

**МАТЕРИАЛЫ
IV НАЦИОНАЛЬНОГО КОНГРЕССА БАКТЕРИОЛОГОВ
И МЕЖДУНАРОДНОГО СИМПОЗИУМА
«МИКРООРГАНИЗМЫ И БИОСФЕРА
«MICROBIOS-2018»**



г. Омск, 12-13 сентября 2018 г.

**Материалы
IV Национального
конгресса бактериологов и
Международного симпозиума
«Микроорганизмы и биосфера
«Microbios-2018»**

г. Омск, 12–13 сентября 2018 г.

**Состав организационного комитета
IV Национального конгресса бактериологов
и Международного симпозиума
«Микроорганизмы и биосфера «MICROBIOS-2018»**

12–13 сентября 2018 года, Омск

Председатель

Попова Анна Юрьевна

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

Сопредседатели

Рудаков Николай Викторович

Директор «Омского НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, д.м.н., профессор

Дятлов Иван Алексеевич

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

Члены оргкомитета

Смоленский Вячеслав Юрьевич

Начальник Управления научного обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения и международной деятельности Роспотребнадзора

Крига Александр Сергеевич

Руководитель Управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Омской области – Главный государственный санитарный врач Омской области, к.м.н.

Ливзан Мария Анатольевна

И.о. ректора ГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, д.м.н.

Никитин Сергей Владимирович

Главный врач ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области» Роспотребнадзора, к.м.н.

Стасенко Владимир Леонидович

Декан медико-профилактического факультета ГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, д.м.н., профессор

Шепелин Анатолий Прокопьевич

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

Секретариат

Решетникова Татьяна Александровна

Ученый секретарь «Омского НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, к.м.н., старший научный сотрудник

Домотенко Любовь Викторовна

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

Организаторам и участникам IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018»»



Уважаемые коллеги!

От имени Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека приветствую организаторов и участников IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018», посвященных решению насущных проблем микробиологической науки.

Три предыдущих конгресса бактериологов России проводились в столичных городах – дважды в Москве и один раз в Санкт-Петербурге. Четвертый конгресс проводится в городе Омске, на базе одного из старейших научно-исследовательских институтов эпидемиологического профиля – Омского НИИ природно-очаговых инфекций Роспотребнадзора, решающего целый ряд задач по выполнению прикладных научных исследований и разработок в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Сибири и Дальнего Востока, прежде всего – в области профилактики и борьбы с актуальными природно-очаговыми болезнями.

Международный симпозиум «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018» проводится регулярно с 2012 года и признан значимой международной площадкой для обсуждения широкого круга проблем современной микробиологии, биотехнологии и экологии микроорганизмов. В 2018 году симпозиум впервые проводится в Российской Федерации.

Совмещение этих двух важных форумов, российского и международного, в Омске, одном из крупнейших городов Сибири, регионы которой тесно взаимодействуют с Казахстаном и другими республиками Центральной Азии, в том числе в рамках международного научного сотрудничества, сможет дать новый импульс взаимодействию бактериологов на постсоветском пространстве и развитию международных проектов с участием российских ученых и специалистов.

Перед бактериологами в настоящее время стоят сложные профессиональные задачи, связанные с широким распространением инфекционных заболеваний человека бактериальной природы при интенсивном перемещении жителей России в другие регионы мира, а также в связи с возросшей посещаемостью нашей страны зарубежными туристами и деловыми партнерами. Такая ситуация требует от органов и учреждений Роспотребнадзора скорейшего внедрения в практику работы лабораторий современных методов индикации, выделения и идентификации патогенных биологических агентов – бактерий и их биотоксинов, получения чистых культур возбудителей,

определения их основных свойств, включая вирулентность и антибиотикорезистентность, исследования генетических особенностей, позволяющих выяснить происхождение и эпидемическую значимость штаммов, а также совершенствования методов и средств профилактики бактериальных инфекций.

Участникам научного форума предстоит оценить достигнутый уровень разработок в области создания средств диагностики, профилактики и лечения инфекционных болезней, вызываемых бактериями, а также определить наиболее важные направления исследований, которые могут стать прорывными для решения задачи повышения продолжительности и улучшения качества жизни населения России, которую ставит руководство страны.

Угроза распространения мульти- и панрезистентных штаммов возбудителей бактериальных инфекций среди населения и в медицинских учреждениях ставит научную задачу по разработке альтернативных антибиотикам методов лечения, прежде всего с использованием геномных технологий – создания генно-инженерных вакцин, широкого внедрения методологии геномного редактирования, разработки фаготерапии, направленного создания антимикробных пептидов и их композиций.

Одной из сложных научных задач является создание технологии получения терапевтических человеческих моноклональных антител для лечения инфекций и токсических состояний, для которых традиционных средств лечения не существует. Разработки в области иммунодиагностики, а именно создание быстрых тестов на основе отечественных моноклональных антител, позволяющих ставить диагноз у постели больного и оперативно получать информацию о возбудителе и его токсигенности, также являются приоритетными и чрезвычайно востребованными.

Создание новых отечественных генно-инженерных вакцин, отличающихся высокой эффективностью и низкой реактогенностью, позволит решить важнейшие задачи повышения эффективности иммунопрофилактики актуальных инфекций и импортозамещения вакцинных препаратов.

Уверена, что IV Национальный конгресс бактериологов и Международный симпозиум «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018» позволят специалистам обменяться накопленным опытом и выработать новые подходы к решению задач в области микробиологии и смежных дисциплин с целью обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации и государств Центрально-Азиатского региона.

Желаю организаторам и участникам конгресса плодотворной работы, полезных дискуссий и новых творческих успехов.

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



А.Ю. Попова

Материалы

IV Национального конгресса бактериологов и Международного симпозиума «Микроорганизмы и биосфера «Microbios-2018»

г. Омск, 12–13 сентября 2018 г.

Роль генотипирования *Staphylococcus aureus* при расследовании вспышек стафилококковых инфекций

И.В.Абаев, Ю.П.Скрябин, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

Staphylococcus aureus является представителем нормальной микрофлоры человека, асимптотически колонизирует различные зоны кожного покрова и слизистых. При этом *S. aureus* вызывает широкий спектр инфекций человека: от неосложненных кожных заболеваний до тяжелых патологий, таких как эндокардит, сепсис и др. Каждый вид стафилококковой инфекции ассоциируется с определенным спектром клональных линий *S. aureus* и набором генов вирулентности, в том числе с генами токсинов, ассоциированных с данной инфекцией. В России в настоящее время данные о молекулярной эпидемиологии золотистого стафилококка ограничены исследованиями внутрибольничных метициллин-резистентных штаммов *S. aureus*. В последние годы в РФ выявлены массовые вспышки пищевой инфекции и эксфолиативного дерматита, вызванные метициллин-чувствительными штаммами *S. aureus*. Штаммы *S. aureus*, возбудители стафилококковых пищевых инфекций, характеризуются способностью кодировать «классические» энтеротоксины и кассеты энтеротоксин-подобных белков. Эксфолиативный дерматит новорожденных, эпидермолитическое контактное заболевание человека, является одной из наиболее распространенных токсигенных инфекций *S. aureus* у младенцев. Вспышки эксфолиативного дерматита новорожденных регистрируются в различных регионах РФ.

Известно, что сам факт выделения *S. aureus* при инфекционной вспышке не может служить подтверждением стафилококковой природы вспышки. Для *S. aureus* характерна высокая частота выделения при патологиях человека, вызванных другими микроорганизмами. Для подтверждения стафилококковой этиологии инфекции необходимо установить соответствие генотипа изолятов *S. aureus*, выделенных при вспышке, специфическим свойствам типичных штаммов *S. aureus*, характерных для данного вида инфекции. Для этого проводят генетическое типирование исследуемых изолятов *S. aureus*, которое должно включать как определение

методом ПЦР генов вирулентности и антибиотикорезистентности, так и определение методами сиквенс-типирования клонального типа и sra-типа исследуемого изолята. Данные генотипирования используются для идентификации штамма *S. aureus*, возбудителя расследуемой вспышки стафилококковой инфекции.

Результатом работы по генотипированию возбудителей вспышек пищевой инфекции и эксфолиативного дерматита является создание коллекции охарактеризованных референс-штаммов *S. aureus*.

Работа выполнена в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Бактерицидное действие энтероцина E28 на *Listeria monocytogenes* в водопроводной воде

А.А.Абаимова, М.Г.Теймуразов, Э.А.Светоч,
В.В.Перельгин, В.Д.Похиленко

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

Энтероцин E28 (мундицин KS) – педиоцин-подобный бактериоцин II класса, продуцируемый штаммом *Enterococcus mundtii* E28 и обладающий антилистериозной активностью. Рассматривается в качестве агента для деконтаминации пищевых продуктов и полуфабрикатов от листерий в процессе производства.

Цель исследования. Изучить бактерицидное действие энтероцина E28 на *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 в водопроводной воде.

Материалы и методы. Экспериментальный образец энтероцина E28 был получен в результате культивирования в качалочных колбах, на среде MRS-Broth (Himedia, Индия) с добавлением 0,5% лактозы (V/V) и активированного CM25 Sephadex (10/100 мл). Элюцию проводили раствором А (0,7M NaCl, 35% ацетонитрил, 10% глицерин). Активность полученного образца при проверке спот-методом на штамме *L. monocytogenes* ATCC 19111 составляла 921600 УЕ/мл. Для эксперимента были выбраны разведения 1/8 (115200 УЕ/мл), 1/32 (28800 УЕ/мл), 1/128 (7200 УЕ/мл) и 1/512 (1800 УЕ/мл). Необходимое количество энтероцина добавляли к 4,5 мл 10⁷

суспензии *L. monocytogenes* ATCC 19111 в водопроводной воде и доводили объем до 5 мл. Исследование проводили при трех температурах – 4, 29 и 37°C титрованием с шагом 10 на среду ПАЛ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск) через 1, 3, 6, 12, 24 и 48 часов. Результаты высева учитывали через 48 часов визуально.

Результаты. Под действием энтероцина отмечали снижение концентрации *L. monocytogenes* ATCC 19111: на шесть порядков при концентрации 28 800 УЕ/мл, на пять порядков при концентрации 7200 УЕ/мл и на четыре порядка при концентрации 1800 УЕ/мл при первом высева через час при всех трех температурных точках (4, 29 и 37°C); снижение оставалось неизменным в течение 48 часов.

Вывод. Бактерицидное действие энтероцина E28 на *L. monocytogenes* ATCC 19111 со снижением ее концентрации на шесть порядков в водопроводной воде наблюдается при активности $\geq 28\ 800$ УЕ/мл. Энтероцин E28 в разведениях с активностью не менее 28 800 УЕ/мл может быть использован в качестве агента для деконтаминации пищевых продуктов и полуфабрикатов от листерий в процессе производства.

Работа выполнена в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Влияние pH среды культивирования на антимикробную активность экстрактов эндофитных грибов растений Узбекистана

Л.И.Абдульмянова, Ф.А.Цхай,
Г.А.Расулова, Т.Г.Гулямова

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Эндофиты являются неисчерпаемым источником биоактивных веществ, представляющих биотехнологический интерес для медицины и сельского хозяйства. Однако основной проблемой, препятствующей эффективной коммерциализации эндофитов, является трудность выращивания и сохранения свойств их активных метаболитов в условиях искусственного культивирования. Поэтому первостепенной задачей является подбор условий и сред культивирования, обеспечивающих обильный рост и сохранение продукции целевых веществ эндофитов.

