF, иммуноферментный анализ, полимеразную цепную реакцию (ПЦР) и ее варианты – мультиплексную ПЦР, ПЦР в реальном времени, петлевую изотермическую реакцию амплификации (LAMP). Для эпидемиологического анализа используют методы генетического типирования.

Ключевые слова: эпидемиология, *Clostridioides difficile*-инфекция, риск заражения, полимеразная цепная реакция

Для цитирования: Ерусланов Б.В., Светоч Э.А., Мицевич И.П., Фурсова Н.К. *Clostridioides difficile* – возбудитель антибиотик-ассоциированной диареи и псевдомембранозного колита (часть 2). Бактериология. 2022; 7(3): 94–108. DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-94-108

Clostridioides difficile is the causative agent of antibiotic-associated diarrhea and pseudomembranous colitis (part 2)

B.V.Eruslanov, E.A.Svetoch, I.P.Mitsevich, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Clostridioides difficile-infection (CDI) is widespread in many countries of the world, but is particularly common in North America and Europe. The infection is also diagnosed in the Russian Federation. *C. difficile* is the causative agent of nosocomial infections (sporadic or outbreaks), rarely of nosocomial infections. The disease is accompanied by diarrhea and often by pseudomembranous colitis. The main source of toxigenic *C. difficile* is CDI patients with diarrhea, bacterial carriers, and infected animals. The main route of human infection is fecal-oral. Humans become infected by contact with patients, bacteria carriers, objects contaminated with spores, and animals. The main risk factors for CDI infection are decreased immunological reactivity, genetic predisposition, chronic pathologies, long-term hospitalization and intensive antibiotic therapy. New approaches are being developed for the prevention of CDI and its recurrence: the development of vaccines, bacteriotherapy, the search for new antibiotics active against *C. difficile*, but not affecting the normal microbiota. Laboratory diagnosis of CDI is well developed. *C. difficile* is identified by cultural methods, latex-agglutination reaction, MALDI-TOF MS, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), PCR and its variants, multiplex PCR, real-time PCR, loop isothermal amplification reaction (LAMP). Genetic typing methods are used for epidemiological analysis.

Key words: epidemiology, *Clostridioides difficile*-infection, risk of infection, PCR

For citation: Eruslanov B.V., Svetoch E.A., Mitsevich I.P., Fursova N.K. *Clostridioides difficile* is the causative agent of antibiotic-associated diarrhea and pseudomembranous colitis (part 2). Bacteriology. 2022; 7(3): 94–108. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2022-3-94-108

Для корреспонденции:

Фурсова Надежда Константиновна, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

Статья поступила 05.08.2022 г., принята к печати 15.09.2022 г.

For correspondence:

Nadezhda K. Fursova, Leading Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079
E-mail: fursova@obolensk.org

The article was received 05.08.2022, accepted for publication 15.09.2022

Эпидемиология

Clostridioides difficile-инфекция (КДИ) в настоящее время диагностируется во многих странах. Начиная с 2000-х гг. роль *C. difficile* в патологии человека постоянно возрастает. Возбудитель ответственен за развитие 10–20% случаев антибиотик-ассоциированных диарей, 50–75% антибиотик-ассоциированных колитов и практически все случаи псевдомембранозного колита [1]. *C. difficile* в основном выступает как возбудитель внутрибольничной инфекции, однако нередко патоген становится причиной внебольничных заболеваний.

Сравнительно часто случаи заболеваний регистрируют в странах Северной Америки и Европы. Ежегодно возрастает число заболевших в США: если в 2007 г. среди пациентов стационаров было зарегистрировано 82 тыс. случаев КДИ (31 на 100 тыс. чел.), то в 2020 г. это количество достигло 178 тыс. эпизодов (61 на 100 тыс. чел.). В 2021 г. число случаев КДИ увеличилось до 293 тыс. (95,3 на 100 тыс. чел.). Вместе с ростом числа заболевших КДИ отмечался и рост летальности среди больных: если в 2007 г. от КДИ умерло 793 чел., то в 2021 г. это число составило 29 тыс., то есть за 14 лет смертность увеличилась более чем в 35 раз. При этом уровень смертности среди лиц старше 65 лет составил 55,1 случая на 100 тыс. населения [2]. Исследования, проведенные в США, показали, что развитие КДИ у пациентов увеличивает продолжительность их госпитализации на 4,7–9,7 дня, при этом расходы на лечение возрастают в 1,5 раза. Ежегодно на лечение КДИ в США расходуется около 500 млн долл., а экономические потери от болезни составляют приблизительно 0,5–1 млрд долл. [2, 3].

Рост числа случаев внутрибольничной антибиотик-ассоциированной диареи, вызванной *C. difficile*, был зарегистрирован в Канаде (провинция Квебек): если в 2001 г. это число составляло 35,6 случая на 100 тыс. населения, то в 2020 г. оно достигло 156,3 случая на 100 тыс. населения. В возрастной группе госпитализированных пациентов старше 65 лет ежегодная заболеваемость увеличилась в 10 раз и к 2020 г. составила 866,5 случая на 100 тыс. населения. Среди лиц старше 80 лет показатель был равен 1681 случаю на 100 тыс. населения. Доля тяжелых эпизодов КДИ увеличилась с 7,1% в 2001 г. до 18,2% в 2020 г. [4].

В Германии в период с 2000 по 2020 г. число регистрируемых случаев КДИ выросло в 2 раза [5]. В 2020 г. *C. difficile* являлась наиболее частой причиной госпитализации больных: с диагнозом КДИ было госпитализировано 99 779 пациентов. Число летальных исходов среди больных КДИ выросло с 401 случая в 2000 г. до 4152 случаев в 2020 г. [6].

В Великобритании *C. difficile* – основной возбудитель внутрибольничной инфекции, ассоциированной с применением антибиотиков. В 2021 г. в Англии и Уэльсе было выявлено 49 785 случаев заболевания и 8324 смертельных исхода от него, что на 28% больше, чем в 2019 г. [7].

Уровень заболеваемости внутрибольничной диареей, вызванной *C. difficile*, в Испании и Бельгии в 2019 г., по опубликованным данным, составил 12,3 и 9,3% соответственно [8].

В странах Восточной Европы случаи КДИ в период 2010–2013 гг. регистрировались реже, чем в странах Западной Европы и США. Низкие показатели заболеваемости в указанный период были отмечены в Болгарии, Хорватии,

Румынии, Словакии и Чешской республике: 0,6–2,0 случая на 10 тыс. койко-дней. Частота выявления внутрибольничной КДИ в Польше в 2013 г. составила 12,5 случая на 10 тыс. койко-дней. Один из самых высоких показателей заболеваемости КДИ в 2013 г. был отмечен в Венгрии – 25,4 случая на 10 тыс. койко-дней, или 21,0 случая на 1000 госпитализаций. Уровень летальности среди заболевших составил 21,9%, при этом большее число смертельных исходов приходилось на лиц старше 60 лет (21,7%) [9].

Исследования, проведенные в Западной Австралии, также продемонстрировали увеличение заболеваемости КДИ: с 2,2 до 16,3 на 10 тыс. койко-дней в 2007 г. и в 2021 г. соответственно, при этом в 40% случаев болезнь протекала тяжело, а уровень смертельных исходов составлял 2,5%. Низкий показатель летальности по сравнению со странами Северной Америки и Европы, по мнению исследователей, объясняется отсутствием на территории Австралии гипервирулентных штаммов *C. difficile*, включая и самый распространенный риботип 027. Среди выявленных риботипов *C. difficile* в Западной Австралии преобладали риботипы 014 (24,3%), 024 (5,7%), 056 (5,7%) и 070 (5,7%) [10].

Наибольший уровень заболеваемости КДИ среди населения стран Азиатского региона в 2013 г. был отмечен в Южной Корее, здесь он составил 71,6 случая на 10 тыс. койко-дней, или 64,9 случая на 10 тыс. госпитализаций. У больных чаще всего выявляли штаммы *C. difficile* риботипов 018 (26,4%), 017 (15,7%) и 001 (14,3%). Гипервирулентный штамм *C. difficile* риботипа 027 был детектирован в 2,1% случаев инфекции. В этот же период (2013 г.) в Сингапуре было зарегистрировано 12,1 случая КДИ на 10 тыс. койко-дней [11]. Наименьший показатель заболеваемости КДИ отмечали в Японии: в 2007 г. он был равен 0,8 эпизода на 10 тыс. койко-дней, при этом летальность составила 3,4%. В 2018 г. показатель заболеваемости КДИ увеличился до 4,71 случая на 10 тыс. койко-дней, уровень смертельных исходов вырос до 15,1% [12]. По результатам исследований, проведенных в Китае в период 2008–2010 гг. и в 2014 г., *C. difficile* как причина внутрибольничной антибиотик-ассоциированной диареи были выявлены в 19,8 и 30,6% случаев соответственно [13].

Уровень распространения внутрибольничных и внебольничных случаев КДИ на 10 тыс. койко-дней в 2021 г. в странах Европы, Северной Америки и Австралии представлен на рис. 1.

КДИ, ассоциированная с диареей и псевдомембранозным колитом, начиная с 2000-х гг. диагностируется и в Российской Федерации (РФ), хотя данные о ее распространении в нашей стране весьма ограничены. При изучении причин диареи в период 2008–2011 гг. в многопрофильном стационаре г. Иркутска было установлено, что в 28,7% случаев возбудителем заболевания были *C. difficile* [15]. По данным другого исследования, среди пациентов гастроэнтерологического стационара г. Москвы в период 2012–2013 гг. на долю КДИ приходилось 39,1% случаев диареи [16]. В период с апреля 2016 г. по апрель 2017 г. было проведено многоцентровое исследование по изучению распространения КДИ в 12 крупных стационарах Москвы и Санкт-Петербурга. Полученные результаты показали, что в 21,7% случаев диарея у пациентов была вызвана *C. difficile*. При этом доля КДИ среди паци-

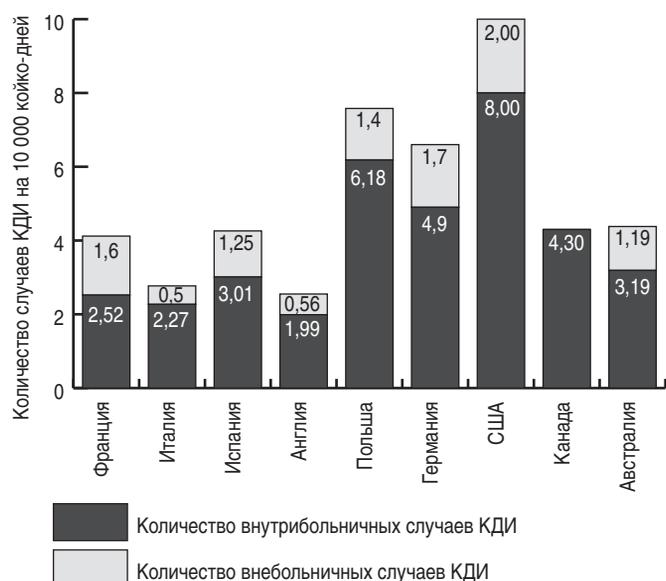


Рис. 1. Количество внутрибольничных и внебольничных случаев КДИ в разных странах мира, 2021 г. [14].