Нами изучено влияние pH среды, как основного параметра культивирования, на уровень продукции биомассы и антимикробную активность 5 штаммов эндофитных грибов: *Penicillium concavoradulozum-VE89L*, *Penicillium brevicaula alba-CC200*, *Aspergillus amstelodami-VR177L*, *Thielavia microspora-MO46L* и *Aspergillus egypticus-HT166S*, впервые выделенных в условиях Узбекистана из различных лекарственных растений и отобранных по антимикробной активности.

Установлено, что при культивировании на среде Чапека с разным значением исходного pH происходят заметные изменения морфолого-культуральных характеристик почти во всех эндофитах, меняется характер пигментации культуральной жидкости, форма и размеры макроколоний.

Каждый эндофит стремится адаптировать заданный pH среды культивирования к своему естественному оптимуму.

Исследованные штаммы можно разделить на толерантные: *Th. microspora-MO46L*, *A. egypticus-HT166S* и *A. amstelodami-VR177L*, растущие при всех предложенных значениях pH, поскольку способны выравнивать pH до оптимальной величины, и восприимчивые: *P. concavoradulozum-VE89L* и *P. brevicaula alba-CC200*, неспособные менять кислотность при более далеких от оптимума значениях pH.

Изучение антимикробной активности экстрактов метаболитов, полученных из биомассы культур, выросших при различных pH, показало, что активность вторичных метаболитов *Th. microspora-MO46L* сохраняется при всех значениях pH среды культивирования и составляет 13–15 мм к *S. aureus* и *B. subtilis*. В отличие от этого, антимикробную активность против этих же тест-культур проявили метаболиты *A. amstelodami-VR177*, выросшей только при pH 8,0–9,0. Метаболиты этого штамма, выросшего при pH 5,0–6,0, антимикробной активностью не обладали.

Таким образом, кислотность питательной среды играет важную роль при искусственном культивировании исследованных эндофитных грибов и влияет не только на накопление биомассы, но и на синтез вторичных метаболитов, обладающих антимикробной активностью.

Термотолерантные микроорганизмы-нефтедеструкторы для биоремедиации загрязненных почв

С.А.Айткельдиева, Э.Р.Файзулина, О.Н.Ауэзова,
Л.Г.Татаркина, Г.А.Спанкулова

ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии», г. Алматы, Казахстан

Среди многочисленных токсичных веществ антропогенного происхождения, загрязняющих окружающую среду, одно из первых мест принадлежит нефти и нефтепродуктам. Поскольку проблема загрязнения природных экосистем нефтью и нефтепродуктами стоит крайне остро, во многих странах мира ведутся исследования по биологической очистке почвы и воды от этих поллютантов. Биоремедиация – наиболее естественный и экологически безопасный способ биодеградации нефти при помощи нефтеокисляющих микроорганизмов. Они, в силу своей полифункциональности, ферментативной активности и высокой скорости размножения, быстрее других организмов разлагают нефтепродукты. Именно поэтому биоремедиация активными штаммами углеводородокисляющих микроорганизмов почв, загрязненных нефтью и нефтепродуктами, предлагается в качестве наиболее перспективного метода борьбы с этим загрязнением.

Одним из основных факторов, определяющих необходимость и способ реализации применяемого ремедиационного подхода, является температурный режим. В зависимости от температуры бактериальная активность и скорости биодеградации могут сезонно изменяться. В нефтедобывающих регионах Казахстана климат резко континентальный, характеризующийся резкими сезонными и суточными перепадами температур, высокими темпами испарения воды и, как следствие, засоленностью и низкой влажностью грунта. Поэтому исследования, связанные с поиском и изучением

термотолерантных углеводородокисляющих микроорганизмов-деструкторов нефти, являются весьма актуальными.

Из нефтезагрязненных почв различных регионов Казахстана было выделено 75 культур нефтеокисляющих микроорганизмов. Оценивалась их способность утилизировать нефть при 35°C. Результаты исследования показали, что 23 штамма были способны в различной степени разлагать углеводороды нефти. Большинство культур утилизировало 20–30% нефти, а девять наиболее активных культур деградировали ее на 50–70% при этом температурном режиме. Эти же культуры росли в минеральной среде с нефтью и при более высоких температурах – 40°C, 50°C. Они могут быть использованы для биоремедиации нефтезагрязненных экосистем в летний период времени в условиях аридного климата.

ПЦР-анализ в режиме реального времени как перспективный метод лабораторной диагностики риккетсиозов

Э.Э.Алиева¹, Е.И.Бондаренко², М.Т.Гафарова³, К.Д.Малый³, Е.А.Вербенец⁴

¹ФГБУ «Сакский военный клинический санаторий им. Н.И.Пирогова» Минобороны России, г. Саки;

²АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск;

³Крымская медицинская академия им. С.И.Георгиевского ФГАО ВО «КФУ им. В.И.Вернадского», г. Симферополь;

⁴ГБУЗС «Городская инфекционная больница», г. Севастополь

Актуальность изучения природных очагов риккетсиозов и целесообразность проведения исследований на предмет выявления ДНК риккетсий в клещах Крыма обусловлены особенностями региона, благоприятствующими циркуляции и сохранению возбудителей в природе, и ежегодным ростом количества людей, обратившихся в медицинские организации по поводу укуса клеща.

Цель: установить зараженность клещей риккетсиями и определить их видовую принадлежность с использованием тест-систем для ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ).

Методы: паразитологический (сбор клещей по общепринятой методике на стандартный флаг и волокушу, с животных клещей собирали вручную; видовая идентификация клещей (по Филипповой Н.А., 1997), лабораторный (выявление ДНК риккетсий с помощью ПЦР-РВ с использованием набора реагентов «РеалБест ДНК Rickettsia species» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) с последующим секвенированием положительных образцов ДНК).

Результаты исследования. Всего собрано с августа по октябрь 2016 г. и проанализировано с помощью ПЦР-РВ 1342 экземпляра клещей. Районы сбора: Сакский, Черноморский, Джанкойский, Советский, Нижнегорский, Ленинский, Белогорский, Симферопольский, города Симферополь и Севастополь.

Видовой состав: *Haemaphysalis punctata* – 65,3%, *Rhipicephalus sanguineus* – 21,8%, *Hyalomma marginatum* – 9,5% и *Dermacentor marginatus* – 3,4%.

С помощью ПЦР-теста «РеалБест ДНК Rickettsia species» в 470 из 1342 образцов нуклеиновых кислот, выделенных из

индивидуальных суспензий клещей, выявлен ДНК-маркер риккетсий, участок гена цитратсинтазы (*glitA*). Отобрано 114 положительных образцов ДНК риккетсий для дополнительной наработки ампликонов и проведения секвенирования их последовательностей по 3–4 генам (*glitA*, *ompA*, *ompB* и *sca4*). Полученные результаты секвенирования сопоставляли с последовательностями нуклеотидов ДНК риккетсий, представленными в базе данных GeneBank. Вид риккетсии устанавливали по 3–4 генам.

Проведенный анализ нуклеотидных последовательностей свидетельствовал о циркуляции в четырех анализированных видах клещей, собранных в Крыму, шести видов риккетсий, из которых пять патогенны для человека: *R. conorii*, *R. massiliae*, *R. aeschlimannii*, *R. mongolotimonae*, *R. slovaca*.

ПЦР-тест «РеалБест ДНК Rickettsia species» позволяет в выделенных образцах нуклеиновых кислот обнаруживать ДНК-маркер риккетсий, циркулирующих на полуострове, и может считаться перспективным методом лабораторной диагностики риккетсиозов.

Пробиотики, их влияние на микробиом кишечника

А.В.Андреева, О.Н.Николаева, О.М.Алтынбеков, Г.М.Султангазин

Башкирский государственный аграрный университет, г. Уфа

Цель исследования – изучение влияния фитопробиотиков на основе лактобактерий и лекарственного сырья, пробиотиков «Споровит» и «Ветоспорин» на динамику показателей микробиоты кишечника.

Для изучения динамики микробиоценоза кишечника пробы фекалий новорожденных телят отбирали до начала опыта, затем на 10, 20, 30-й дни от начала исследований проводили определение состава микрофлоры кишечника и ее типизацию.

Применение фитопробиотика и пробиотика «Споровит» привело к коррекции энтеробиоценоза телят в сторону преобладания бифидо- и лактобактерий. На 30-й день показатели бифидо- и лактофлоры превышали значения у контрольных животных в 1,4 (на 3,0 lg КОЕ/г) и в 1,8 раза (на 5,2 lg КОЕ/г). У телят, получавших «Ветоспорин», количество бифидобактерий относительно контрольного и фонового значения увеличилось: на 10-й день – в 1,3 (на 1,8 lg КОЕ/г) и в 1,6 раза (на 2,2 lg КОЕ/г); на 20-й день – в 1,6 (на 3,6 lg КОЕ/г) и в 1,8 раза (на 4,2 lg КОЕ/г); на 30-й день – в 1,8 (на 4,3 lg КОЕ/г) и в 2,4 раза (на 7,2 lg КОЕ/г). Количество лактобактерий у телят, получавших пробиотик «Ветоспорин», превысило показатели контроля: на 10-й день – в 1,5 раза (на 2,2 lg КОЕ/г); на 20-й день – в 2,1 раза (на 4,4 lg КОЕ/г); на 30-й день – в 2,4 раза (на 4,1 lg КОЕ/г).

На 30-й день исследований в группах, где применяли фитопробиотик и «Споровит», по отношению к контролю количество золотистого стафилококка снизилось в 1,42 и 1,8 раза; энтерококков – в 1,36 и 1,4 раза; клостридий – в 1,2 и 1,4 раза; грибов рода *Candida* – в 1,9 и 2,2 раза. У телят четвертой группы, получавших «Ветоспорин», содержание кишечной палочки уменьшилось относительно контроля и

фона: на 10-й день – в 1,3 (на 2,5 lg КОЕ/г) и в 1,3 раза (на 2,6 lg КОЕ/г); на 20-й день – в 1,7 (на 4,6 lg КОЕ/г) и в 1,8 раза (на 4,1 lg КОЕ/г); на 30-й день – в 1,7 (на 4,2 lg КОЕ/г) и в 1,8 раза (на 4,7 lg КОЕ/г). Кроме того, при изучении динамики энтерококков, стафилококков, дрожжеподобных грибов и клостридий наблюдалось уменьшение содержания относительно контрольных и фоновых значений.

Заключение. Применение фитопробиотика, пробиотиков «Споровит» и «Ветоспорин» способствует оптимизации микробиоценоза кишечника. При этом у новорожденных телят увеличивается количество лакто- и бифидофлоры, уменьшается количество кишечной палочки, энтерококков, стафилококков, клостридий, дрожжеподобных грибов *Candida*.

Разнообразие и биотехнологический потенциал спорообразующих бактерий, выделенных из атмосферных аэрозолей Западной Сибири

И.С.Андреева¹, А.С.Сафатов¹, Л.И.Пучкова¹,
Е.К.Емельянова^{1,2}, Г.А.Буряк¹, В.А.Терновой¹

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Новосибирская область;

²ФГБОУВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск

Исследовано разнообразие спорообразующих бактерий, выделенных из высотных и наземных проб аэрозолей в ходе мониторинга биогенной компоненты атмосферного аэрозоля юга Западной Сибири. Отбор проб атмосферного аэрозоля осуществляли над территорией Караканского бора в 50 км к югу от Новосибирска с помощью лаборатории «Оптик-Э», смонтированной на самолете Ту-154. Самолет пролетал в дневное время над лесным массивом последовательно на высотах 7000, 5500, 4000, 2000, 1500, 1000 и 500 м. Для отбора проб атмосферных аэрозолей в течение 10 минут использовали импинджеры с расходом 50 л/мин, содержащие 50 мл раствора Хенкса в качестве сорбирующей жидкости. Отобранные пробы высевали на стандартные питательные среды, позволяющие выявить микроорганизмы различных таксономических групп.

В период с октября по декабрь 2016 г. зафиксировано значительное преобладание спорообразующих бактерий над представителями других групп микроорганизмов. Из образцов аэрозолей этого срока выделено 62 жизнеспособных культуры бактерий, образующих эндоспоры, изучены их морфологические, физиологические и биохимические признаки, проведена геномная идентификация, определена ферментативная активность. В полученных пробах атмосферного аэрозоля все спорообразующие бактерии являлись психротолерантными и мезофильными; термофильных бактерий не было обнаружено. Выделены и охарактеризованы бактериальные культуры, которые идентифицированы как относящиеся к родам *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Lysinibacillus* и ряду других, обладающие биотехнологически значимой протеолитической, амилолитической, фосфатазной, липолитической и нуклеазной активностями.

Полученные данные позволяют отнести выделенные спорообразующие бактерии как к потенциальным биообъектам для биотехнологических разработок соответствующих продуцентов, так и к имеющим значение для фундаментальных таксономических исследований.

Современные проблемы оценки эпидемической значимости и управления уровнем биологической безопасности территорий, неблагополучных по бруцеллезу животных

П.К.Аракелян¹, А.Н.Трегубов¹, Е.Н.Ильин¹,
Н.В.Христенко¹, А.С.Димова², Т.А.Янченко³, Н.В.Рудаков⁴

¹Научно-производственная лаборатория диагностики и профилактики бруцеллеза ГКУ СК «Ставропольская край СББЖ», г. Ставрополь;

²Новосибирская межобластная ветеринарная лаборатория, г. Новосибирск;

³ФГБНУ «Омский аграрный научный центр», г. Омск;

⁴ФБУН «Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций», г. Омск

Объективная оценка эпидемической значимости и надежное управление уровнем биологической безопасности территорий, неблагополучных по бруцеллезу животных, в современных условиях особенно актуальны.

Максимальную эпидемическую угрозу обеспечивают эпизоотические очаги бруцеллеза. Реакция иммунодиффузии (РИД) с О-полисахаридными (О-ПС) антигенами из *B. melitensis* и *B. abortus* дает возможность оперативнее бактериологического метода оценивать эпизоотическую активность бруцеллеза в каждой отаре (стаде), в том числе на фоне вакцинации. Доказаны перспективы использования О-ПС антигена в ИФА по специальной методике, не уступающей по эффективности РИД, но позволяющей получать результаты в течение 2 часов (вместо 48).

В противозидемическом и противозидеотическом отношениях важно определять вид бруцелл, циркулирующих в эпизоотических очагах. Новые антивидовые моноспецифические сыворотки anti-melitensis и anti-abortus обеспечили высокую и длительную диагностическую активность и другие преимущества.

В интересах улучшения качества эпидемической и эпизоотической оценки неблагополучных по бруцеллезу территорий и повышения уровня их биологической безопасности диагностика бруцеллеза у людей требует совершенствования.

Чаще новые вспышки бруцеллеза у животных происходят в мелких хозяйствах при отсутствии вакцинации, так как ее официальные схемы стали там нетехнологичными. Технологичной оказалась схема конъюнктивной иммунизации животных вакциной из агглютиногенного штамма 19 в уменьшенной дозе. Так, в угрожаемом по бруцеллезу регионе ее ежегодное широкое использование на овцах в течение 4 лет предотвратило массовое возникновение эпизоотических очагов и заболеваемость людей (в районе, где овец не вакцинировали, произошло 20 острых эпизоотических вспышек, заболели люди). Конъюнктивная иммунизация вак-

циной из штамма 19 экспериментальных животных, искусственно зараженных бруцеллезом, на фоне предварительного введения антибактериального препарата обеспечила полную элиминацию вирулентных бруцелл уже через месяц.

Генотипические особенности штаммов *Legionella pneumophila*, выделенных в 2014–2015 годах

Е.И. Асташкин, И.П. Мицевич, Н.Н. Карцев,
Б.В. Ерусланов, Э.А. Светоч, Н.К. Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
г.п. Оболенск

Цель. Молекулярно-генетическое типирование негоспитальных изолятов *Legionella pneumophila*, выделенных в 2014–2015 гг., с использованием методов сиквенс-типирования SBT, RAPD-PCR-типирования и ПЦР-детекции генов вирулентности.

Материалы и методы. Изоляты *L. pneumophila* ($n = 40$) выделены из объектов внешней среды и из клинического материала людей, больных легионеллезом. Изоляты получены из Сочи, Санкт-Петербурга, Мурманска, Краснодара, Ростова-на-Дону и Хабаровска. Серотипирование проводили с помощью набора диагностических сывороток к серотипам 1 и 2-14 (Oxoid, Великобритания). RAPD-PCR проводили с использованием «случайных» праймеров OPA 11 и Wil 2 [Zimmer, 2003], SBT-типирование – по методу Европейской сети надзора за легионеллезом ELDSNet (www.hpa-bioinformatics.org.uk/legionella), с помощью специфичных праймеров для 7 генов: *flaA*, *pilE*, *asd*, *mip*, *tompS*, *proA*, *neuA* [Gaia et al., 2005]. Гены вирулентности легионеллы *lvhB3*, *rtxA*, *dotA*, *hsp60* и *mip* детектировали методом ПЦР [Tachibana M. et al., 2013; Huang B. et al., 2006; Jaulhac B. et al., 1992]. Секвенирование ДНК проводили в ООО SYNTOL (Москва). Анализ последовательностей ДНК осуществляли с помощью программ Vector NTI, Chromas и BLAST. Сиквенс-типы размещены в базе данных ELDSNet. В качестве контрольного использован штамм *L. pneumophila* ATCC33152.

Результаты. Генотипирование выявило 10 RAPD-генотипов: A, B, C, D, E, F, G, H, K и L, а также 11 SBT-типов: 1, 87, 252, 308, 366, 427, 1324, 1326, 1354, 1376 и 1434. Для 3 изолятов SBT-типы не идентифицированы. Идентифицированы ранее описанные в России SBT1 ($n = 6$) и ST87 ($n = 4$), а также 9 ранее не идентифицированных в России SBT-типов: SBT252 ($n = 1$), SBT308 ($n = 1$), SBT366 ($n = 9$), SBT427 ($n = 1$), SBT1324 ($n = 2$), SBT1334 ($n = 1$), SBT1326 ($n = 6$), SBT1354 ($n = 4$), SBT1376 ($n = 1$). Восемь изолятов SBT1, один изолят SBT252, один изолят SBT308, один изолят SBT427 и два изолята неидентифицированного SBT принадлежали к «вирулентному» серотипу 1, остальные изоляты – к серотипам 2-14. Показано, что у 30 изученных изолятов присутствовали пять генов вирулентности, а у 10 изолятов – только четыре гена, причем пятый ген (*lvhB3*) отсутствовал у изолятов сиквенс-типов SBT252, SBT1326 и SBT1354.

Выводы. Генотипирование показало значительное внутривидовое генетическое разнообразие изолятов *L. pneu-*

mophila, выделенных из объектов внешней среды и от людей в 2014–2015 гг. Идентифицировано 11 SBT-типов, при этом 9 из них идентифицированы в России впервые. Выделено 13 эпидемически значимых вирулентных изолятов *L. pneumophila* серотипа 1, относящихся к SBT1, SBT252, SBT 308 и SBT427. Полученные данные представляют большой интерес для анализа эпидемиологической ситуации по легионеллезу.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Экологически безопасные биопрепараты микробного происхождения для улучшения качества продукции и снижения заболеваемости сельскохозяйственных культур

З.Р. Ахмедова

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В лаборатории «Ферменты микроорганизмов» Института микробиологии АН РУз были созданы экологически безопасные препараты «Microzyme-1» (для снижения заболеваемости и повышения урожайности зерно-бобовых, злаковых культур, улучшения качества зерна) и «Microzyme-2» (для снижения заболеваемости и увеличения урожайности оголенных и опушенных видов семян различных сортов хлопчатника).

Препараты представляют собой энзиматически активные жидкости янтарного цвета плотностью 1,17 г/см³, содержащие гидролитические, окислительно-восстановительные ферменты, фитогормоны, антибиотические вещества, не обладающие токсичностью и кумулятивной активностью, предназначены для возделывания голосеменных и покрытосеменных культур в сельском хозяйстве.

Биопрепараты были использованы в экологически различных вилоях Республики (Андижан, Наманган, Фергана, Джизак, Сурхандарья, Ташкент, Республика Каракалпакстан), в которых были получены высокие результаты по увеличению урожайности и снижению заболеваемости возделываемых культур корневой гнилью, гоммозом, фузариозом. Дополнительный прирост урожая более 15 сортов пшеницы составил в среднем 10–12 ц/га, тогда как урожайность более 10 сортов хлопчатника составила в среднем 4–5,6 ц/га. Норма расхода препаратов, установленная Государственной химической комиссией КМ РУз, составляет для «Microzyme-1» 30 л/т семян пшеницы, 30 л/т оголенных семян хлопчатника, 35 л/т опушенных видов семян различных сортов хлопчатника. Экономический эффект от использования «Microzyme-2» при возделывании хлопчатника для опушенных семян составляет 373 000 сум/га, для оголенных – 421 000 сум/га, стоимость препарата составляет 12 000 сум/га. Использование «Microzyme-1» при возделывании пшеницы позволяет получить по 10 ц/га дополнительного урожая, прибыль от урожайности составляет 770 000 сум/га.

Обработка опушенных семян «Microzyme-2» приводит к гидролизу околосеменных целлюлозных волокон, уменьшается

время предварительного замачивания водой в 3 раза, экономится количество воды (почти 50%), затрачиваемое при замачивании опущенных семян. Обработка семян возделываемых культур «Microzyme» не требует особых помещений, специальных подходов, препарат не опасен для работников и окружающей среды.

Биопрепараты вполне могут быть использованы в качестве протравителей вместо токсичных химических веществ, а также в качестве заменителя минеральных кислот, используемых для обеззараживания семян.

Использование препаратов «Microzyme» на практике открывает новые возможности в области сельскохозяйственной биотехнологии, позволяет резко увеличить экономическую эффективность производства не только в Республике, но и в других странах. Поэтому на базе ОАО «Андижон биокимё заводи» была получена промышленная опытная партия биопрепаратов и разработаны производственные регламенты их приготовления.

Препараты являются конкурентоспособными и высокоактивными по сравнению с турецким аналогом «Агрозим», удобны при использовании, экологически безопасны, исключают использование химических препаратов «Ростбисол», «Витовакс-200 Ф», «Далтелбу», «Дивидент» зарубежных фирм и компаний, а также «Гумат натрия» отечественного производства.