ентов хирургических отделений составила 26,2%, а в терапевтических и реанимационных отделениях – 17,8 и 17,4% соответственно. Инфекцию диагностировали чаще среди больных в возрасте старше 65 лет; наиболее высокий процент больных КДИ наблюдали в группе пациентов в возрасте 75–84 лет [17].

Помимо диареи, *C. difficile* является также возбудителем тяжелой формы КДИ-псевдомембранозного колита. Количество случаев псевдомембранозного колита, выявленных в 2021 г. в странах Европы и в РФ, представлено на рис. 2.

Благодаря налаженной во многих странах системе идентификации *C. difficile* в настоящее время установлено, что наибольшее распространение и наибольшее эпидемическое значение в этиологии КДИ имеет гипервирулентный штамм *C. difficile* риботипа 027, стремительно распространившийся по миру из Северной Америки в начале 2000-х гг.; по сравнению с другими риботипами штаммы риботипа 027 вызывают более тяжелое течение заболевания. Определенную угрозу для здоровья человека представляют *C. difficile* других риботипов: RT014 (Австралия, Новая Зеландия), RT023 (Европа) и RT078 (Бельгия) [7, 8, 10]. В РФ зарегистрированы *C. difficile* риботипов RT014 и RT017 [17]. В связи с распространением гипервирулентных штаммов *C. difficile*, таких как риботип 027, регистрируют не только спорадические случаи, но и крупные нозокомиальные вспышки с охватом значительного числа пациентов [19].

Источники патогена

Основным источником возбудителей КДИ являются больные пациенты с клиникой диареи, выделяющие с фекальными массами огромное количество спор *C. difficile*, длительно сохраняющихся во внешней среде. Благодаря



Рис. 2. Количество случаев заболеваний псевдомембранозным колитом, вызванных *C. difficile*, в 2021 г. в странах Европы и в РФ (на 10 тыс. чел.) [18].

высокой концентрации спор, их устойчивости к физическим и химическим факторам КДИ в лечебных учреждениях может приобретать эндемичный характер, то есть в таких стационарах постоянно присутствуют риски заражения пациентов КДИ.

Второй важный резервуар и источник токсигенных *C. difficile* – это люди-бактерионосители, не имеющие каких-либо симптомов заболевания. Чаще всего бактерионосителями выступают либо переболевшие КДИ пациенты, либо медицинский и обслуживающий персонал эндемичных по КДИ больниц. Указанная категория лиц представляет собой серьезную опасность для больных, находящихся на стационарном лечении.

Рассматривая вопросы бактерионосительства возбудителей КДИ, необходимо отличать этот феномен от бессимптомной колонизации кишечника людей бактериями *C. difficile*, случающейся у разных групп населения. В большинстве случаев такая колонизация бывает обусловлена нетоксигенными *C. difficile*, хотя возможна колонизация и токсигенными вариантами микроба. Высокий процент бессимптомной колонизации *C. difficile* отмечают у детей грудного и раннего возраста: уже к концу 4-й недели жизни обсемененность этим микробом отмечали у 37% обследованных детей, в дальнейшем этот показатель снижался и к концу года составлял 10%. Показано, что кишечник детей могут колонизовать и токсигенные штаммы *C. difficile* тех же риботипов, что и у взрослых бактерионосителей [20]. У здоровых взрослых людей бессимптомная колонизация обнаружена у 17,5% обследованных, в этой же категории людей частота носительства токсигенных штаммов *C. difficile* составляла от 1 до 5% [21].

Сельскохозяйственные животные (лошади, свиньи, крупный рогатый скот, страусы) также рассматриваются в качестве резервуара и источника токсигенных *C. difficile*. У всех перечисленных животных патоген (на фоне применения антибиотиков) может вызывать тяжелые энтероколиты, нередко заканчивающиеся гибелью животных. Особенно чувствительны к инфекции новорожденные животные: поросята, телята, а также страусы. Показано, что штаммы *C. difficile* риботипа 078, изолированные от телят, были генетически близки штаммам этого же риботипа, выделенным от людей. Этот факт говорит о реальной возможности заражения людей КДИ от инфицированных *C. difficile* животных [22]. Об этом косвенно свидетельствуют и результаты обнаружения бактерий *C. difficile* в мясных продуктах. Так, в Бельгии культуры *C. difficile* были выделены из 4,7–7,9% проб свинины и 2,3–7,0% проб говядины. Среди выделенных изолятов 50% принадлежали к риботипу 014, а 25% – к риботипу 078. Штаммы обоих риботипов были резистентны к моксифлоксацину, эритромицину и клиндамицину. Важно отметить, что если риботип 078 раньше в северном полушарии выделяли только от сельскохозяйственных животных, то в настоящее время его нередко обнаруживают у людей в европейских странах; по частоте выделения от людей риботип 078 сейчас занимает 3-е место [23, 24].

Человек может заразиться *C. difficile* также при употреблении овощей. По данным Rodriguez-Palacios, в США 2,4% проб свежих овощей содержали культуры *C. difficile*. Изоляты патогена, выделенные из листьев салата айсберг, зеленого

перца и баклажанов, оказались токсигенными и принадлежали к двум риботипам: RT027 (A⁺B⁺CDT⁺), устойчивому к моксифлоксацину и клиндамицину, и RT014 (A⁺B⁺CDT⁻), чувствительному к антибиотикам [25].

Благодаря образованию спор *C. difficile* обнаруживают в самых разных объектах внешней среды. Например, *C. difficile* были выделены в 85, 44 и 45% образцов речной, морской и озерной воды соответственно, взятых в странах Западной Европы; в образцах почвы и образцах воды 50% обследованных бассейнов [26].

Таким образом, представленные выше данные свидетельствуют о значительном разнообразии источников и резервуаров возбудителей КДИ, которые могут представлять определенную опасность для человека.

Основной путь заражения возбудителем КДИ – фекально-оральный. Люди инфицируются спорами патогена чаще всего при длительной госпитализации в лечебных учреждениях, где они могут контактировать с больными КДИ, медицинским персоналом – бактерионосителями, с предметами, обсемененными патогеном и т.д. (рис. 3). Особенно высок риск заразиться *C. difficile* у пациентов, госпитализированных в лечебных учреждениях, эндемичных по данной инфекции. Поскольку люди в подавляющем большинстве случаев заражаются, находясь в больницах на стационарном лечении, КДИ принято считать внутрибольничной (нозокомиальной). Тем не менее заражение человека может произойти и вне больничного учреждения, например при контакте с инфицированными *C. difficile* животными, при употреблении контаминированного патогеном воды, продуктов животного и растительного происхождения, при купании и т.д. В зависимости от того, какой источник *C. difficile* явился причиной развития КДИ, принято различать две формы *C. difficile*-инфекции: экзогенную, когда человек инфицировался патогеном извне, например при контакте с больными людьми или животными, и эндогенную, когда болезнь была индуцирована собственными эндогенными *C. difficile*, колонизовавшими кишечник еще до заболевания. Бессимптомные носители токсигенных *C. difficile* имеют более высокий риск развития у них инфекции по сравнению с пациентами, у которых этот патоген отсутствует [28].



Рис. 3. Эпидемиология нозокомиальной (внутрибольничной) инфекции, вызываемой *C. difficile* [27].

Клиника *C. difficile*-инфекции

Основной симптом КДИ – водянистая (не кровавая) диарея, сопровождающаяся болью в животе. КДИ можно заподозрить, если у пациента, находящегося на стационарном лечении, было отмечено три или более неоформленных либо водянистых стула в течение 1–2 дней. В последующие дни у пациента могут развиваться лихорадка, гипотензия и даже токсический шок; нередко у больного регистрируют лейкоцитоз и повышенный уровень креатинина в крови. КДИ может сопровождаться тяжелыми осложнениями: обезвоживанием, нарушением электролитного баланса, гипоальбуминемией, токсическим мегаколонном, почечной недостаточностью, сепсисом и синдромом воспалительного ответа (воспалительная реакция на поражение, вне зависимости от места его локализации; процесс идет при участии медиаторов воспаления с вовлечением всех систем организма). Развившийся у больного колит может поражать любой участок толстой или прямой кишок, но чаще всего в процесс вовлекаются их дистальные отделы. После прекращения диареи у больного может наступить непроходимость кишечника [36].

При клинической диагностике КДИ в первую очередь следует учитывать возраст пациента, продолжительность его госпитализации, применение антимикробных препаратов и протонных ингибиторов для его лечения. Sartelli et al. показали, что в 98% случаев больные КДИ подвергались лечению антимикробными препаратами примерно за 14 дней до появления у них диареи; на развитие инфекции, по мнению исследователей, могло влиять применение антибиотиков и в более поздние сроки – за 3–12 мес. до появления диареи [37, 38].

Современные тенденции в лечении КДИ

Применение антибиотиков широкого спектра действия для лечения кишечных инфекций, как показывает клиническая практика, нередко приводит к глубоким и продолжительным нарушениям количественного и качественного состава нормальной микробиоты кишечника у пациентов. Такие нарушения микробиоты кишечника и служат одним из важных условий возникновения и развития КДИ и ее рецидивов, нередко случающихся у первично переболевших КДИ пациентов. По этой причине постоянно проводятся поиски новых, альтернативных антибиотикам, стратегий профилактики и лечения КДИ и ее рецидивов.

Одно из таких перспективных направлений – **разработка вакцинных препаратов** против КДИ, способных либо защитить человека от токсинов *C. difficile*, либо предотвратить адгезию патогена к слизистой кишечника. Интересными в этом плане представляются исследования по конструированию рекомбинантной вакцины, где в качестве вектора-носителя генов протективных доменов С-концевых повторов токсинов TcdA и TcdB выступают споры *Bacillus subtilis*. Как следует из результатов эксперимента, хомяки, иммунизированные такими спорами и оставшиеся живыми после заражения, были защищены от повторного инфицирования их *C. difficile*, то есть от рецидива болезни [39].

В работе Réchiné et al. (2018) авторы иммунизировали мышей линии C57BL/6 химически синтезированным гаптеном PS-II (гексахарид 2), конъюгированным с белком-носителем – дифтерийным анатоксином CRM. Было показано, что иммунизированные этим антигеном мыши активно продуцировали IgG-антитела, специфичные к гаптену PS-II, и были защищены от заражения их гипервирулентным штаммом *C. difficile* риботипа 027. О перспективности использования гаптена PS-II в качестве протективного антигена свидетельствовал и тот факт, что в фекалиях 8 из 10 обследованных больных КДИ были обнаружены высокие титры секреторных IgA-антител, способных распознавать гексахарид 2 [40].

Приведенные примеры говорят о возможности создания эффективной вакцины против КДИ, серьезной и опасной для определенных групп населения инфекции.