Также проведены исследования по изучению карбогидролизующих ферментов грибов, бактерий и дрожжей. Изучены ферменты амилолитического комплекса высокоактивных штаммов *Bacillus subtilis* 150 и 7А, инулазного, а также протеолитического комплексов гриба *Aspergillus oryzae* и 5 штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Определены оптимальные условия ферментообразования, получены активные формы ферментов, изучены специфичности их действия и каталитические свойства. С использованием клубней *Heliantus tuberosus* L и различных рас дрожжей была создана новая технология приготовления пекарских дрожжей, позволяющая увеличить выход биомассы, сократить норму расхода и времени сбраживания теста. С использованием инулазы *Aspergillus oryzae* и дрожжей были приготовлены различные виды консервных изделий, соков и пюре из клубней топинамбура, имеющие лечебный эффект при лечении сахарного диабета и некоторых диабетических заболеваний как взрослых, так и детей.

Гидролитические ферменты грибов, лизирующие клеточные стенки фитопатогенов

З.Р.Ахмедова, З.Т.Хамраева, Т.Э.Шонахунов, М.А.Яхяева, И.Т.Гулямова

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Проведен обширный скрининг более 200 музейных культур микроскопических грибов, широко распространенных в различных регионах Узбекистана, хранившихся в лабораториях «Коллекция микроорганизмов» и «Ферменты микро-

организмов» ИМБ АН РУз, относящихся в основном к родам *Fusarium* (42 культуры), *Aspergillus* (37 культур), *Penicillium* (51 культура) и сапрофитным, эндофитным, паразитным культурам грибов (71 культура). Местные культуры были выделены из различных объектов в разных регионах республики (почвы, гниющих остатков растений, навозов, больных листьев, стеблей, корней растений) и доведены до чистой культуры, определены до рода и вида.

Проведена оценка общей гидролизующей способности указанных грибов методом поверхностного культивирования на агаризованных средах, содержащих полисахариды (МКЦ и хитин) в концентрации 5,0%, внесенных в состав синтетической питательной среды Чапека в качестве единственного источника углерода. По величине зоны гидролиза обоих полисахаридов были отобраны 72 культуры грибов. Далее, проведены исследования по оценке гидролизующей активности отобранных грибов на разных субстратах, содержащих натуральные и синтетические субстраты целлюлозы, NaМКЦ (высокополимерный), хитин (из морской медузы, краба), хитозан (из куколки тутового шелкопряда *Bombyx mori*), древесную микрокристаллическую целлюлозу. По степени роста и зоны гидролиза полисахаридов в течение 3–7 суток были отобраны 7 грибов из рода *Fusarium*, 12 грибов из рода *Aspergillus*, 4 – из рода *Penicillium*, 17 грибов-сапрофитов, выделенных из больных растений.

Методами глубинного культивирования отобранных грибов на полисахаридсодержащих средах (2% хитина и 2% МКЦ) были определены количество белков и гидролитические ферменты, лизирующие клеточные стенки растений, грибов и насекомых в динамике их роста в течение 24–144 часов роста. Высокий уровень роста и максимальное количество белка в культуральной жидкости были обнаружены у грибов *F. moniliforme* 191, *P. purpurogenium* 159, *Acremonium sp.*, *Alternaria sp.* 62, *Alternaria sp.* 76.

Определено влияние инокулята, видов субстратов и их концентраций на образование белка и ферментативные активности целлюлазы, целлобиазы, целлобиогидролазы, хитиназы, хитозаназы, ксиланазы, протеазы (кислой, нейтральной, щелочной) на средах с хитином, хитозаном и целлюлозой различной структуры и модификации.

Максимальное образование белка, гидролитических ферментов, биомассы наблюдали у культур *P. purpurogenium* 159 и *Penicillium sp.* 18, далее *Aspergillus terreus* 461 и *Aspergillus terreus* 499, а также *Ulocladium sp.* 134, выделенных из местных регионов Республики.

Культуры и их ферментативно-активные жидкости с высокой хитиназной и целлюлазной активностью были тестированы на рост и развитие насекомых-вредителей, а также широко распространенных грибов-фитопатогенов сельскохозяйственных культур в Республике Узбекистан. По полученным результатам литического действия гидролаз отобранных нами высокоактивных культур грибов на фитопатогены и губительного действия на личинки и клеточный покров насекомых-вредителей сельскохозяйственных растений составлен компонентный состав и рецептура приготовления биопрепарата под названием «Фитоцит» для использования на практике в области защиты растений.

Микробиологические способы приготовления биологических кормов путем биотрансформации растительных отходов сельского хозяйства

З.Р.Ахмедова, Т.Э.Шонахунов, Н.Т.Рашидова, Д.О.Рахманов

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В последнее время внедрение биотехнологических методов в технологию производства кормовых продуктов открывает широкие перспективы для создания безотходных, ресурсосберегающих технологий, позволяющих рационально использовать все компоненты органического сырья, отходов сельского хозяйства, улучшая сложившееся экологическое равновесие. К числу таких отходов можно отнести растительные отходы, выход которых составляет 70% от всей массы растения. Показано, что отходы многих сельскохозяйственных растений, таких как пшеница (отруби, солома), кукуруза (стебли, кочерыжки), хлопчатник (семена, шелуха, шрот, стебли, створки), топинамбур (стебли и выжимки), а также отходы целлюлозно-бумажной промышленности (опилки, стружки и др.), являются потенциальными источниками получения разнообразных биологически ценных продуктов, в которых остро нуждаются многие отрасли промышленности нашей страны. Целесообразность использования многотоннажных отходов растений в качестве исходного материала для приготовления кормов зависит, прежде всего, от их химического состава, возможности ферментации. В результате образуются биологически ценные вещества – ферменты, белки, свободные аминокислоты, а также углеводы в большом количестве, которые расходуются далее для сбалансирования биологических кормов, используемых при вскармливании животных, птиц и пр.

Для приготовления сбалансированных по составу и питательной ценности биологических кормов использовали многотоннажные лигноцеллюлозные и промышленные отходы. Для биоконверсии составных химических компонентов субстратов (целлюлозы, гемицеллюлозы, пектина, лигнина) использовали культуры и ферментные жидкости непатогенных грибов *Aspergillus oryzae*, *Penicillium notatum*, *Trichoderma harzianum*, *Pleurotus ostreatus*, также дрожжей *Saccharomyces cerevisia*. Приготовление кормов проводили способами глубинного и поверхностного культивирования на средах, содержащих 2–5% отходов (древесные опилки, початки и стебли кукурузы, рисовая и пшеничная солома) и минеральных солей среды Чапека. Из промышленных отходов использовали послеспиртовую барду, содержащую 42% клетчатки, 2–4% пектина, 7,0% азотистых веществ, 2% сивушных спиртов и т.д. Для получения активных ферментов подбирали оптимальный состав среды, способы инокуляции и условия культивирования грибов как в отдельности, так и в комбинации.

Полученные ферментные жидкости в активной стадии ферментообразования грибами использовали в птицеводстве путем ниппельной пойки (3 раза в день по 10 мл) кур-бройлеров и кур-несушек в течение 10–30 дней. Благодаря активности ферментов целлюлазы, амилазы, ксиланазы,

протеазы усвоение традиционных кормов курами увеличилось в 2 раза, падеж и болезни кур резко сократились, что свидетельствует о положительном влиянии ферментов целлюлолиза, протеолиза, амилолиза на гидролиз крахмала, целлюлозы, гемицеллюлозы, белков, содержащихся в составе исходных кормов, предназначенных для кормления птиц.

Далее, ферментативно гидролизованные, легко усвояемые продукты, обогащенные ферментами, белками, углеводами, водорастворимыми витаминами, свободными аминокислотами и др. биологически ценными веществами микробного синтеза, были добавлены в концентрациях 5, 10, 15% в состав ежедневно употребляемых исходных кормов птиц, которые также показали высокие результаты по яйценоскости и приросту живой массы во время проведения опытов.

Полученные результаты открывают перспективу создания отечественной базы кормов, биологически активных катализаторов усвоения пищи, с дальнейшим увеличением продуктивности и снижением заболеваемости в птицеводстве.

Гидролитически и антибиотически активные вещества микроорганизмов для трансформации отходов сельского хозяйства и кормопроизводства

З.Р.Ахмедова, Т.Э.Шонахунов, Т.С.Хусанов, З.Т.Хамраева, М.А.Яхяева, И.Т.Гулямова

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Многотоннажные, ежегодно возобновляемые отходы растениеводства Республики Узбекистан (пшеничная и рисовая солома, стебли хлопчатника, кукурузы и початки, отруби и др.), навозы животноводства и птицеводства (конский, свиной, крупного рогатого скота, овец, птичий помёт и др.) являются источниками получения прежде всего азота, клетчатки, макроэлементов и других ценных питательных веществ. Указанные навозы из-за высокой концентрации клетчатки и обсемененности, высокого pH не употребляются как органическое удобрение без выдержки – они должны подвергаться ферментативной обработке и гидролизу. Приготовленный компост можно использовать в качестве биоудобрения, особенно для выращивания съедобных грибов, которые из-за питательной ценности и целебных свойств год за годом становятся все более востребованными продуктами питания людей и сырьем для фармацевтической промышленности.

Поэтому нами изучен химический состав пшеничной соломы, кукурузных початков, основные элементы и микробный пейзаж различных навозов (крупного рогатого скота, конский, птичий, свиной) с учетом содержания клетчатки, азотистых веществ, pH и др. Для ферментации субстратов был изучен спектр целлюлолитических ферментов у грибов-целлюлозолитиков: родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Pleurotus*, актиномицета *Streptomyces sp.*, а также дрожжей *Saccharomyces*, обогащающих компост белками, азотистыми и биологически ценными веществами.

Для ферментации соломы пшеницы и початков кукурузы и ускорения созревания навозов (КРС), обеспечивающих гидролиз клетчатки, были использованы культуры грибов-целлюлозолитиков, а для устранения микробной обсемененности навозов – антибиотически активные жидкости актиномицетов. Процесс ферментации проводили в течение 3–30 суток при 40–45°C в закрытых ямах. Для определения степени готовности ферментационного субстрата, деструкции составных частей субстратов и содержания легкоусвояемых веществ были приготовлены различные образцы биокомпоста с легко усваиваемыми веществами и присущими им гидролизованностью, обогащенные ферментами, белками, витаминами, минеральными веществами, образующимися во время микробной конверсии. Образцы биокомпоста были использованы в выращивании высших съедобных грибов, в частности шампиньона, и обеспечивали рост и развитие, быстрое плодоношение *Agaricus bisporus*.

С целью увеличения разнообразия посевного материала шампиньона проведены поверхностный и глубинный способы культивирования *Agaricus bisporus* с учетом количества плодоносящих клеток. Ферментация отходов активными грибами, актиномицетами, обладающими также антагонистическими способностями, способствовала снижению присутствия сопутствующей микрофлоры, гнилостных бактерий, патогенов, сапрофитов, яиц гельминтов, углублению степени биотрансформации целлюлозы растений и клетчатки навозов и сокращению сроков готовности компостов к употреблению.

Разработанная технология приготовления биологических компостов путем ферментативной конверсии с дальнейшим их использованием в выращивании грибов и тепличных культур позволит поднять уровень развития и экономию пищевой отрасли, охраны окружающей среды, оздоровления почвы, а также позволит эффективно использовать огромные объемы ежегодно возобновляемых растительных остатков и навозов животноводства, птицеводства.

Влияние солеустойчивых ризобактерий хлопчатника на образование пролина в проростках хлопчатника на засоленных почвах

А.Е.Бабина, Г.И.Джуманиязова, С.И.Закирьяева, Х.С.Нарбаева

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В функционировании защитных систем солеустойчивых растений важнейшее значение отводится пролину, защищающему белково-липидные комплексы путем обезвреживания гидроксильных радикалов и других активных форм кислорода, повреждающих биомембраны. При засолении почв растения испытывают водный дефицит; пролин – один из самых распространенных осмолитов, поддерживающих осмотический потенциал клетки.

В наших опытах мы использовали сильно засоленную почву Сырдарьинской области. Сочетание засоленности требует от растений эффективных механизмов адаптации,

одним из которых является увеличение содержания пролина в растениях.

Целью исследований являлось изучение изменений содержания пролина в проростках хлопчатника при использовании биопрепарата комплексного действия RIZOKOM-1 на основе ассоциации из 4 новых штаммов солеустойчивых фосформобилизующих ризобактерий хлопчатника родов *Bacillus* и *Paenibacillus*.

Монокультуры и биопрепарат RIZOKOM-1 применяли для предпосевной обработки семян хлопчатника. Контролем служили семена хлопчатника, замоченные в воде.

Эксперименты показали, что все изученные монокультуры ризобактерий хлопчатника, при бактеризации ими семян в лабораторных условиях, способствовали повышению образования пролина растениями: штаммы *Paenibacillus sp.* 113 и 118 – до 0,187 и 0,196 $\mu\text{mol/g}$ сырого вещества, *Bacillus subtilis* 80, *Bacillus licheniformis* 83 – до 0,154 и 0,166 $\mu\text{mol/g}$ сырого вещества соответственно, по сравнению с контрольным вариантом, где семена хлопчатника были замочены в воде (0,086 $\mu\text{mol/g}$ сырого вещества). Применение биопрепарата RIZOKOM-1 (ассоциация из 4 штаммов) способствовало значительному увеличению образования растениями пролина – 0,313 $\mu\text{mol/g}$ сырого вещества по сравнению с контролем.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что при применении биопрепарата RIZOKOM-1 происходит стимуляция образования пролина растениями, что приводит к повышению солеустойчивости растений хлопчатника при выращивании его на засоленных почвах.

Разработка диагностических тест-систем для идентификации *Clostridium difficile* и их токсинов

В.А.Баннов, Б.В.Ерусланов, И.П.Мицевич, Э.А.Светоч

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Интенсивное применение антибиотиков для лечения пациентов, длительно находящихся в стационарах, нередко является причиной *Clostridium difficile*-инфекции, которая может протекать в виде тяжелой диареи, колита или тяжелого псевдомембранозного колита, нередко заканчивающегося летальным исходом. Чаще всего *C. difficile*-инфекция поражает пожилых пациентов с ослабленным иммунитетом.

Основными патогенетическими факторами *C. difficile* являются синтезируемые ими токсины А и В, контролируемые генами *tcdA* и *tcdB*. Заболевание у человека вызывают *C. difficile* с фенотипом А⁺ В⁺ и А⁻ В⁺; штаммы *C. difficile* с фенотипом А⁻ В⁻ заболевания не вызывают. Для выделения и идентификации *C. difficile* используют культуральные методы, реакцию латекс-агглютинации, метод масс-спектрометрии (MALDI-TOF типирование на масс-спектрометре BRUKER). Для определения токсинов, продуцируемых выделенными культурами *C. difficile*, а также для обнаружения токсинов в содержимом кишечника используют реакцию нейтрализации в культуре клеток (для определения токси-

на В), иммуно-ферментный анализ (ИФА), иммунохроматографические экспресс-тесты и некоторые другие методы. Для обнаружения генов *C. difficile*, детерминирующих синтез токсинов А и В, широко используют полимеразную амплификацию специфических ДНК (ПЦР). В международной практике диагностика *C. difficile* с помощью ПЦР представлена многими фирмами США, Германии, Франции и других стран. Среди российских разработок можно отметить только две коммерческие ПЦР тест-системы: система С 2028 фирмы Литех-Изоген и набор реагентов Ампли-Сенс для амплификации ДНК *C. difficile* (*Clostridium difficile* – Eph, B23) фирмы Интерлабсервис. В обеих тест-системах реализован метод ПЦР в классическом формате.

Цель наших исследований – разработать латексную тест-систему для быстрой идентификации *C. difficile* среди колоний анаэробов, выросших на специальных питательных средах после первичного высева исследуемого материала, а также разработать мультиплексную ПЦР тест-систему в реальном времени для выявления токсигенных штаммов *C. difficile*, в том числе штаммов с фенотипом А⁺ В⁺; А⁻ В⁺; А⁻ В⁻.

Латексный диагностикум получали путем сенсibiliзации латексных частиц диаметром 0,8 мкм специфическими IgG, наработанными с помощью аффинного сорбента на полисахариды *C. difficile*. Полисахариды выделяли методом Westfale в нашей модификации. Разработанная латексная тест-система характеризуется 100%-й чувствительностью и высокой специфичностью: она давала положительную реакцию со всеми 56 клиническими и лабораторными штаммами *C. difficile* и не реагировала с 20 штаммами других видов клостридий.

Мультиплексная ПЦР тест-система разработана в формате реального времени на основе набора праймеров на консервативную 5'-область внутреннего фрагмента гена токсина В (*tcdB*) и 3'-области внутреннего фрагмента гена токсина А (*tcdA*). Праймеры на участок гена *tcdA* разработаны с учетом имеющихся в гене повторов. ПЦР тест-система содержит набор реактивов, позволяющих проводить реакцию ПЦР в реальном времени, используя специфические праймеры (*tcdA* F/R и *tcdB* F/R) и зонды *tcdAB1* FAM и *tcdBB2* HEX. Тест-система совместима с коммерческими наборами для выделения ДНК из клинического материала. Она высокоспецифична: выявляет только ДНК токсигенных штаммов *C. difficile*. Чувствительность тест-системы – 1×10^4 КОЕ/мл возбудителя.

Выводы. Разработанная латексная тест-система для идентификации культур *C. difficile* и мультиплексная ПЦР тест-система в реальном времени для идентификации генов синтеза токсинов А и В после их государственной регистрации вполне могут заменить аналогичные зарубежные тест-системы для идентификации *C. difficile* и их токсинов.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Оценка профиля резистентности к антимикробным препаратам штаммов *Pseudomonas aeruginosa* – возбудителей наружных отитов

Л.Т.Баязитова^{1,2}, О.Ф.Тюпкина¹, Т.А.Чазова¹, М.В.Целищева², Е.М.Покровская³

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

²ФГБОУ ВО «Казанский ГМУ» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань;

³Медицинский центр «Март», отделение оториноларингологии, г. Казань

В последнее время наблюдается тенденция к увеличению доли гнойно-септических заболеваний синегнойной этиологии. Устойчивость *P. aeruginosa* в окружающей среде, комплекс факторов вирулентности, растущая антибиотикорезистентность способствуют трудностям эрадикации данного патогена из тканей и формированию госпитальных штаммов.

Синегнойная палочка – доминирующий этиологический фактор при наружных отитах. Воспалительные заболевания наружного уха псевдомонадной этиологии склонны к рецидивированию и трудно поддаются антимикробной терапии.

Цель исследования: изучение резистентности к антимикробным препаратам *P. aeruginosa*, колонизирующего наружные слуховые проходы при наружных отитах.

Материалы и методы. Проведено исследование биоматериала из наружного уха ($n = 304$). Использовали питательные среды: 5%-й кровяной, мясопептонный, Сабуро, желточно-солевой агар, Эндо. Идентификацию микроорганизмов осуществляли согласно нормативным документам. Чувствительность к антимикробным препаратам определялась по Клиническим рекомендациям (2015 г.). Чувствительность к бактериофагам (интести-бактериофагу и пиобактериофагу) оценивали с помощью спот-метода (метод пятна).

Результаты. В микробиоте наружных слуховых проходов у больных с наружными отитами рост *P. aeruginosa* наблюдался у 30,9% пациентов как в монокультуре, так и в составе полимикробных ассоциаций (19,7%). Ассоциативный рост *P. aeruginosa* и *Candida spp.* выявлен у 15,9% обследованных. Спектр антибиотикочувствительности синегнойной палочки: высокоэффективными препаратами показали себя карбапенемы (к меропенему чувствительны 87,2% штаммов, к имипенему – 82,9% штаммов). Доля изолятов *P. aeruginosa*, чувствительных к ципрофлоксину, составила 79,7%, к левофлоксацину – 77,6%. Цефалоспорины сохраняют активность в отношении *P. aeruginosa*: 79,7% изолятов чувствительны к цефоперазону; 74,4% – к цефепиму, 72,3% – к цефтазидиму. Уровень чувствительности к бактериофагам: 84,3% штаммов *P. aeruginosa* лизировались интести-бактериофагом; 79,4% – пиобактериофагом.

Заключение. Одним из доминирующих отопатогенов при наружных отитах является *P. aeruginosa*, колонизирующая наружные слуховые проходы как в виде монокультуры, так и в составе бактериальных и бактериально-грибковых ассоциаций, что обуславливает необходимость дифференцированного подхода к лечению больного, основанного на

микробиологическом исследовании с определением профиля резистентности к антимикробным препаратам и бактериофагам.

Апробация иммунохроматографической тест-системы для выявления капсульного антигена чумного микроба в объектах окружающей среды и пробах от мелких млекопитающих

С.А.Белькова¹, С.В.Балахонов¹,
О.Д.Захлебная¹, С.Ф.Бикетов²

¹ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Иркутск;
²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, п.г. Оболенск

Апробирован диагностический препарат производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск) «Имунохроматографическая тест-система *Yersinia pestis*» *in vitro* и *in vivo*. Чувствительность и специфичность препарата проверяли с использованием 8 опытных штаммов *Y. pestis* основного, алтайского и улэгейского подвидов из природных очагов Сибири и Монголии, 30 штаммов основного и алтайского подвидов для заражения 298 беспородных белых мышей и морских свинок и 4 контрольных: *Y. pestis* EV НИИЭГ (F1⁺, F1⁻), *Y. enterocolitica* И-383 (O:9), *Y. pseudotuberculosis* И-53(I), *Escherichia coli* ATCC 25922. Опытные штаммы обладают капсульным антигеном (F1⁺), что подтверждено результатами РПГА и плазмидного анализа.

В микробных взвесах, содержащих $1 \times 10^7, 10^8, 10^9$ КОЕ/мл, выявлена фракция 1 у всех образующих капсулу штаммов *Y. pestis*. В смесях №1 (*Y. pestis* subsp. *altaica* И-2377, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *E. coli*) и №2 (*Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *E. coli*) выявлены клетки штаммов И-2377 и И-2638 в концентрации $1 \times 10^8, 10^7$ КОЕ/мл соответственно. При исследовании имитации смывов с коры дерева тест-система выявила клетки штамма И-2377 в аналогичной концентрации.

При исследовании суспензий органов установлено, что «ИХ тест-система» выявляет капсульный антиген чумного микроба в пробах от недавно павших и от животных с признаками разложения. В посевах биоматериала от животных с признаками разложения на агар Хоттингера без добавления генцианвиолета наблюдали рост колоний *Y. pestis* и обильный рост посторонней микрофлоры: кокков, сарцины, протей, что практически отсутствовало при посеве органов только что павших биопроб на аналогичную питательную среду. Полученные результаты показали, что «ИХ тест-система» выявила капсульный антиген чумного микроба в суспензиях внутренних органов, содержащих смесь микроорганизмов, колонизировавших печень и селезенку экспериментальных животных с явными признаками разложения.