Бактериотерапия – использование фекальных трансплантатов здоровых людей – еще одно новое направление в области лечения и профилактики КДИ и ее рецидивов. Известно, что рецидивы КДИ у пациентов, перенесших первичное заболевание и подвергшихся интенсивной антибиотикотерапии, встречаются довольно часто – в 35–50% случаев, причем могут повторяться многократно. Основная причина рецидивов, как мы уже отмечали выше, – это глубокие изменения (возможно, безвозвратные) состава нормальной микробиоты кишечника и снижение ее колонизационной резистентности под влиянием антимикробных препаратов. Собственно, на восстановление нормальной микробиоты и ее колонизационной резистентности и направлена трансплантация больным КДИ фекалий здоровых людей. Трансплантация фекалий в настоящее время рассматривается в качестве нового, альтернативного антибиотикам, метода лечения болезни и ее рецидивов. Эффективность этого метода успешно подтверждена: 239 пациентов из 317 после трансплантации фекалий выздоровели, и впоследствии рецидивов инфекции у них не отмечали. Другие способы лечения, по сравнению с бактериотерапией, не влияли скольконибудь существенно на частоту рецидивов у первично переболевших КДИ. Несмотря на необходимость дальнейшего изучения эффективности использования трансплантатов фекалий в лечении КДИ, этот подход считается биологически целесообразным, поскольку не предполагает применения антимикробных препаратов [41, 42].

Кроме разработки вакцин для профилактики КДИ и применения бактериотерапии (интродукции фекальной микробиоты), продолжают поиски **новых антимикробных препаратов**, активных против *C. difficile*, но не приносящих вреда нормальной микробиоте кишечника. Обычно после того как пациенту был поставлен диагноз КДИ, текущую антимикробную терапию прекращали. Лечение ограничивают применением метронидазола и ванкомицина, причем последний используют только при тяжелых или рецидивирующих случаях КДИ.

В 2018 г. для лечения КДИ был лицензирован новый макроциклический антибиотик **фидаксомицин**, который по сравнению с ванкомицином обладал большей активностью в отношении клинических изолятов *C. difficile* риботипа 027. Фидаксомицин имеет узкий спектр активности: он неэффективен против грамотрицательных бактерий, грибов и простейших, т.е. в меньшей степени нарушает состав нормальной микробиоты кишечника [43].

В 2020 г. компания Acurs Pharmaceuticals (США) предложила для лечения КДИ антимикробный препарат **ибезапол-**

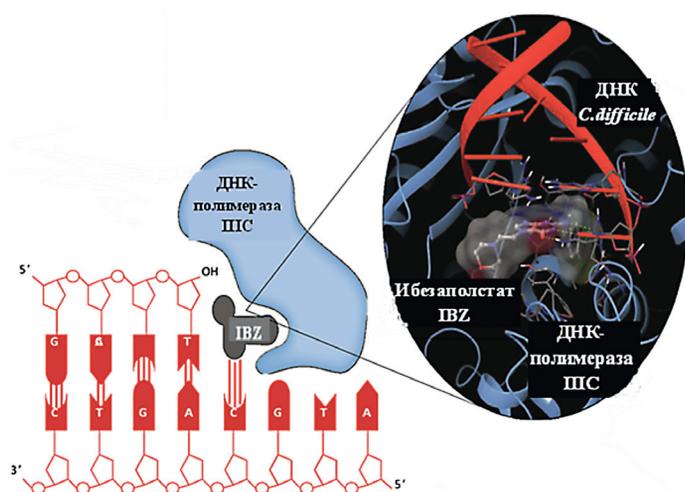


Рис. 5. Механизм действия ибезаполстата, селективного антибиотика, ингибирующего рост *C. difficile* [44].

стат – активный ингибитор ДНК-полимеразы III C (pol III C), необходимой для репликативного синтеза ДНК у грамположительных бактерий с низким уровнем состава G+C. Механизм действия этого нового антибактериального препарата представлен на рис. 5.

Важно отметить, что мишень для ибезаполстата – ДНК-полимераза III C – имеется только у определенных видов грамположительных бактерий: *C. difficile*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp. Клинические испытания ибезаполстата показали, что он активен в отношении всех 104 испытанных клинических изолятов *C. difficile* с МПК 1–8 мг/л. Препарат был также эффективен против штаммов родов *Enterococcus* и *Staphylococcus*, устойчивых, соответственно, к ванкомицину и метициллину, а также против полирезистентных штаммов рода *Streptococcus*. В то же время ибезаполстат был неактивен против многих грамотрицательных бактерий, включая критически важные для восстановления здорового микробиома кишечника актинобактерий. Кроме того, ибезаполстат поддерживал микробный профиль кишечника, благоприятный для метаболизма желчных кислот [45].

Лабораторная диагностика

Для диагностики КДИ используют бактериологические, иммунологические, молекулярно-генетические и другие методы.

Для выделения культуры *C. difficile* из исследуемого материала чаще всего применяют **селективную диагностическую среду циклосеринцефокситин-фруктозный агар (ССФА)** различных фирм-производителей (MERK, Германия; OXOID, Великобритания; HiMedia, Индия). Для этого рекомендованы и другие среды: «Бруцелла-агар» с цефокситином, циклоспорином и фруктозой; «Циклосерин-маннитовый кровяной агар» (СМВА); «Агар Шедлера» с 7% бараньей дефибринированной крови (Shedlers agar); «Бруцелла-агар» с 7% бараньей дефибринированной крови; «Сердечно-мозговая среда» с 7% бараньей дефибринированной крови; усиленный агар для клостридий с 7% бараньей дефибринированной крови; «Тиогликолевая среда» [46]. Для изоляции *C. difficile* используют также «Сульфитный агар» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Московская обл.) различных модификаций

(№1, №2 и №3). На «Сульфитном агаре №3» *C. difficile*, благодаря метаболизму соединений железа, образует характерные колонии черного цвета.

Образцы исследуемых фекалий засевают на одну из перечисленных выше сред и культивируют в строго анаэробных условиях в течение 24–48 ч при температуре 37°C. Для создания анаэробных условий используют анаэроостаты или газовые пакеты разных производителей. Выросшие на селективных средах колонии просматривают посредством фазово-контрастной микроскопии, отбирают характерные для *C. difficile* колонии и идентифицируют их по морфологическим, тинкториальным, ферментативным и антигенным признакам.

Сравнительно доступным, быстрым и простым специфическим методом идентификации *C. difficile* по антигенным свойствам является **реакция латекс-агглютинации (РЛА)**. Для постановки РЛА мы рекомендуем использовать отечественный диагностический тест «Латексная тест-система *C. difficile*» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Московская обл.). Диагностикум представляет собой суспензию полистирольных карбоксильных латексных частиц с иммобилизованными на них высокоаффинными иммуноглобулинами класса IgG, специфичными для полисахаридной фракции липополисахарида *C. difficile*. Если исследуемая колония (культура) принадлежит к виду *C. difficile*, то при добавлении к ней диагностикума происходит агглютинация латексных частиц – образование агглютинатов, которые видны невооруженным глазом. Время постановки реакции 1–5 мин; чувствительность реакции – 100%, специфичность – >90%.

Для идентификации *C. difficile* по наличию у них специфических рибосомальных белков в настоящее время многие лаборатории используют **MALDI-TOF** (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight – матричноактивированная лазерная десорбция/ионизация времяпролетная масс-спектрометрия). Метод основан на «мягкой» ионизации, вызванной импульсами лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом (рибосомальные белки). Метод MALDI-TOF является высокоспецифичным и позволяет за короткое время идентифицировать культуру *C. difficile* [47].

После идентификации вышеописанными методами культуры *C. difficile* у нее определяют способность продуцировать токсины или наличие генов токсинообразования. Для этого используют методы: нейтрализации цитотоксичности фильтратов, иммуноферментного анализа (ИФА), молекулярно-генетические методы.

Метод **нейтрализации цитотоксичности фильтратов** используют для обнаружения токсинов *C. difficile* (TcdA и TcdB) непосредственно в фильтратах фекалий пациентов. Выполняют тест по следующей схеме. Вначале на культуре клеток одной из линий (Нер 2, диплоидные фибробласты человека, клетки McCoу, фибробласты легких MRC-5, клетки Vero) определяют токсичность фильтратов. Для этого в культуру клеток вносят исследуемый фильтрат и систему инкубируют в течение 24–48 ч, после чего учитывают цитопатическое действие фильтрата на клетки. Если культура клеток после добавления фильтрата гибнет, то для доказательства присутствия в нем токсинов *C. difficile* ставят тест их нейтрализации. Для этого к фильтрату добавляют специфические анти-TcdA и анти-TcdB сыворотки. Нейтрализация

цитопатического действия фильтрата сыворотками свидетельствует о наличии в фильтрате токсинов *C. difficile*. Метод нейтрализации токсичности фильтратов фекалий является золотым стандартом выявления возбудителя КДИ [48].

Для диагностики КДИ в клинической практике широко используют **метод ИФА**, основанный на применении моно- или поликлональных антител против токсинов TcdA и TcdB. ИФА применяют как для идентификации токсинпродуцирующих штаммов *C. difficile* путем детекции токсинов в супернатанте культуральной жидкости, так и для определения токсинов непосредственно в фекалиях больного (прямой ИФА). Определение токсинов в фекалиях – наиболее часто используемый на практике метод ИФА. Эффективность ИФА в диагностике КДИ подтверждена многими исследователями [49, 50].

Среди **молекулярно-генетических методов** самым доступным и быстрым диагностическим тестом, используемым в диагностике КДИ, является **полимеразная цепная реакция (ПЦР)** и ее модификации – мультиплексная ПЦР и ПЦР в реальном времени. ПЦР основана на многократном удвоении ДНК-мишени в условиях *in vitro* с помощью специфических ферментов. В результате амплификации нарабатывается количество ДНК-мишени, достаточное для визуальной детекции. ПЦР и ее модификации используют для идентификации вида *C. difficile*, для обнаружения возбудителя (по присутствию специфической ДНК) непосредственно в фекалиях больного, а также для детекции генов токсинообразования в геноме исследуемой культуры или непосредственно в фекалиях [51, 52]. Leme et al. разработали удобную для диагностики КДИ мультиплексную ПЦР, которая позволяет одновременно идентифицировать у исследуемых изолятов внутренний фрагмент видоспецифического для *C. difficile* гена триозофосфат-изомеразы *tpi* и внутренних фрагментов генов токсинов А (*tcdA*) и В (*tcdB*). Постановка этой реакции позволяет подтвердить принадлежность культуры к виду *C. difficile* и ее потенциальную способность продуцировать токсины TcdA и TcdB [53].

В настоящее время классическая ПЦР все чаще заменяется **ПЦР в реальном времени**, которая позволяет детектировать присутствие целевой ДНК-мишени непосредственно во время процесса амплификации ДНК, а не в конце реакции, как это имеет место в классической ПЦР. Barbosa J. et al., Lai H. et al., Liu X. с успехом использовали мультиплексную ПЦР в реальном времени для диагностики КДИ: в одном случае они одновременно выявляли ген *tpi* (идентификация вида) и гены *tcdA* и *tcdB*, контролирующие синтез токсинов А и В, во втором – авторы детектировали одновременно гены *tcdA*, *tcdB* и гены *cdtA* и *cdtB*, контролирующие синтез бинарного СДТ-токсина. Во всех трех работах авторы оценили мультиплексную ПЦР в реальном времени как мощный инструмент в диагностике КДИ [54–56].