«ИХ тест-система *Y. pestis*» производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск) обладает высокой специфичностью и хорошей чувствительностью при выявлении капсульного антигена возбудителя чумы: выявляет клетки чумного ми-

кроба разных подвидов в микробных взвесах и в пробах, полученных из объектов окружающей среды и органов павших мелких млекопитающих. Это позволит более широко применять данный диагностический препарат в лабораторной диагностике чумы на этапе индикации, в частности при проведении эпизоотологического обследования природных очагов.

Изучение уровня трансовариальной передачи *Candidatus R. tarasevichiae* в лабораторных линиях клещей *Ixodes persulcatus*

О.А.Боброва¹, И.Е.Самойленко¹, В.В.Якименко¹,
С.В.Штрек^{1,2}, В.А.Рар³, Я.П.Иголкина³

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск;
²ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет», г. Омск;
³ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск

Выявление ДНК *Candidatus R. tarasevichiae* в клещах *Ixodes persulcatus* впервые было описано в 2003 г. Установлена высокая инфицированность клещей *Ixodes persulcatus* этим микроорганизмом на ряде территорий России. По генотипическим признакам *Candidatus R. tarasevichiae* относится к предковой группе риккетсий.

Учитывая роль иксодовых клещей как естественной среды обитания риккетсий, экспериментальное изучение их взаимоотношений имеет существенное значение для понимания закономерностей существования популяции микроорганизма в природном очаге.

Целью данного исследования являлось изучение трансовариальной передачи *Candidatus R. tarasevichiae* в лабораторных линиях клещей *Ixodes persulcatus*.

Использованы имаго первого поколения лабораторной линии клещей *I. persulcatus*, естественно инфицированных в природе. При индивидуальном исследовании 20 личинок первого поколения в двухраундовой ПЦР с последующим секвенированием во всех образцах была выявлена ДНК *Candidatus R. tarasevichiae*.

После кормления клещей на взрослых белых мышах нами были получены личинки второго поколения от двух самок (№1 и №2). Наличие риккетсий в голодных личинках выявляли в реакции непрямой иммунофлуоресценции (РНИФ) и методом ПЦР. Известно, что *R. bellii*, также относящаяся к предковой группе риккетсий, перекрестно реагирует с антителами как к риккетсиям группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), так и к риккетсиям группы сыпного тифа (СТ). Исходя из этого, нами было проведено параллельное исследование индивидуальных экземпляров личинок (по 50 из каждой линии) с иммунными сыворотками к *R. sibirica* (группа КПЛ) и к *R. prowazekii* (группа СТ).

Наличие ДНК риккетсий определяли в однораундовой ПЦР с праймерами RP877p и RP1258n, амплифицирующими фрагмент гена цитрат-синтазы (*glTA*). Исследовано 50 пулов (по 20 личинок) из потомства каждой самки.

В результате проведенных исследований установлено: ДНК риккетсий выявлена во всех 50 пробах голодных личинок, полученных от самки №1 (100%), из 50 проб личинок, полученных от самки №2, положительными оказались 33 пробы (66% ± 7). При секвенировании положительной в ПЦП пробы подтверждено наличие ДНК *Candidatus R. tarasevichiae*.

Риккетсии, содержащиеся в личинках, полученных от самки №1, положительно реагировали с антителами к *R. sibirica* в 42 пробах из 50 исследованных (84% ± 5), и с антителами к *R. prowazekii* в 32 пробах из 50 (64% ± 7). Риккетсии, содержащиеся в личинках, полученных от самки № 2, положительно реагировали в 42 из 50 проб (84% ± 5) с антителами к *R. sibirica* и в 30 пробах из 50 с антителами к *R. prowazekii* (60% ± 7).

Перекрестное реагирование с антителами к риккетсиям групп КПЛ и СТ наблюдалось у риккетсий, содержащихся в личинках, полученных от самки №1, в 30 исследованных пробах (60% ± 7); у риккетсий, содержащихся в личинках, полученных от самки №2, в 26 пробах (52% ± 7).

Нами установлено, что *Candidatus R. tarasevichiae*, так же как и *R. bellii*, реагирует с антителами как к риккетсиям группы КПЛ, так и к риккетсиям группы СТ, что, возможно, является общим свойством для риккетсий предковой группы.

Высокий уровень трансвариальной передачи *Candidatus R. tarasevichiae* в клещах *I. persulcatus* свидетельствует об их тесной экологической связи. Вероятно, клещи *I. persulcatus* являются не только вектором, но и резервуаром для *Candidatus R. tarasevichiae*.

Выделение *Yersinia ruckeri* от человека

Е.А.Богумильчик¹, Г.И.Кокорина¹, Е.В.Зуева¹, Т.Б.Поутонен², Е.В.Миронова², Е.А.Воскресенская¹

¹ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», г. Санкт-Петербург;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в республике Карелия», г. Петрозаводск

Yersinia ruckeri является значимым сельскохозяйственным патогеном, вызывающим «болезнь красного рта» у рыб семейства лососевых. Штаммы *Y. ruckeri* распространены среди популяций рыб в Северной Америке, Австралии, Южной Африке и Европе, в том числе в южных регионах РФ. Представители *Y. ruckeri* разделены на биотипы/серотипы, имеют факторы патогенности и способность к биопленкообразованию.

В России штамм *Y. ruckeri* впервые выделен нами при проведении бактериологического исследования из испражнений больного гастроэнтерологического профиля при отрицательных результатах его обследования на другие инфекции вирусной и бактериальной этиологии, а также при отсутствии соматической патологии. При посеве материала после «холодового» обогащения на среде «Иерсиния-агар» (ГНЦ ПМБ) регистрировали желто-зеленые выпуклые с ровным краем с матовым налетом колонии диаметром 2–4 мм. Штамм обладал типичными для иерсиний культурально-морфологическими свойствами. При этом на среде Олькеницкого не наблюдали гидролиза мочевины, т.к. характер-

ным для *Y. ruckeri* является отсутствие фермента уреазы, вследствие чего колонии на «Иерсиния-агаре» также не имели типичного для других иерсиний сине-зеленого цвета, и наличие лизиндекарбоксилазы. Поэтому в ходе бактериологического исследования такие штаммы могут быть неверно идентифицированы как представители родов *Serratia* и *Hafnia*. Дальнейшие исследования методом MALDI ToF MS и определение биохимической активности микроорганизма с использованием тест-системы API 20E показали, что выделенный микроорганизм относится к виду *Y. ruckeri*. В качестве дополнительного метода определения родовой и видовой принадлежности исследуемого штамма применяли секвенирование гена *16S rDNA*.

Являясь абсолютным патогеном для лососевых и других рыб, часто употребляемых в пищу человеком не только в термически обработанном, но и сыром виде, *Y. ruckeri* не рассматриваются как возбудители кишечных инфекций. Есть публикация о выделении *Y. ruckeri* из раневого отделяемого человека. Выделение штаммов *Y. ruckeri* от больных необходимо для решения вопроса об их возможной этиологической значимости. Однако особенности роста *Y. ruckeri* на дифференциально-диагностических средах требуют дополнительных исследований.

Применение алгоритмов метагеномного анализа для изучения сложных биологических образцов

А.Г.Богун¹, А.А.Кисличкина¹, А.А.Сизова¹, Ю.П.Скрябин¹, Н.В.Майская¹, В.А.Фёдорова², И.А.Дятлов¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk;

²«Саратовский научно-исследовательский ветеринарный институт» Россельхозакадемии, г. Саратов

Метагеномика является новым направлением, позволяющим исследовать сложные биологические образцы. В настоящее время изучение бактериальных сообществ проводится с использованием двух технологий. Первая основана на амплификации гена *16S* рибосомальной РНК и последующем определении видового состава бактериального сообщества. Недостатком данной технологии является большое количество артефактов, возникающих при амплификации, а также отсутствие возможности идентифицировать бактерии на уровне штаммов. Другим недостатком данного подхода является отсутствие возможности проводить идентификацию простейших, грибов и вирусов в исследуемом образце.

Второй экспериментальный подход к проведению метагеномных исследований основан на изучении тотальной фракции нуклеиновых кислот, присутствующих в образце. Несомненным преимуществом данного подхода является возможность изучения всех представителей сообщества – бактерий, вирусов, простейших, грибов. При этом оказываются возможными идентификация микроорганизмов на уровне штамма, изучение факторов, ответственных за патогенез, а также генов, обуславливающих устойчивость мик-

роорганизмов к лекарственным препаратам. Недостатками данного подхода является необходимость генерации большого объема данных, высокая стоимость проведения анализа, необходимость привлечения высокопроизводительного вычислительного оборудования для обработки результатов.

Алгоритмы обработки данных, используемые при проведении метагеномного анализа, могут применяться при изучении возбудителей инфекционных заболеваний, являющихся облигатными внутриклеточными паразитами. Культивирование подобных микроорганизмов на питательных средах оказывается невозможным. В связи с этим эксперименты приходится проводить с использованием клеточных линий или куриных эмбрионов. Как следствие, полученные препараты могут содержать большое количество нуклеиновых кислот из организма-хозяина, что затрудняет проведение анализа.

Нами проведены исследования архивов данных, полученных при анализе штамма *Chlamydia psittaci*, выращенного на клетках куриного эмбриона. Выделение фракции, обогащенной бактериальными клетками, проводилось с использованием метода ультрацентрифугирования. При секвенировании образца получен архив, содержащий 2 376 938 парных ридов длиной 220 оснований. В работе использовалась стандартная база геномов микроорганизмов NCBI, а также последовательности генома куриного эмбриона galGal5 (AADN00000000). При использовании программы Kraken и стандартной микробной базы 52 479 ридов (2%) были идентифицированы как принадлежащие к геному *C. psittaci*. В то же время при использовании базы данных, полученной с использованием последовательности galGal5, 2 282 025 (96%) ридов были идентифицированы как геномные последовательности куриного эмбриона. Таким образом, реальное содержание ДНК *C. psittaci* в изучаемом образце находилось в диапазоне 2–4%.

Поскольку анализ геномов бактерий по алгоритму *de novo* в отличие от картирования на известные геномы позволяет находить уникальные особенности изучаемого штамма микроорганизма, нами были проверены четыре варианта сборки. В первом варианте сборка генома *C. psittaci* осуществлялась с использованием всего массива полученных данных. Во втором варианте – с использованием авторского скрипта *eschidna.py* из исходного массива данных были удалены риды, идентифицированные программой Kraken как последовательности генома куриного эмбриона. Третий вариант – массив данных, использовавшийся для сборки бактериального генома, был получен путем отбора из исходного архива ридов, идентифицированных как последовательности хламидий. В четвертом варианте нами применялся классический метод фильтрации ридов на геном куриного эмбриона с использованием программы *bowtie2*. Полученные архивы были использованы для сборки *de novo* с использованием программы SPAdes. Получены следующие результаты: вариант 1 – 104 651 контиг, N50 = 600, суммарная длина контигов – 46 063 704, наибольший контиг – 198 364; вариант 2 – 2 350 контигов, N50 = 70 278, суммарная длина – 2 196 225, наибольший контиг – 228 822; вариант 3 – 37 контигов, N50 = 61 236, суммарная длина – 1 138 357, наибольший контиг – 125 888; вариант 4 – 611 контигов, N50 = 5 113, суммарная длина – 1 377 308, наибольший контиг – 26 965.

В результате проведенной работы установлено, что использование алгоритмов, применяемых в метагеномных исследованиях, позволяет значительно повысить эффективность биоинформационного анализа сложных биологических образцов. Наибольшую эффективность показал алгоритм, основанный на удалении из исходного архива последовательностей генома куриного эмбриона с использованием программы Kraken.

Эффективность фаготерапии экспериментальной синегнойной инфекции у мышей

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

Бактерии *Pseudomonas aeruginosa* являются возбудителем различных нозологических форм инфекции у человека. По некоторым данным, *P. aeruginosa* вызывают 16% нозокомиальных пневмоний, 10% инфекций мочевыводящих путей, 10% послеоперационных инфекций и 4% бактериемий. Использование различных антибактериальных препаратов нередко приводит к появлению штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к лекарственным средствам, что затрудняет лечение синегнойной инфекции и ухудшает ее прогноз. В связи с этим в настоящее время ведется поиск эффективных схем антибиотикотерапии и разработка антипсевдомонадных препаратов, альтернативных антибиотикам.

Цель работы – оценка эффективности бактериофага PA5 и полимиксина В (PmB) при лечении летальной инфекции у мышей, обусловленной различными штаммами *P. aeruginosa*.

Материалы и методы. Летальную синегнойную инфекцию моделировали на мышах линии BALB/c. Животных заражали внутрибрюшинно культурой *P. aeruginosa* PAO1 или *P. aeruginosa* B-1304 в дозе 10 ЛД50 (8×10^4 и 6×10^5 КОЕ соответственно). Одной группе мышей вводили PA5 внутрибрюшинно однократно в количестве 5×10^8 БОЕ за один час до заражения. Вторая группа животных получала препарат фага дважды в день на протяжении пяти суток, начиная через 1,5 часа после заражения. Третьей группе животных назначали PmB в дозе 10 мг/кг дважды в сутки в течение 5 дней. Контрольная группа мышей лечения не получала.

Результаты. В результате проведенных экспериментов установлено, что фаготерапия в режиме профилактики защищала от гибели 100% мышей, инфицированных обоими штаммами синегнойной палочки. Лечение, начатое через 1,5 ч после заражения, обеспечивало выживаемость 70–80% экспериментальных животных. Использование для лечения PmB приводило к 100% лечебному эффекту. Все мыши из контрольных групп погибали в течение первых суток после заражения. Все животные, выжившие после заражения *P. aeruginosa* B-1304 и последующей фаго- или антибиотикотерапии, были свободны от патогена на 14-е сутки наблюдения. В случае штамма PAO1 профилактика экспериментальной инфекции фагом PA5 и лечение PmB способ-

ствовало 100%-й элиминации клеток *P. aeruginosa* из организма животных. При более позднем начале фаготерапии только 50% мышей не являлись носителями патогена.

Выводы. Бактериофаг PA5 обладает выраженным терапевтическим эффектом как при однократном, так и при курсовом использовании для профилактики и лечения летального синегнойного сепсиса у мышей.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Проблемы обучения специалистов испытательного лабораторного центра института по отдельным видам исследований

Н.В.Бренёва, С.А.Белькова, Н.Г.Гефан, Ж.А.Коновалова

ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Иркутск

Испытательный лабораторный центр (ИЛЦ) ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора» создан в 2009 г., аккредитован с 2010 г., с 2013 г. – в национальной системе аккредитации, в 2015 г. прошел подтверждение компетентности согласно переходным положениям Федерального Закона № 412-ФЗ «Об аккредитации в национальной системе аккредитации». Область аккредитации включает широкий спектр микробиологических исследований, охватывающий практически все бактерии и вирусы и необходимый, прежде всего, для обеспечения деятельности лабораторий специализированных противозидемических бригад (СПЭБ). В повседневной работе института осуществляется лишь часть этих исследований. Существует потребность в отдельной подготовке персонала ИЛЦ для решения специфических задач СПЭБ. Например, санитарно-микробиологические исследования не входят в зону ответственности противочумных учреждений, и противочумная служба никогда ранее не располагала такими специалистами. В настоящее время в составе ИЛЦ работает десять врачей-бактериологов, трое из которых прошли повышение квалификации по санитарной микробиологии. Однако очевидно, что без практического опыта выполнять подобные исследования довольно сложно. Необходим опыт, который может быть приобретен только с годами практики. ИЛЦ института с момента создания успешно сотрудничает с ФБУЗ ЦГиЭ в Иркутской области Роспотребнадзора, специалисты которого включены в основной кадровый состав СПЭБ и непосредственно привлекаются к выполнению отдельных видов исследований. В течение ряда лет персонал ИЛЦ проходил кратковременные стажировки на рабочих местах бактериологической лаборатории Центра гигиены и эпидемиологии с освоением специфических и наиболее важных приемов работы. Специалисты СПЭБ имели возможность продемонстрировать и закрепить приобретенные навыки во время работы по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения в

зоне подтопления в 2013 г. в Амурской области. Поскольку кадровый состав ИЛЦ периодически пополняется молодыми сотрудниками, целесообразно продолжать комплексирование с Центрами гигиены и эпидемиологии. Практика деятельности ИЛЦ показывает, что обучение на рабочих местах должно быть более длительным и проводиться не реже одного раза в год. Это позволит сформировать более компетентных специалистов и укрепить взаимодействие между учреждениями Роспотребнадзора.

Эффективный метод консервирования пивной дробины для кормления сельскохозяйственных животных на основе использования молочнокислых бактерий

М.Т.Велямов, Ж.С.Алимкулов, М.Н.Абдибаева, Л.А.Курасова, Ш.М.Велямов, Т.М.Сарманкулов, М.Каюпова

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности», г. Алматы, Республика Казахстан

Животноводство – одно из приоритетных направлений развития экономики страны, и тот факт, что Казахстан является участником Евразийского экономического союза, усиливает необходимость в приросте поголовья скота, но без создания прочной кормовой базы сегодня невозможно развивать данное направление сельского хозяйства.

Применение полнорационных комбикормов с сухой пивной дробинкой в сочетании с ферментными препаратами и пробиотиками позволяет значительно расширить базу комбикормовой промышленности и повысить эффективность производства животноводческой продукции. В последнее время ведется поиск новых дешевых кормовых средств, различных балансирующих добавок и биологически активных веществ, использование которых не снижает кормовой ценности рационов и экономически оправданно. На современном этапе в качестве альтернативных источников сырья для производства комбикормов применяются такие компоненты, как экстрадированный горох, соя, рожь, цеолитовые туфы, трепелы, и не последнее место занимает сухая пивная дробина.

Пивная дробина – побочный продукт пивоварения, остаток ячменного сырья после выработки из него суслу. Применяется для скармливания сельскохозяйственным животным как в свежем, так и в высушенном виде. В состав дробины входят оболочки и частицы эндосперма зерна. Она обладает густой консистенцией со структурой грубо размолотого зерна. Дробина имеет светло-коричневый цвет, сладковатый вкус и запах солода.

Пивная дробина является ценным кормовым продуктом с высоким содержанием сырого протеина, но она бедна водорастворимыми витаминами. Сырой протеин спиртовой дробины представлен следующими аминокислотами (% в пересчете на абсолютное сухое вещество дробины): аспарагиновая кислота – 1,47, треонин – 1,31, серин – 1,17, глютаминовая кислота – 6,21, пролин – 2,37, глицин – 1,16, аланин – 1,23, цистин – 0,57, валин – 0,96, метионин – 0,71,

изолейцин – 0,85, лейцин – 1,82, тирозин – 0,58, фенилаланин – 1,08, гистидин – 0,49, лизин – 0,75, аргинин – 0,86.

Дробину следует скармливать летом в день доставки, зимой – в течение двух дней. Из-за достаточно высоких вкусовых качеств она хорошо поедается животными всех видов. Скармливать дробину рекомендуется в следующих количествах, кг в сутки: коровам – 10–15, нетелям – 8–12, молодняку старше года – 8–10, телятам до года – 4–5, откормочному поголовью – 15–20, свиноматкам и хрякам – 4–5, ремонтному молодняку – 2,0–2,5, пороссятам старше четырех месяцев и на откорме – 3–4.

Естественно, отмеченные методы консервирования пивной дробины мало приемлемы в производственных масштабах. Производство силоса с использованием пивной дробины, как и других сочных кормов, претерпело развитие от использования в качестве консервантов химических веществ (чаще всего органических кислот) до создания специальных силосных заквасок (микробиологических) и ферментных препаратов.

Предприятия пивоваренной промышленности вырабатывают значительное количество отходов, основную часть которых (до 85%) занимает пивная дробина. Проблема утилизации дробины является актуальной, особенно в весенне-летний период работы пивоваренных заводов. На сегодняшний день широкое распространение пивная дробина получила в животноводстве, особенно при откорме крупного рогатого скота, свиней, птицы в составе смешанного рациона, как дополнительный источник протеина.

В ходе экспериментов по хранению пивной дробины в ворах было обнаружено быстрое (в течение 3–7 суток) развитие патогенных микромицетов – продуцентов микотоксинов (афлатоксин, дезоксиниваленон, Т-2 токсин и др.) и гнилостной бактериальной микрофлоры. Эти процессы препятствуют эффективной утилизации дробины на нужды животноводства.

В связи с вышеизложенным разработка биотехнологии получения балансирующей кормовой добавки из пивной дробины путем ее консервирования микробиологическими препаратами, в частности молочнокислым консорциумом, является актуальной задачей для Казахстана, в целях увеличения кормовой базы и рационального использования вторичного сырья пивоваренной промышленности.

Создание молочнокислого микробиологического консорциума проводилось следующим образом.

Подбор количества штаммов, их соотношения в консорциуме осуществлялся с использованием общепринятой матрицы планирования эксперимента по основным физиологическим характеристикам – кислотообразующей и антагонистической активности.

После подбора количества штаммов проводилось определение биосовместимости отобранных штаммов, которая определялась методом совместного культивирования на плотной питательной среде МРС по методу Червинец Ю.В.

Для предварительного исследования роста культур микроорганизмов полученного консорциума производился посев на простерилизованном пивном сусле (массовая доля сахара доводилась до 10–12%) для исследования роста микроорганизмов как на аналогичной среде (среде сырой пивной дробины).

Полученный консорциум молочнокислых бактерий добавляли в пивную дробину в различных концентрациях для исследования его влияние на ее сохраняемость, а также для выявления нормы ввода.

Для изучения влияния молочнокислого консорциума были заготовлены образцы пивной дробины с добавлением различных концентраций консорциума («Лакто+»).

Закладка консорциума и пивной дробины производилась одновременно, и на протяжении срока хранения следили за изменением показателей качества кормовой добавки.

Основные показатели, наблюдение за которыми проводилось на контрольных точках: кислотность по болтушке, содержание общего протеина, количество колониеобразующих единиц (КОЕ), количество молочнокислых бактерий, общее содержание дрожжей, общее содержание грибов (плесени).

В результате установлено, что при определении химических показателей исходных образцов пивной дробины во всех 4 пробах содержание протеина одинаково, на уровне 26,78%. В данном случае показатель кислотности составил в контрольной пробе на уровне 1,1, а в опытных – от 2,8 до 4,0°Т. При исследовании микробиологических показателей в образцах пивной дробины молочнокислых бактерий в контрольной пробе было на уровне 7×10^3 , а в опытных – от 12×10^8 до 21×10^8 , спорообразующих бактерий в контрольной пробе было на уровне 2×10^4 , а в опытных пробах – только с 5%-м содержанием на уровне 2×10^3 , дрожжей в контроле было на уровне 1×10^4 , а опытных пробах только с 5%-м содержанием на уровне 3×10^3 . Мицелиальных грибов во всех пробах не выявлено.