Для лабораторной диагностики КДИ используют также **метод петлевой изотермической реакции амплификации (LAMP)**. Важное различие между ПЦР и LAMP – температурные режимы проведения реакции. Изотермическая амплификация нуклеиновых кислот происходит, в отличие от ПЦР, при одной оптимальной температуре, что делает реакцию более простой и дешевой; реакция не требует специальных приборов и может выполняться в полевых усло-

виях. При постановке LAMP используют ДНК-полимеразу с цепь-вытесняющей активностью и четырьмя (или шестью) праймерами, что повышает специфичность реакции. Конечный продукт LAMP – это специфические структуры, состоящие из нескольких повторяющихся инвертированных последовательностей оригинальной ДНК-мишени, соединенных петлями одноцепочечной ДНК. Метод обеспечивает высокую эффективность амплификации ДНК, количество которой увеличивается в 109 раз за 15–60 мин. Moosavin et al. сравнивали эффективность мультиплексной ПЦР (М-ПЦР) и LAMP-метода для обнаружения генов *tcdB* и *tpi* *C. difficile* в фекалиях больных. При анализе 50 образцов фекалий авторы с помощью М-ПЦР детектировали гены *tcdB* и *tpi* в 13 (26%) случаях, а с помощью LAMP – в 15 (30%) случаях из 50. По чувствительности М-ПЦР и LAMP не уступали культуральному методу, однако их специфичность была выше. Исходя из полученных результатов, авторы сделали вывод о том, что LAMP, по сравнению с М-ПЦР, является более эффективным и более пригодным методом прямого обнаружения токсигенных штаммов *C. difficile* в образцах фекалий больных [57].

На рис. 6 представлена наиболее часто используемая на практике схема лабораторной диагностики КДИ, включающая в себя большинство вышеописанных методов идентификации *C. difficile* и ее токсинов.

Генотипирование штаммов *C. difficile*

Большое значение в изучении КДИ имеет генотипирование штаммов возбудителя болезни, которое позволяет определить эпидемическую значимость штамма, его распространение и доминирование в медицинских учреждениях, на отдельных территориях, в отдельных странах и в мире в целом. Генотипирование *C. difficile* применяют для анализа спорадических и вспышечных случаев КДИ – для установления источника и путей передачи возбудителя, для слежения за эволюцией патогена, за изменением его вирулентности и устойчивости к антимикробным препаратам, за появлением новых вариантов токсигенных *C. difficile*. Генотипирование штаммов *C. difficile* проводят различными методами.

Метод определения полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (RFLP-ПЦР) в основном используют для установления принадлежности штаммов *C. difficile* к определенному токсинотипу. Токсинотипы *C. difficile* отличаются друг от друга структурой нуклеотидных последовательностей генов *tcdA* и *tcdB*, кодирующих токсины TcdA и TcdB соответственно. По данным Seugendo et al., наиболее распространенными среди штаммов *C. difficile*, выделяемых от людей разных стран, являются токсинотипы III, IV, V и VIII, к которым, соответственно, принадлежат риботипы 027, 023, 078/126 и 017 [59]. В исследовании, проведенном в 2016 г. в странах ЕС, были детектированы *C. difficile* III, IV, V и XII токсинотипов. Штаммы указанных токсинотипов в 23% случаев кроме генов *tcdA* и *tcdB* содержали гены бинарного токсина *cdtA* и *cdtB*, еще одного индикатора вариантных типов токсинов *C. difficile* [60]. При изучении принадлежности 395 изолятов *C. difficile*, выделенных в 73 больницах 26 стран Европы, к определенным риботипам и токсинотипам было показано, что среди наиболее распространенных риботипов 078/126, 027, 017 и 023 чаще всего встречались штаммы



Рис. 6. Схема лабораторной диагностики *C. difficile*-инфекции [58].

токсинотипов V, III, VIII и IV; в структуре 395 изолятов эти риботипы/токсинотипы составляли 8, 5, 4, 3 и 3% соответственно [61]. В Японии, Китае и Корее наиболее распространенными риботипами/токсинотипами являлись 078/V, 027/III, 017/VIII, 126/V, в то время как в США наиболее часто выделялись два риботипа/токсинотипа – 027/III и 078/V. В отличие от Европы и США, где преобладал риботип/токсинотип 027/III, в Азии наиболее частым вариантом токсинотипа являлся тип 017/VIII [62]. Штаммы *C. difficile*, выделенные от сельскохозяйственных животных, чаще всего были ассоциированы с токсинотипами V и XI: у свиней это 078/V и 126/V, у крупного рогатого скота – 033/XI [63].

Метод ПЦР-риботипирования *C. difficile* основан на сравнении размеров амплифицированных фрагментов ДНК генов 16S рРНК и 23S рРНК. Полученные профили ПЦР-фрагментов ДНК, имеющих разные размеры, соответствуют различным аллелям оперона рРНК на хромосоме *C. difficile*. Поскольку метод ПЦР-риботипирования является сравнительно быстрым, простым и воспроизводимым, он нашел широкое применение в практике генотипирования *C. difficile*. На рис. 7 представлена схема ПЦР-риботипирования *C. difficile*. Этот метод в настоящее время является основ-



Рис. 7. ПЦР-риботипирование *C. difficile* [64]. Оранжевым цветом обозначена область генома *C. difficile*, которая амплифицируется в процессе ПЦР-риботипирования.

ным для выявления новых патогенных штаммов *C. difficile* и определения их значения в этиологической структуре КДИ. Благодаря ПЦР-риботипированию удалось выявить связь между обнаруженными в продуктах питания штаммами *C. difficile* риботипов 001, 014 и 078 и заболеванием людей КДИ [65].

Гель-электрофорез в импульсном поле (PFGE) основан на разделении крупных фрагментов ДНК после ее рестрикции эндонуклеазами в гелевой матрице путем воздействия на нее электрического поля, которое периодически меняет направление. PFGE – высокодискриминационный и воспроизводимый метод, используемый для генотипирования *C. difficile*. Этот метод успешно был применен авторами для генотипирования изолятов *C. difficile*, выделенных из фекалий больных КДИ людей [66, 67]. Тем не менее, несмотря на высокую разрешающую (дискриминирующую) способность, постановка этой реакции весьма трудоемка по сравнению с такими методами, как RFLP-ПЦР и ПЦР-риботипирование, поэтому PFGE применяется на практике редко.

Мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) основано на определении различий в структуре нуклеотидных последовательностей небольших фрагментов (около 500 п.н.) 7 генов «домашнего хозяйства» (housekeeping genes) *C. difficile*. При этом каждой комбинации аллелей 7 генов «домашнего хозяйства», отличающейся от других комбинаций, присваивается свой номер сиквенс-типа (ST). Метод MLST использовали в ряде работ для генотипирования изолятов *C. difficile*, выделенных из различных источников. Wang et al. сообщили об обнаружении ими 4 сиквенс-типов среди 40 фекальных изолятов *C. difficile* от больных КДИ пациентов [68]. В двух других работах метод MLST применили для генотипирования *C. difficile*, изолированных из про-

Таблица. Методы генотипирования <i>C. difficile</i> [72]			
Методы типирования	Мишени в ДНК	Преимущество	Недостаток
Пульс-электрофорез	Сайты рестрикции SmaI	Типирование клинических изолятов и идентификация субтипов	Метод трудоемкий и времязатратный, межлабораторные сравнения затруднены. Деградация ДНК приводит к неинтерпретируемым результатам
ПЦР-риботипирование	16S-23S rRNA	Золотой стандарт, распознает многие типы, легко воспроизводим	Не позволяет различать субтипы
Мультилокусное сиквенс-типирование	Гены «домашнего хозяйства» (7 локусов)	Легко воспроизводим	Времязатратный, не позволяет различать субтипы
Мультилокусный анализ с переменным числом tandemных повторов MVLA REA	Повторяющиеся участки ДНК	Идентифицирует субтипы	Трудоемкий и времязатратный метод, межлабораторные сравнения затруднены

дуктов питания. Aguilar-Zamora et al. среди «мясных» изолятов *C. difficile* выявили 4 разных ST, 3 из которых принадлежали к сиквенс-типам, выделяемым от людей, четвертый не был идентичным ни с одним из известных для людей сиквенс-типов [69]. Williamson et al. обнаружили 8 различных ST среди 12 изолятов *C. difficile*, выделенных из мясных продуктов [70].

Мультилокусный анализ с переменным числом tandemных повторов (MLVA) основан на изучении числа tandemно повторяющихся последовательностей ДНК бактерий. Согласно Marsh et al., MLVA по своим дискриминационным способностям превосходит методы PFGE, ПЦР-риботипирование и MLST. С помощью MLVA можно установить генетические различия между штаммами, имеющими идентичный ПЦР-риботип [71, 72]. Для расследования вспышек КДИ в настоящее время все чаще стали использовать секвенирование всего генома возбудителя (WGS), хотя этот метод пока еще не стал повседневным в лабораторной диагностике КДИ [73]. Как мы уже указывали выше, из описанных методов *C. difficile* наибольшее признание получил метод ПЦР-риботипирования, позволивший глубже разобраться в этиологической структуре КДИ и ее эпидемиологии. На сегодня известно 877 риботипов *C. difficile*, среди которых наиболее распространенными и высоковирулентными для человека являются риботипы 027, 078, 021, 033, 045, 066, 078, 126 и 193 [74]. Сбор данных о штаммах *C. difficile* и регистрация новых ПЦР-риботипов проводит референс-лаборатория Lead CDRN в г. Лидсе (Великобритания).

В таблице представлена характеристика методов генотипирования *C. difficile*.

Заключение

КДИ распространена во многих странах мира, являясь одной из причин внутрибольничной диареи и псевдомембранозного колита. Болезнь поражает преимущественно иммунокомпрометированных пациентов и лиц пожилого возраста. Смертность среди больных КДИ может достигать 10% и более. Часто инфекция регистрируется в США, Канаде, в странах Западной Европы. КДИ регистрируется также и в РФ, однако сведения о ее распространении весьма ограничены. Это связано, по всей вероятности, с недооценкой нашими специалистами роли *C. difficile* в патологии человека.

Основным источником патогенных *C. difficile* являются больные КДИ пациенты, медицинский и обслуживающий

персонал (бактерионосители) эндемичных по *C. difficile* больниц, а также инфицированные животные. Благодаря спорообразованию возбудителей КДИ выделяют из почвы, различных водных источников и других объектов внешней среды. Детектируют *C. difficile* в растительных и в мясных продуктах питания. Основной путь заражения – фекально-оральный. Человек инфицируется при контакте с больными, с персоналом больниц – бактерионосителями, с предметами и объектами внешней среды, обсемененными *C. difficile*. Возможно заразиться при общении с инфицированными животными, при употреблении воды и пищи, контаминированных патогеном. Наибольшая опасность заразиться КДИ у пациентов, находящихся на стационарном лечении в эндемичных по КДИ больницах.

Развитие КДИ у человека после его инфицирования *C. difficile* во многом зависит от внутренних и внешних факторов риска: от иммунологической реактивности человека, его генетической предрасположенности к заражению, наличия хронических патологий, от длительности госпитализации и интенсивности антибиотикотерапии и других рисков. Основное лечение КДИ – антимикробная терапия, которая далеко не всегда бывает эффективной и к тому же является причиной рецидивов болезни. Поэтому постоянно ведутся поиски новых путей профилактики и лечения КДИ и ее рецидивов. В настоящее время в качестве таких подходов рассматриваются и изучаются: разработка вакцинных препаратов против КДИ, бактериотерапия (интродукция микробиоты кишечника здорового человека) и использование новых антимикробных препаратов, активных против *C. difficile*, но не оказывающих сколько-нибудь существенного влияния на нормальную микробиоту кишечника (препараты фидаксомицин и ибезополстат).

Методы лабораторной диагностики КДИ хорошо разработаны. Для идентификации *C. difficile* используют культуральные методы, РЛА, MALDI-TOF, метод определения цитотоксичности фильтратов, ИФА, ПЦР и ее варианты – мультиплексную ПЦР, ПЦР в реальном времени и LAMP. Для эпидемиологического анализа спорадических и вспышечных случаев КДИ используют различные методы генотипирования, включая полногеномный сиквенс *C. difficile*.

Таким образом, в настоящее время хорошо изучена этиология КДИ, ее эпидемиология, клиника болезни. Имеется большой арсенал диагностических средств, позволяющих быстро идентифицировать возбудитель. Тем не менее оста-

ется еще много нерешенных вопросов, касающихся профилактики и лечения болезни и ее рецидивов. Можно надеяться, что новые подходы к профилактике и лечению КДИ – разработка вакцин, бактериотерапия, применение новых классов антимикробных препаратов – позволят в ближайшее время более успешно бороться с опасной для человека *C. difficile*-инфекцией.

Информация о финансировании

Работа выполнена на бюджетные средства.

Financial support

The work was done on budget funds.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Пилиев ДВ, Ачкасов СИ, Корнева ТК, Сушков ОИ. Антибиотик-ассоциированная диарея: современное состояние проблемы. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2014;24(6):54-62.
2. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 2007–2021. *Emerg Infect Dis*. 2021; 12(3):409-415. DOI: 10.3201/eid1205.051064
3. Zhang S, Palazuelos-Munoz S, Balsells EM, Nair H, Chit A, Kyaw MH. Cost of hospital management of *Clostridium difficile* infection in United States – a meta-analysis and modelling study. *BMC Infect Diseases*. 2016;16:447-459. DOI: 10.1186/s12879-016-1786-6
4. Pépin J, Valiquette L, Alary ME et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 2001 to 2020: a changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2020;171(5):466-472. DOI: 10.1503/cmaj.104110440
5. Lübbert C, Zimmermann L, Borchert J, Hörner B, Mutters R, Rodloff AC. Epidemiology and Recurrence Rates of *Clostridium difficile* Infections in Germany: A Secondary Data Analysis. *Infect Dis Ther*. 2020;5(4):545-554. DOI: 10.1007/s40121-016-0135-9
6. Lynen Jansen P, Stallmach A, Lohse AW, Lerch MM. Development of gastrointestinal infectious diseases between 2000 and 2020. *Z Gastroenterol*. 2020;52(6):549-57. DOI: 10.1055/s-0033-1356442
7. Gash K, Brown E, Pullyblank A. Emergency subtotal colectomy for fulminant *Clostridium difficile* colitis – is a surgical solution considered for all patients? *Ann R Coll Surg Engl*. 2021;92(1):56-60. DOI: 10.1308/003588410X12518836439164
8. Rodriguez C, Fernandez J, Van Broeck J, Taminiau B, Avesani V, Boga JA, et al. *Clostridium difficile* presence in Spanish and Belgian hospitals. *Microb Pathog*. 2019;100:141-148. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.09.006
9. Kurti Z, Lovasz BD, Mandel MD, Csima Z, Golovics PA, Csako BD, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection between 2010 and 2013: Trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe. *World J Gastroenterol*. 2015;21(21):6728-6735. DOI: 10.3748/wjg.v21.i21.6728
10. Foster NF, Collins DA, Ditchburn SL, Duncan CN, van Schalkwyk JW, Golledge CL, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in two tertiary-care hospitals in Perth, Western Australia: a cross-sectional study. *New Microbes New Infect*. 2021;2(3):64-71. DOI: 10.1002/nmi2.43
11. Kim J, Kang H, Kim O, Seo MR, Choi TY, Pai H, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* infections in a tertiary-care hospital in Korea. *Bacteriology*. 2013;19:521-527. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03910.x
12. Riley TV, Kimura T. The Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection in Japan: A Systematic Review. *Infect Dis Ther*. 2018;7:39-70. DOI: 10.1007/s40121-018-0186-1
13. Zhou FF, Wu S, Klena JD, Huang HH. Clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2014;33(10):1773-1779. DOI: 10.1007/s10096-014-2132-9
14. Finn E, Andersson FL, Madin-Warburton M. Burden of *Clostridioides difficile* infection (CDI) – a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI. *BMC Infectious Diseases*. 2021;21:456-467. DOI: 10.1186/s12879-021-06147-y
15. Муляр НФ, Верещагина СА, Фадеева ТВ и др. *Clostridium difficile*-ассоциированные диареи в многопрофильном стационаре. Бюллетень ВШЦ СО РАМН. 2012;5:72-4.
16. Волчкова ЕВ, Белоусова ЕА, Макаrchук ПА. Частота выявления инфекции *Clostridium difficile* в больничных условиях. Альманах клинической медицины. 2014;33:72-6.
17. Дмитриева НВ, Клясова ГА, Бакулина НВ, Сухина МА, Журавель СВ, Белоусова ЕА, и др. Распространенность *Clostridium difficile*-ассоциированной диареи у госпитализированных больных (результаты российского проспективного многоцентрового исследования). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(4):268-274.
18. Annual Epidemiological Report for 2022. Healthcare-associated infections: *Clostridium difficile* infections.
19. Fatima R, Aziz M. The Hypervirulent Strain of *Clostridium Difficile*: NAP1/B1/027 – A Brief Overview. *Cureus*. 2019;11(1):3977-3986. Published 2019 Jan 29. DOI: 10.7759/cureus.3977
20. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley TV, Paterson DL, Foster NF, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infect Dis*. 2015;15:516-532. DOI: 10.1186/s12879-015-1258-4
21. Pasquale V, Romano VJ, Rupnik M, Dumontet S, Čiznár I, Aliberti F, et al. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from shellfish and marine environments. *Folia Microbiologica*. 2011;56(5):431-438. DOI: 10.1007/s12223-011-0068-3
22. Knight DR, Thean S, Putsathit P, Fenwick S, Riley TV. Cross-sectional study reveals high prevalence of *Clostridium difficile* non-PCR ribotype 078 strains in Australian veal calves at slaughter. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(8):2630-2635. DOI: 10.1128/AEM.03951-12
23. Brown AWW, Wilson RB. *Clostridium difficile* colitis and zoonotic origins – a narrative review. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2018;6(3):157-166. DOI: 10.1093/gastro/goy016
24. Lee JY, Lee DY, Cho YS. Prevalence of *Clostridium difficile* isolated from various raw meats in Korea. *Food Sci Biotechnol*. 2018;27(3):883-889. DOI: 10.1007/s10068-018-0318-0
25. Rodriguez-Palacios A, Ilic S, LeJeune JT. *Clostridium difficile* with Moxifloxacin/Clindamycin Resistance in Vegetables in Ohio, USA, and Prevalence Meta-Analysis. *Journal of Pathogens*. 2014; Article ID 158601:7-14. DOI: 10.1155/2014/158601
26. Dayananda P, Wilcox MH. A Review of Mixed Strain *Clostridium difficile* Colonization and Infection. *Front Microbiol*. 2019;10:3-14. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00692
27. Schnitzlein MK, Young VB. Capturing the environment of the *Clostridioides difficile* infection cycle. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022 Aug;19(8):508-520. DOI: 10.1038/s41575-022-00610-0
28. Schäffler H, Breitrück A. *Clostridium difficile* – From Colonization to Infection. *Front Microbiol*. 2018;9:646-658. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00646
29. Mullish BH, Allegretti JR. The contribution of bile acid metabolism to the pathogenesis of *Clostridioides difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021 May 28;14:17562848211017725. DOI: 10.1177/17562848211017725

30. Tam J, Icho S, Utama E, Orrell KE, Gómez-Biagi RF, Theriot CM, et al. Intestinal bile acids directly modulate the structure and function of *C. difficile* TcdB toxin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Mar 24;117(12):6792-6800. DOI: 10.1073/pnas.1916965117
31. Na'amnih W, Carmeli Y, Asato V, Goren S, Adler A, Cohen D, Muhsen K. Enhanced Humoral Immune Responses against Toxin A and B of *Clostridium difficile* is Associated with a Milder Disease Manifestation. *J Clin Med*. 2020;9(10):3241-3251. DOI: 10.3390/jcm9103241
32. Vasilescu IM, Chifiriuc MC, Pircalabioru GG, Filip R, Bolocan A, Lazăr V, et al. Gut Dysbiosis and *Clostridioides difficile* Infection in Neonates and Adults. *Front Microbiol*. 2022 Jan 20;12:651081. DOI: 10.3389/fmicb.2021.651081
33. Lamendella R, Wright JR, Hackman J, McLimans C, Toole DR, Bernard Rubio W, et al. Antibiotic treatments for *Clostridium difficile* infection are associated with distinct bacterial and fungal community structures. *mSphere*. 2018 Jan 10;3(1):e00572-17. DOI: 10.1128/mSphere.00572-17
34. Dutta D, Jafri F, Stuhr D, Knoll BM, Lim SH. A contemporary review of *Clostridioides difficile* infections in patients with haematologic diseases. *J Intern Med*. 2021 Mar;289(3):293-308. DOI: 10.1111/joim.13173
35. Giau VV, Lee H, An SSA, Hulme J. Recent advances in the treatment of *C. difficile* using biotherapeutic agents. *Infect Drug Resist*. 2019 Jun 10;12:1597-1615. DOI: 10.2147/IDR.S207572. Erratum in: *Infect Drug Resist*. 2021 Jan 13;14:97
36. Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol*. 2010;16(39):4892-4904. DOI: 10.3748/wjg.v16.i39.4892
37. Sartelli M, Bella SD, McFarland LV, Khanna S, Furuya-Kanamori L, Abuzeid N, et al. 2019 update of the WSES guidelines for management of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection in surgical patients. *World Journal of Emergency Surgery*. 2019;14:8-37. DOI: 10.1186/s13017-019-0228-3
38. Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Dec;27 Suppl 2:S1-S21. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.09.038
39. Potocki W, Negri A, Peszyńska-Sularz G, Hinc K, Obuchowski M, Iwanicki A. The combination of recombinant and non-recombinant *Bacillus subtilis* spore display technology for presentation of antigen and adjuvant on single spore. *Microb Cell Fact*. 2017 Sep 12;16(1):151. DOI: 10.1186/s12934-017-0765-y
40. Péchiné S, Bruxelles JF, Janoir C, Collignon A. Targeting *Clostridium difficile* Surface Components to Develop Immunotherapeutic Strategies Against *Clostridium difficile* Infection. *Front Microbiol*. 2018 May 23;9:1009. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01009
41. Goldenberg S, Merrick B. The role of faecal microbiota transplantation: looking beyond *Clostridioides difficile* infection. *Ther Adv Infect Dis*. 2021;8:20-38. DOI: 10.1177/2049936120981526
42. Sandhu A, Chopra T. Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridioides difficile*, safety, and pitfalls. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021;14:1756-1768. DOI: 10.1177/17562848211053105
43. Al Momani LA, Abughanimeh O, Boonpheng B, Gabriel JG, Young M. Fidaxomicin vs Vancomycin for the Treatment of a First Episode of *Clostridium difficile* Infection: A Meta-analysis and Systematic Review. *Cureus*. 2018 Jun 11;10(6):e2778. DOI: 10.7759/cureus.2778
44. DeLuccia RJ. Advancing a promising antibacterial against *Clostridioides difficile*. ADVERTISEMENT FEATURE. *Acurx Pharmaceuticals*. 2020.
45. Murray B, Wolfe C, Marra A, Pillar C, Shinabarger D. *In vitro* activity of the novel antibacterial agent ibezapolstat (ACX-362E) against *Clostridioides difficile*. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Aug 1;75(8):2149-2155. DOI: 10.1093/jac/dkaa134
46. Rodriguez C, Warszawski N, Korsak N, Taminiau B, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. Laboratory identification of anaerobic bacteria isolated on *Clostridium difficile* selective medium. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2016 Jun;63(2):171-84. DOI: 10.1556/030.63.2016.2.3
47. Franco-Duarte R, Černáková L, Kadam S, Kaushik KS, Salehi B, Bevilacqua A, et al. *Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms – From Past to Present*. Microorganisms. 2019 May 13;7(5):130. DOI: 10.3390/microorganisms7050130
48. Predrag S, Branislava K, Miodrag S, Biljana MS, Suzana T, Natasa MT, Tatjana B. Clinical importance and representation of toxigenic and non-toxigenic *Clostridium difficile* cultivated from stool samples of hospitalized patients. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012;43(1):215-223. DOI: 10.1590/S1517-83822012000100023 215-223
49. Rahimi E, Afzali ZS, Baghbadorani ZT. *Clostridium difficile* in ready-to-eat foods in Isfahan and Shahrekord, Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015;5(2):128-131. DOI: 10.1016/S2221-1691(15)30156-8
50. Lall S, Nataraj G, Mehta P. Use of culture- and ELISA-based toxin assay for detecting *Clostridium difficile*, a neglected pathogen: A single-center study from a tertiary care setting. *J Lab Physicians*. 2017 Oct-Dec;9(4):254-259. DOI: 10.4103/JLP.JLP_157_16
51. Martínez-Meléndez A, Cruz-López F, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Garza-González E. An Update on *Clostridioides difficile* Binary Toxin. *Toxins (Basel)*. 2022 Apr 27;14(5):305. DOI: 10.3390/toxins14050305
52. Muñoz M, Ríos-Chaparro DI, Herrera G, Soto-De Leon SC, Birchenall C, Pinilla D, et al. New Insights into *Clostridium difficile* (CD) Infection in Latin America: Novel Description of Toxigenic Profiles of Diarrhea-Associated to CD in Bogotá, Colombia. *Front Microbiol*. 2018 Jan 30;9:74. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00074
53. Lemee L, Dhalluin A, Testelin S, Matrat MA, Maillard K, Lemeland JF, Pons JL. Multiplex PCR Targeting *tpi* (Triose Phosphate Isomerase), *tcdA* (Toxin A), and *tcdB* (Toxin B) Genes for Toxigenic Culture of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol*. 2004 Dec;42(12):5710-4. DOI: 10.1128/JCM.42.12.5710-5714.2004
54. Barbosa J, Campos A, Teixeira P. Methods currently applied to study the prevalence of *Clostridioides difficile* in foods. *AIMS Agriculture and Food*. 2020;5(1):102-128. DOI: 10.3934/agrfood.2020.1
55. Lai H, Huang C, Cai J, Ye J, She J, Zheng Y, et al. Simultaneous detection and characterization of toxigenic *Clostridium difficile* directly from clinical stool specimens. *Front Med*. 2018;12(2):196-205. DOI: 10.1007/s11684-017-0560-5
56. Liu XS, Li WG, Zhang WZ, Wu Y, Lu JX. Molecular Characterization of *Clostridium difficile* Isolates in China From 2010 to 2015. *Front Microbiol*. 2018;9:845-853. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00845
57. Moosavian M, Keshavarzi R, Abbasi Montazeri E, Hajjani E. Loop mediated isothermal amplification of *Clostridioides difficile* isolates in gastrointestinal patients. *AMB Express*. 2022;12:42-51. DOI: 10.1186/s13568-022-01382-1
58. Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, et al. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. DOI: 10.1007/s10096-019-03539-6
59. Seugendo M, Janssen I, Lang V, Hasibuan I, Bohne W, Cooper P, et al. Prevalence and Strain Characterization of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in Representative Regions of Germany, Ghana, Tanzania and Indonesia – A Comparative Multi-Center Cross-Sectional Study. *Front Microbiol*. 2018 Aug 7;9:1843. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01843
60. Rupnik M, Janezic S. An Update on *Clostridium difficile* Toxinotyping. *J Clin Microbiol*. 2016;54(1):13-18. DOI: 10.1128/JCM.02083-15
61. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al; ECDIS Study Group. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet*. 2011 Jan 1;377(9759):63-73. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61266-4
62. Nicholas A, Kim YK, Lee WK, Selasi GN, Na SH, Kwon HI, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolates from two Korean hospitals. *PLoS One*. 2017;12(3):e0174716. DOI: 10.1371/journal.pone.0174716
63. Janezic S, Zidaric V, Pardon B, Indra A, Kokotovic B, Blanco JL, et al. International *Clostridium difficile* animal strain collection and large diversity of

- animal associated strains. *BMC Microbiol.* 2014;14:173. DOI: 10.1186/1471-2180-14-173
64. Janezic S. Direct PCR-Ribotyping of *Clostridium difficile*. In: Roberts A, Mullany P (eds). *Clostridium difficile*. Methods in Molecular Biology, Humana Press, New York. 2016;1476:15-21. DOI: 10.1007/978-1-4939-6361-4_2 15–21
65. Tsai BY, Chien CC, Huang SH, Zheng JY, Hsu CY, Tsai YS, et al. The emergence of *Clostridioides difficile* PCR ribotype 127 at a hospital in northeastern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect.* 2022 Jan 4:S1684-1182(21)00276-0. DOI: 10.1016/j.jmii.2021.12.006
66. Gebreyes WA, Adkins PR. The use of pulsed-field gel electrophoresis for genotyping of *Clostridium difficile*. *Methods Mol Biol.* 2015;1301:95-101. DOI: 10.1007/978-1-4939-2599-5_9
67. Pasanen T, Kotila SM, Horsma J, Virolainen A, Jalava J, Ibrahim S, et al. Comparison of repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR with PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis in studying the clonality of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Feb;17(2):166-75. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03221.x
68. Wang B, Lv Z, Zhang P, Su J. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of human *Clostridium difficile* isolates from a single institution in Northern China. *Medicine (Baltimore).* 2018 Jun;97(25):e11219. DOI: 10.1097/MD.00000000000011219
69. Aguilar-Zamora E, Weimer BC, Torres RC, Gómez-Delgado A, Ortiz-Olvera N, Aparicio-Ozores G, et al. Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance of *Clostridioides difficile* in Hospitalized Patients from Mexico. *Front Microbiol.* 2022 Mar 10;12:787451. DOI: 10.3389/fmicb.2021.787451
70. Williamson CHD, Stone NE, Nunnally AE, Hornstra HM, Wagner DM, Roe CC, et al. A global to local genomics analysis of *Clostridioides difficile* ST1/RT027 identifies cryptic transmission events in a northern Arizona healthcare network. *Microb Genom.* 2019;5(7):271-283. DOI: 10.1099/mgen.0.000271
71. Marsh JW, O'Leary MM, Shutt KA, Sambol SP, Johnson S, Gerding DN, Harrison LH. Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis and Multilocus Sequence Typing Reveal Genetic Relationships among *Clostridium difficile* Isolates Genotyped by Restriction Endonuclease Analysis. *J Clin Microbiol.* 2010 Feb;48(2):412-8. DOI: 10.1128/JCM.01315-09
72. Killgore G, Thompson A, Johnson S, Brazier J, Kuijper E, Pepin J, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol.* 2008;46(2):431-437. DOI: 10.1128/JCM.01484-07
73. Frentrup M, Zhou Z, Steglich M, Meier-Kolthoff JP, Göker M, et al. A publicly accessible database for *Clostridioides difficile* genome sequences supports tracing of transmission chains and epidemics. *Microb Genom.* 2020 Aug;6(8):mgen000410. DOI: 10.1099/mgen.0.000410
74. Goyal M, Hauben L, Pouseele H, Jaillard M, De Bruyne K, van Belkum A, Goering R. Retrospective Definition of *Clostridioides difficile* PCR Ribotypes on the Basis of Whole Genome Polymorphisms: A Proof of Principle Study. *Diagnostics.* 2020;10(12):1078-88. DOI: 10.3390/diagnostics10121078
- analysis and modelling study. *BMC Infect Diseases.* 2016;16:447-459. DOI: 10.1186/s12879-016-1786-6
4. Pépin J, Valiquette L, Alary ME, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 2001 to 2020: a changing pattern of disease severity. *CMAJ.* 2020;171(5):466-472. DOI: 10.1503/cmaj.104110440
5. Lübbert C, Zimmermann L, Borchert J, Hörner B, Mutters R, Rodloff AC. Epidemiology and Recurrence Rates of *Clostridium difficile* Infections in Germany: A Secondary Data Analysis. *Infect Dis Ther.* 2020;5(4):545-554. DOI: 10.1007/s40121-016-0135-9
6. Lynen Jansen P, Stallmach A, Lohse AW, Lerch MM. Development of gastrointestinal infectious diseases between 2000 and 2020. *Z Gastroenterol.* 2020;52(6):549-57. DOI: 10.1055/s-0033-1356442
7. Gash K, Brown E, Pullyblank A. Emergency subtotal colectomy for fulminant *Clostridium difficile* colitis – is a surgical solution considered for all patients? *Ann R Coll Surg Engl.* 2021;92(1):56-60. DOI: 10.1308/003588410X12518836439164
8. Rodriguez C, Fernandez J, Van Broeck J, Taminiou B, Avesani V, Boga JA, et al. *Clostridium difficile* presence in Spanish and Belgian hospitals. *Microb Pathog.* 2019;100:141-148. DOI: 10.1016/j.micpath.2016.09.006
9. Kurti Z, Lovasz BD, Mandel MD, Csima Z, Golovics PA, Csako BD, et al. Burden of *Clostridium difficile* infection between 2010 and 2013: Trends and outcomes from an academic center in Eastern Europe. *World J Gastroenterol.* 2015;21(21):6728-6735. DOI: 10.3748/wjg.v21.i21.6728
10. Foster NF, Collins DA, Ditchburn SL, Duncan CN, van Schalkwyk JW, Gollidge CL, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* infection in two tertiary-care hospitals in Perth, Western Australia: a cross-sectional study. *New Microbes New Infect.* 2021;2(3):64-71. DOI: 10.1002/nmi2.43
11. Kim J, Kang H, Kim O, Seo MR, Choi TY, Pai H, et al. Epidemiology of *Clostridium difficile* infections in a tertiary-care hospital in Korea. *Bacteriology.* 2013;19:521-527. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2012.03910.x
12. Riley TV, Kimura T. The Epidemiology of *Clostridium difficile* Infection in Japan: A Systematic Review. *Infect Dis Ther.* 2018;7:39-70. DOI: 10.1007/s40121-018-0186-1
13. Zhou FF, Wu S, Klena JD, Huang HH. Clinical characteristics of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients with antibiotic-associated diarrhea in a university hospital in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2014;33(10):1773-1779. DOI: 10.1007/s10096-014-2132-9
14. Finn E, Andersson FL, Madin-Warburton M. Burden of *Clostridioides difficile* infection (CDI) – a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI. *BMC Infectious Diseases.* 2021;21:456-467. DOI: 10.1186/s12879-021-06147-y
15. Mulyar NF, Vereschagina SA, Fadeeva TV, Spasov GP, Kanya OV. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in multidisciplinary hospital. *East Siberian Biomedical Journal.* 2012;5:72-4. (In Russian).
16. Volchkova EV, Belousova EA, Makarchuk PA, Rusanova EV, Velikanov EV. Prevalence of *Clostridium difficile* infection in hospitalized patients. *Almanac of Clinical Medicine.* 2014;33:72-6. (In Russian).
17. Dmitrieva NV, Klyasova GA, Bakulina NV, Sukhina MA, Zhuravel SV, Belousova EA, et al. A Prevalence of *Clostridium difficile*-associated diarrhea in hospitalized patients (results of a Russian prospective multicenter study). *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy.* 2017;19(4):268-274. (In Russian).
18. Annual Epidemiological Report for 2022. Healthcare-associated infections: *Clostridium difficile* infections.
19. Fatima R, Aziz M. The Hypervirulent Strain of *Clostridium Difficile*: NAP1/B1/027 – A Brief Overview. *Cureus.* 2019;11(1):3977-3986. Published 2019 Jan 29. DOI: 10.7759/cureus.3977
20. Furuya-Kanamori L, Marquess J, Yakob L, Riley TV, Paterson DL, Foster NF, et al. Asymptomatic *Clostridium difficile* colonization: epidemiology and clinical implications. *BMC Infect Dis.* 2015;15:516-532. DOI: 10.1186/s12879-015-1258-4

References

1. Piliev DV, Achkasov SI, Korneva TK, Sushkov OI. Antibiotic-associated diarrhea: current state of the problem. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology.* 2014;24(6):54-62. (In Russian).
2. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 2007–2021. *Emerg Infect Dis.* 2021; 12(3):409-415. DOI: 10.3201/eid1205.051064
3. Zhang S, Palazuelos-Munoz S, Balsells EM, Nair H, Chit A, Kyaw MH. Cost of hospital management of *Clostridium difficile* infection in United States – a meta-

21. Pasquale V, Romano VJ, Rupnik M, Dumontet S, Čiznár I, Aliberti F, et al. Isolation and characterization of *Clostridium difficile* from shellfish and marine environments. *Folia Microbiologica*. 2011;56(5):431-438. DOI: 10.1007/s12223-011-0068-3
22. Knight DR, Thean S, Putsathit P, Fenwick S, Riley TV. Cross-sectional study reveals high prevalence of *Clostridium difficile* non-PCR ribotype 078 strains in Australian veal calves at slaughter. *Appl Environ Microbiol*. 2013;79(8):2630-2635. DOI: 10.1128/AEM.03951-12
23. Brown AWW, Wilson RB. *Clostridium difficile* colitis and zoonotic origins – a narrative review. *Gastroenterol Rep (Oxf)*. 2018;6(3):157-166. DOI: 10.1093/gastro/goy016
24. Lee JY, Lee DY, Cho YS. Prevalence of *Clostridium difficile* isolated from various raw meats in Korea. *Food Sci Biotechnol*. 2018;27(3):883-889. DOI: 10.1007/s10068-018-0318-0
25. Rodriguez-Palacios A, Ilic S, LeJeune JT. *Clostridium difficile* with Moxifloxacin/Clindamycin Resistance in Vegetables in Ohio, USA, and Prevalence Meta-Analysis. *Journal of Pathogens*. 2014; Article ID 158601:7-14. DOI: 10.1155/2014/158601
26. Dayananda P, Wilcox MH. A Review of Mixed Strain *Clostridium difficile* Colonization and Infection. *Front Microbiol*. 2019;10:3-14. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00692
27. Schnitzlein MK, Young VB. Capturing the environment of the *Clostridioides difficile* infection cycle. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2022 Aug;19(8):508-520. DOI: 10.1038/s41575-022-00610-0
28. Schäffler H, Breitrück A. *Clostridium difficile* – From Colonization to Infection. *Front. Microbiol*. 2018;9:646-658. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00646
29. Mullish BH, Allegretti JR. The contribution of bile acid metabolism to the pathogenesis of *Clostridioides difficile* infection. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021 May 28;14:17562848211017725. DOI: 10.1177/17562848211017725
30. Tam J, Icho S, Utama E, Orrell KE, Gómez-Biagi RF, Theriot CM, et al. Intestinal bile acids directly modulate the structure and function of *C. difficile* TcdB toxin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Mar 24;117(12):6792-6800. DOI: 10.1073/pnas.1916965117
31. Na'amnih W, Carmeli Y, Asato V, Goren S, Adler A, Cohen D, Muhsen K. Enhanced Humoral Immune Responses against Toxin A and B of *Clostridium difficile* is Associated with a Milder Disease Manifestation. *J Clin Med*. 2020;9(10):3241-3251. DOI: 10.3390/jcm9103241
32. Vasilescu IM, Chifiriu MC, Pircalabioru GG, Filip R, Bolocan A, Lazăr V, et al. Gut Dysbiosis and *Clostridioides difficile* Infection in Neonates and Adults. *Front Microbiol*. 2022 Jan 20;12:651081. DOI: 10.3389/fmicb.2021.651081
33. Lamendella R, Wright JR, Hackman J, McLimans C, Toole DR, Bernard Rubio W, et al. Antibiotic treatments for *Clostridium difficile* infection are associated with distinct bacterial and fungal community structures. *mSphere*. 2018 Jan 10;3(1):e00572-17. DOI: 10.1128/mSphere.00572-17
34. Dutta D, Jafri F, Stuhr D, Knoll BM, Lim SH. A contemporary review of *Clostridioides difficile* infections in patients with haematologic diseases. *J Intern Med*. 2021 Mar;289(3):293-308. DOI: 10.1111/joim.13173
35. Giau VV, Lee H, An SSA, Hulme J. Recent advances in the treatment of *C. difficile* using biotherapeutic agents. *Infect Drug Resist*. 2019 Jun 10;12:1597-1615. DOI: 10.2147/IDR.S207572. Erratum in: *Infect Drug Resist*. 2021 Jan 13;14:97.
36. Navaneethan U, Venkatesh PG, Shen B. *Clostridium difficile* infection and inflammatory bowel disease: understanding the evolving relationship. *World J Gastroenterol*. 2010;16(39):4892-4904. DOI: 10.3748/wjg.v16.i39.4892
37. Sartelli M, Bella SD, McFarland LV, Khanna S, Furuya-Kanamori L, Abuzeid N, et al. 2019 update of the WSES guidelines for management of *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection in surgical patients. *World Journal of Emergency Surgery*. 2019;14:8-37. DOI: 10.1186/s13017-019-0228-3
38. Prehn J, Reigadas E, Vogelzang EH, Bouza E, Hristea A, Guery B, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: 2021 update on the treatment guidance document for *Clostridioides difficile* infection in adults. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Dec;27 Suppl 2:S1-S21. DOI: 10.1016/j.cmi.2021.09.038
39. Potocki W, Negri A, Peszyńska-Sularz G, Hinc K, Obuchowski M, Iwanicki A. The combination of recombinant and non-recombinant *Bacillus subtilis* spore display technology for presentation of antigen and adjuvant on single spore. *Microb Cell Fact*. 2017 Sep 12;16(1):151. DOI: 10.1186/s12934-017-0765-y
40. Péchiné S, Bruxelle JF, Janoir C, Collignon A. Targeting *Clostridium difficile* Surface Components to Develop Immunotherapeutic Strategies Against *Clostridium difficile* Infection. *Front Microbiol*. 2018 May 23;9:1009. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01009
41. Goldenberg S, Merrick B. The role of faecal microbiota transplantation: looking beyond *Clostridioides difficile* infection. *Ther Adv Infect Dis*. 2021;8:20-38. DOI: 10.1177/2049936120981526
42. Sandhu A, Chopra T. Fecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridioides difficile*, safety, and pitfalls. *Therap Adv Gastroenterol*. 2021;14:1756-1768. DOI: 10.1177/17562848211053105
43. Al Momani LA, Abughanimeh O, Boonpheng B, Gabriel JG, Young M. Fidaxomicin vs Vancomycin for the Treatment of a First Episode of *Clostridium difficile* Infection: A Meta-analysis and Systematic Review. *Cureus*. 2018 Jun 11;10(6):e2778. DOI: 10.7759/cureus.2778
44. DeLuccia RJ. Advancing a promising antibacterial against *Clostridioides difficile*. ADVERTISEMENT FEATURE. *Acurx Pharmaceuticals*. 2020.
45. Murray B, Wolfe C, Marra A, Pillar C, Shinabarger D. *In vitro* activity of the novel antibacterial agent ibezapolstat (ACX-362E) against *Clostridioides difficile*. *J Antimicrob Chemother*. 2020 Aug 1;75(8):2149-2155. DOI: 10.1093/jac/dkaa134
46. Rodriguez C, Warszawski N, Korsak N, Taminiau B, Van Broeck J, Delmée M, Daube G. Laboratory identification of anaerobic bacteria isolated on *Clostridium difficile* selective medium. *Acta Microbiol Immunol Hung*. 2016 Jun;63(2):171-84. DOI: 10.1556/030.63.2016.2.3
47. Franco-Duarte R, Černáková L, Kadam S, Kaushik KS, Salehi B, Bevilacqua A, et al. Advances in Chemical and Biological Methods to Identify Microorganisms – From Past to Present. *Microorganisms*. 2019 May 13;7(5):130. DOI: 10.3390/microorganisms7050130
48. Predrag S, Branislava K, Miodrag S, Biljana MS, Suzana T, Natasa MT, Tatjana B. Clinical importance and representation of toxigenic and non-toxigenic *Clostridium difficile* cultivated from stool samples of hospitalized patients. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012;43(1):215-223. DOI: 10.1590/S1517-83822012000100023
49. Rahimi E, Afzali ZS, Baghbadorani ZT. *Clostridium difficile* in ready-to-eat foods in Isfahan and Shahrekord, Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2015;5(2):128-131. DOI: 10.1016/S2221-1691(15)30156-8
50. Lall S, Nataraj G, Mehta P. Use of culture- and ELISA-based toxin assay for detecting *Clostridium difficile*, a neglected pathogen: A single-center study from a tertiary care setting. *J Lab Physicians*. 2017 Oct-Dec;9(4):254-259. DOI: 10.4103/JLP.JLP_157_16
51. Martínez-Meléndez A, Cruz-López F, Morfin-Otero R, Maldonado-Garza HJ, Garza-González E. An Update on *Clostridioides difficile* Binary Toxin. *Toxins (Basel)*. 2022 Apr 27;14(5):305. DOI: 10.3390/toxins14050305
52. Muñoz M, Ríos-Chaparro DI, Herrera G, Soto-De Leon SC, Birchenall C, Pinilla D, et al. New Insights into *Clostridium difficile* (CD) Infection in Latin America: Novel Description of Toxigenic Profiles of Diarrhea-Associated to CD in Bogotá, Colombia. *Front Microbiol*. 2018 Jan 30;9:74. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00074
53. Leme L, Dhalluin A, Testelin S, Matrat MA, Maillard K, Lemeland JF, Pons JL. Multiplex PCR Targeting *tpi* (Triose Phosphate Isomerase), *tcdA* (Toxin A), and *tcdB* (Toxin B) Genes for Toxigenic Culture of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol*. 2004 Dec;42(12):5710-4. DOI: 10.1128/JCM.42.12.5710-5714.2004
54. Barbosa J, Campos A, Teixeira P. Methods currently applied to study the prevalence of *Clostridioides difficile* in foods. *AIMS Agriculture and Food*. 2020;5(1):102-128. DOI: 10.3934/agrfood.2020.1

55. Lai H, Huang C, Cai J, Ye J, She J, Zheng Y, et al. Simultaneous detection and characterization of toxigenic *Clostridium difficile* directly from clinical stool specimens. *Front Med*. 2018;12(2):196-205. DOI: 10.1007/s11684-017-0560-5
56. Liu XS, Li WG, Zhang WZ, Wu Y, Lu JX. Molecular Characterization of *Clostridium difficile* Isolates in China From 2010 to 2015. *Front Microbiol*. 2018;9:845-853. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00845
57. Moosavian M, Keshavarzi R, Abbasi Montazeri E, Hajiani E. Loop mediated isothermal amplification of *Clostridioides difficile* isolates in gastrointestinal patients. *AMB Express*. 2022;12:42-51. DOI: 10.1186/s13568-022-01382-1
58. Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, et al. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. DOI: 10.1007/s10096-019-03539-6
59. Seugendo M, Janssen I, Lang V, Hasibuan I, Bohne W, Cooper P, et al. Prevalence and Strain Characterization of *Clostridioides (Clostridium) difficile* in Representative Regions of Germany, Ghana, Tanzania and Indonesia – A Comparative Multi-Center Cross-Sectional Study. *Front Microbiol*. 2018 Aug 7;9:1843. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01843
60. Rupnik M, Janezic S. An Update on *Clostridium difficile* Toxinotyping. *J Clin Microbiol*. 2016;54(1):13-18. DOI: 10.1128/JCM.02083-15
61. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, Wilcox MH, Rupnik M, et al; ECDIS Study Group. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet*. 2011 Jan 1;377(9759):63-73. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61266-4
62. Nicholas A, Kim YK, Lee WK, Selasi GN, Na SH, Kwon HI, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of *Clostridium difficile* isolates from two Korean hospitals. *PLoS One*. 2017;12(3):e0174716. DOI: 10.1371/journal.pone.0174716
63. Janezic S, Zidaric V, Pardon B, Indra A, Kokotovic B, Blanco JL, et al. International *Clostridium difficile* animal strain collection and large diversity of animal associated strains. *BMC Microbiol*. 2014;14:173. DOI: 10.1186/1471-2180-14-173
64. Janezic S. Direct PCR-Ribotyping of *Clostridium difficile*. In: Roberts A, Mullany P (eds.) *Clostridium difficile*. *Methods in Molecular Biology*, Humana Press, New York. 2016;1476:15-21. DOI: 10.1007/978-1-4939-6361-4_2 15–21
65. Tsai BY, Chien CC, Huang SH, Zheng JY, Hsu CY, Tsai YS, et al. The emergence of *Clostridioides difficile* PCR ribotype 127 at a hospital in northeastern Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*. 2022 Jan 4:S1684-1182(21)00276-0. DOI: 10.1016/j.jmii.2021.12.006
66. Gebreyes WA, Adkins PR. The use of pulsed-field gel electrophoresis for genotyping of *Clostridium difficile*. *Methods Mol Biol*. 2015;1301:95-101. DOI: 10.1007/978-1-4939-2599-5_9
67. Pasanen T, Kotila SM, Horsma J, Virolainen A, Jalava J, Ibrahim S, et al. Comparison of repetitive extragenic palindromic sequence-based PCR with PCR ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis in studying the clonality of *Clostridium difficile*. *Clin Microbiol Infect*. 2011 Feb;17(2):166-75. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03221.x
68. Wang B, Lv Z, Zhang P, Su J. Molecular epidemiology and antimicrobial susceptibility of human *Clostridium difficile* isolates from a single institution in Northern China. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Jun;97(25):e11219. DOI: 10.1097/MD.00000000000011219
69. Aguilar-Zamora E, Weimer BC, Torres RC, Gómez-Delgado A, Ortiz-Olvera N, Aparicio-Ozores G, et al. Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance of *Clostridioides difficile* in Hospitalized Patients from Mexico. *Front Microbiol*. 2022 Mar 10;12:787451. DOI: 10.3389/fmicb.2021.787451
70. Williamson CHD, Stone NE, Nunnally AE, Hornstra HM, Wagner DM, Roe CC, et al. A global to local genomics analysis of *Clostridioides difficile* ST1/RT027 identifies cryptic transmission events in a northern Arizona healthcare network. *Microb Genom*. 2019;5(7):271-283. DOI: 10.1099/mgen.0.000271
71. Marsh JW, O'Leary MM, Shutt KA, Sambol SP, Johnson S, Gerding DN, Harrison LH. Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis and Multilocus Sequence Typing Reveal Genetic Relationships among *Clostridium difficile* Isolates Genotyped by Restriction Endonuclease Analysis. *J Clin Microbiol*. 2010 Feb;48(2):412-8. DOI: 10.1128/JCM.01315-09
72. Killgore G, Thompson A, Johnson S, Brazier J, Kuijper E, Pepin J, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol*. 2008;46(2):431-437. DOI: 10.1128/JCM.01484-07
73. Frentrup M, Zhou Z, Steglich M, Meier-Kolthoff JP, Göker M, et al. A publicly accessible database for *Clostridioides difficile* genome sequences supports tracing of transmission chains and epidemics. *Microb Genom*. 2020 Aug;6(8):mgen000410. DOI: 10.1099/mgen.0.000410
74. Goyal M, Hauben L, Pouseele H, Jaillard M, De Bruyne K, van Belkum A, Goering R. Retrospective Definition of *Clostridioides difficile* PCR Ribotypes on the Basis of Whole Genome Polymorphisms: A Proof of Principle Study. *Diagnostics*. 2020;10(12):1078-88. DOI: 10.3390/diagnostics10121078

Информация об авторах:

Ерусланов Борис Васильевич, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Мицевич Ирина Петровна, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about authors:

Boris V. Eruslanov, MD, PhD, DSc, Leading Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosptrebnadzor

Edward A. Svetoch, PhD, DSc (Veterinary Sciences), Professor, Chief Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosptrebnadzor

Irina P. Mitsevich, Senior Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Departments, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosptrebnadzor



ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ (ФБУН ГНЦ ПМБ)

State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology

Rospotrebnadzor

ОБОЛЕНСК

Направления исследований:

Системная биология
Коллекционная деятельность
Культуральные методы
Биологические пробы
Современные методы биодетекции
и диагностики инфекционных
поражений человека:

- Иммунодиагностические методы на основе моноклональных антител
- Генная диагностика и метагеномика, генотипирование для целей молекулярной эпидемиологии
- Мультиплексные тест-системы, иммуно-ПЦР и LAMP-технология

Разработки в области создания новых
бактериальных вакцин и гуманизи-
рованных лечебных антител

Правила оформления статей (основные положения)

Журнал «Бактериология» публикуется на русском языке (резюме статей и ключевые слова – на русском и английском языках), распространяется на бумажном носителе и публикуется в электронной форме.

К публикации принимаются экспериментальные и обзорные статьи, а также короткие сообщения по прикладным и фундаментальным вопросам медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной бактериологии. Статьи принимаются без ограничения объема от граждан любой страны на русском языке. По согласованию с редакцией допускается публикация рекламных материалов, соответствующих тематике журнала.

Публикации, созданные в порядке выполнения служебного задания, должны иметь направление от учреждения, в котором выполнена работа. В направлении следует указать, что представленный материал ранее не был нигде опубликован и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях (включая зарубежные).

К публикации прилагается экспертное заключение организации об отсутствии ограничений для открытой публикации представленных материалов.

Материалы для публикации, включая сопровождающие документы, направляются в редакцию в электронной форме по адресу: info@obolensk.org или bacteriology@obolensk.org. В теме сообщения следует указать «Бактериология».

Требования к оформлению статьи.

Экспериментальная статья должна состоять из разделов: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, список литературы.

Рукопись должна быть подготовлена в текстовом редакторе MS Word, шрифт – Times New Roman, размер – 14, межстрочный интервал – 1,5, поля – 2 см. Статья должна включать резюме и ключевые слова на русском и английском языках. Нумерация всех страниц рукописи сквозная.

Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

Статья должна быть подписана всеми авторами, включая иностранных.

К статье следует приложить сведения об авторах на русском и английском языках с указанием адреса, контактных телефонов (служебного и мобильного), факса и электронной почты с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией.

Заглавие статьи оформляется следующим образом:

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

И. И. Иванов*, П. П. Петров**

*Первая организация, г. Москва, РФ

**Вторая организация, Техас, США

E-mail

[далее текст аннотации и ключевые слова]

Текст статьи, включая резюме, список литературы, подписи к рисункам и таблицы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным файлом.

РЕЗЮМЕ статьи должно быть представлено на русском и английском языках, отражать основные полученные результаты и содержать не более 250 слов.

КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (словосочетаний) должно быть не более 10, на русском и английском языках.

Во ВВЕДЕНИИ (без заголовка) следует изложить мотивацию написания данной работы и отдельным абзацем обозначить цель исследования. Дополнительно на английском языке.

Раздел МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ должен содержать сведения об объекте исследования (включая источник получения, название коллекции) и краткое описание использованных методик, позволяющее их воспроизвести (на ранее опубликованные и общеизвестные методы дается ссылка); для приборов и реактивов указываются название фирмы на языке оригинала в кавычках и страны в скобках.

Следует использовать общепринятые современные сокращения мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.д. Единицы измерения должны даваться в единицах СИ (Система Интернациональная). Обозначения мутантных и рекомбинантных форм микроорганизмов следует приводить в соответствии с международными правилами. Для трехбуквенного обозначения генов бактерий используют строчные буквы (курсив).

Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в соответствии с пожеланиями авторов. Кроме того, черно-белые и цветные рисунки (в формате *.jpg) прилагаются к статье в виде отдельных файлов (ris1.jpg, ris2.jpg и т.д.)

Сведения о финансовой поддержке работы приводятся в конце текста статьи перед списком литературы.

В СПИСКЕ ЛИТЕРАТУРЫ указываются авторы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Для названия журналов используются общепринятые сокращения (<http://www.nlm.nih.gov/>).

В случае невыполнения настоящих правил оформления статья не принимается и отсылается авторам на доработку.

Редакция оставляет за собой право редактировать статьи по согласованию с автором.

Присланные в редакцию статьи проходят процедуру рецензирования. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:
142279, Московская обл.,
Серпуховский р-н, п. Оболенск, ГНЦ ПМБ
Тел. (4967) 36-00-46
Факс (4967) 36-00-10
E-mail: info@obolensk.org
или
bacteriology@obolensk.org