В целом показатели образцов пивной дробины по химическим и микробиологическим показателям соответствовали требованиям к свежей пивной дробине.

Микробиологические и химические показатели после 4 месяцев хранения показывают, что образцы в довольно стабильном состоянии, рост молочнокислых бактерий обеспечивает сохранность сырья.

По результатам анализов по истечению 4 месяцев хранения (срок наблюдения) наиболее стабильным и экономически оптимальным оказался образец с концентрацией внесенного молочнокислого консорциума 5,0%.

На основании полученных результатов сделано заключение, что кормовая добавка на основе свежей пивной дробины и «Лакто+» является ценным дополнением для рациона крупного рогатого скота, плюс ко всему помимо питательной ценности, за счет наличия добавленных молочнокислых бактерий, данная кормовая добавка обладала пробиотическими свойствами.

В динамике изменения показателей качества в образцах без добавления молочнокислого консорциума наблюдалось появление мицелиальных грибов уже в течении 1-го месяца хранения, что свидетельствовало о быстрой порче, тогда как в образцах с добавленным молочнокислым консорциумом мицелиальные грибы отсутствовали и по истечению 4 месяцев хранения (срок наблюдения).

Уровень влажности и содержание сырого протеина в исходных образцах и в образцах по истечению срока наблюдения (4 месяца) колебались незначительно.

При изучении срока хранения опытных образцов установлено, что по истечению 4 месяцев хранения (срок наблюде-

ния) наиболее стабильным и экономически оптимальным является образец с концентрацией внесенного молочнокислого консорциума 5,0%. При этом по внешнему виду и органолептическим показателям пробы пивной дробины в опытных образцах были свежие, без признаков порчи, со специфическим для данной продукции запахом, тогда как в контрольных пробах по вышеуказанным показателям наблюдались проявления признаков порчи и прокисания.

Некоторые аспекты использования электрооптического анализа в микробиологии

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболensk

Роль микроорганизмов в жизни человека трудно недооценить. С одной стороны – это негативная роль, как источник болезней, в том числе и особо опасных. С другой стороны – огромна роль микроорганизмов в промышленности, например продуктов питания и лекарственных препаратов. Наконец, все больше осознается роль микроорганизмов – обитателей кишечника – в поддержании здоровья человека.

Запросы медицины с одной стороны и пищевой промышленности с другой способствовали появлению и развитию широкого спектра методов, технологий и приборов, позволяющих идентифицировать микроорганизмы, определять их количество в образце, контролировать их физиологическое состояние. Последнее представляет интерес как с точки зрения создания оптимальных условий для культивирования микроорганизмов-продуцентов, так и с точки зрения поиска и изучения механизма действия различных бактерицидных препаратов.

В ряду этих методов стоит и электрооптический анализ микробных суспензий. Этот метод основан на поляризации частиц, суспендированных в низкопроводящей жидкости, под воздействием переменного электромагнитного поля. Это является результатом появления индуцированных зарядов на поверхности частиц. Объемный механизм поляризуемости характеризуется появлением индуцированных зарядов на границах раздела сред с различными комплексными диэлектрическими проницаемостями. Для живой клетки, в том числе бактериальной, такими границами раздела являются поверхности соприкосновения цитоплазматической мембраны и внешней среды, а также мембраны и цитоплазмы.

Под воздействием электрического поля появляется преобладающее направление ориентации клеток, причем степень их ориентации пропорциональна квадрату напряженности электрического поля. Анализ оптического проявления ориентации клеток позволяет определить значение их коэффициента вращательной диффузии, связанного с размерами и формой клетки, и величину анизотропии поляризуемости, связанную с электрическими параметрами клеточных структур. Таким образом, измеряемыми параметрами в электрооптике являются релаксационная часть электрооптического сигнала и величина его стационарной фазы.

Измерение приращения оптической плотности суспензии дает релаксационную кривую эффекта. Эта кривая напрямую связана с размерами и формой клеток. Анализ формы релаксационной кривой позволяет определить морфометрические параметры клеток: средний размер и распределение по размерам в гетерогенной популяции микроорганизмов. Вторым параметром является стационарная величина эффекта, которая при слабой степени ориентации связана с анизотропией поляризуемости клетки. Измерение эффекта на различных частотах электрического поля позволяет найти сначала изменение оптической плотности как функции частоты, а после некоторых нормировок – частотную дисперсию анизотропии поляризуемости суспензии клеток. Именно по кривой этой зависимости (амплитуды электрооптического сигнала от частоты подаваемого поля) можно судить о физиологическом состоянии бактериальной клетки.

В ходе исследований показано, что электрооптический анализ может быть использован в микробиологии в следующих аспектах:

- контроль за процессом культивирования микроорганизмов и другими технологическими операциями, связанными с живыми клетками;
- анализ взаимодействия бактериальных клеток с внешними агентами, такими как антибиотики, антитела, бактериофаги, приводящего к повреждению клеточных оболочек;
- разработка методов обнаружения и идентификации бактерий, в которых электрооптика выступает в качестве регистрирующего элемента.

Иммунорфометрическая характеристика биологических эффектов липополисахаридов *Pseudomonas aeruginosa* в эксперименте

А.Р.Габдрахманова, А.Р.Мавзютов, Р.Р.Гарафутдинов, О.И.Машков, Р.Ш.Сафин

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

Актуальность. Липополисахариды клеточной стенки грамотрицательных бактерий (ЛПС), взаимодействуя с Toll-подобными рецепторами 4-го типа (TLR-4), являются сверхсильными стимуляторами иммунного ответа. Наличие ЛПС в системном кровотоке в физиологических концентрациях в норме позволяет рассматривать их в качестве потенциальных инструментов управления адаптивным иммунитетом.

Цель исследования. Экспериментальная оценка влияния очищенных фракций липополисахаридов *Pseudomonas aeruginosa* на некоторые морфометрические показатели и на количественный состав крови лабораторных мышей с вторичным иммунодефицитом.

Материалы и методы. Иммунодефицитное состояние индуцировали однократным подкожным введением беспородным белым мышам циклофосфана (50 мг/кг) за сутки до инъекции исследуемых фракций ЛПС. Препарат сравнения (ликопид) и исследуемые фракции вводили мышам внутрибрюшинно ежедневно в течение 21 дня. На 22-е сутки проводили забор крови и органов.

Результаты и обсуждение. При введении циклофосфана и индуцировании иммунодефицита масса селезенки увеличивалась на 33,3%, печени – на 18,2%, почек – на 25%, однако выявленные изменения не носили достоверного характера. При этом наблюдалось статистически значимое снижение содержания в крови базофильных нейтрофилов и лимфоцитов. При введении ликопада иммунодефицитным мышам происходило значимое увеличение количества этих клеток с восстановлением их содержания до нормы.

При введении фракции ЛПС-1 имела место тенденция, показанная для ликопада, за исключением значимого увеличения количества сегментоядерных нейтрофилов и моноцитов, содержание которых восстанавливалось до нормы. Однако, несмотря на более существенное увеличение количества базофилов, это не сопровождалось сочетанным повышением количества эозинофилов. Введение фракции ЛПС-2 по картине крови сопровождалось развитием клеточной воспалительной реакции замедленного типа, сопровождавшейся базофилией, дегрануляцией этих клеток и последующей эозинофилией.

Заключение. Фракции ЛПС *Pseudomonas aeruginosa* могут стимулировать гемопоэз по типу иммуномодуляторов ввиду значимого повышения количества лимфоцитов.

База данных «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации»

И.Г.Говорунов, Т.Ю.Кудрявцева

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

При анализе данных мониторинга эпидситуации по инфекционным заболеваниям исследователь имеет дело с относительно большими объемами как правило однородных данных. Современные технологии работы с таким информационным пулом предусматривают организацию (упорядочивание) данных в целях оперативного доступа к ним. Эффективным решением для этого являются базы данных (БД). Широкий набор готовых приложений и шаблонов в системах управления базами данных можно использовать непосредственно или после незначительной модификации для решения пользовательских задач без опыта программирования. В связи с этим актуальной задачей является создание базы данных по заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации.

В рамках функционирующего на базе ФБУН ГНЦ ПМБ референс-центра по мониторингу за туляремией разработана и зарегистрирована БД «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации» (рег. № 2018620877 от 20.06.2018), предназначенная для учета, хранения, анализа и презентации результатов эпидемиологического расследования случаев заболевания туляремией на территории Российской Федерации. БД 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 293 записи о случаях заболевания туляремией на территории России за период 2012–2017 гг. БД содержит информацию о времени

заражения, клинической форме, тяжести и длительности заболевания, способе заражения. В БД внесены также демографические данные (пол и возраст больных) и географические координаты места заражения. Каждая запись содержит в форме вложения сканы первичных медицинских документов. Специальные макросы для экспорта данных предоставляют возможность визуализации численных и геопространственных данных. Данные о количестве случаев заболевания визуализируются в виде пузырьковых диаграмм Excel, наложенных на электронные административно-территориальные карты. Количество случаев заболевания туляремией по региону отражено в виде цифры в цветном кружке, размеры которого пропорциональны количеству случаев. Геоданные случаев заболевания экспортируются в KML-файл, открывающийся при помощи геосервисов типа Google Earth. При этом на электронной карте отдельные случаи заболеваний представлены в виде цветных меток. При наведении мыши на метку во всплывающем окне отображается краткая информация по данному случаю заболевания.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Проблемы мониторинга заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации

И.Г.Говорунов, Т.Ю.Кудрявцева

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

В процессе работы референс-центра по мониторингу за туляремией ФБУН ГНЦ ПМБ анализировались первичные медицинские документы регистрации заболеваний (карта эпизоотолого-эпидемиологического обследования – форма № 391/У), сопроводительные или информационные письма из региональных учреждений Роспотребнадзора и данные о заболеваемости туляремией по регионам Российской Федерации из ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» и ФКУЗ «Противочумный центр» Роспотребнадзора о заболеваемости. В пул анализа вошел 291 документ относительно 293 случаев заболевания туляремией (включая 2 завозных) за период 2012–2017 гг. Наиболее полно представлены данные за последние два года.

Первичные медицинские документы регистрации заболеваний были представлены в разных электронных форматах: MS Word, MS Excel, PDF (в виде сканов или читаемых форм). Часть документов представляла печатные рукописно заполненные бланки. Множество документов были заполнены не полностью. Так, данные о форме заболевания отсутствовали в 40 документах, о тяжести – в 51, об источнике заражения – в 46, о возрасте больного – в 3, о наличии прививок – в 6. Эти недочеты в оформлении документов затрудняют проведение полноценного анализа эпидситуации.

Следующей проблемой является сам порядок регистрации случаев заболевания. В настоящее время заболеваемость по регионам учитывается по месту лечения/проживания больного. Однако во многих случаях пациент заразился в одном месте, а проживает или лечится – в другом.

Характерным примером являются такие регионы, как Московская и Ленинградская области и города Москва и Санкт-Петербург. Например, по данным Центра гигиены и эпидемиологии, в городе Санкт-Петербург в 2016–2017 гг. зарегистрировано 25 больных туляремией. Однако лишь в одном из этих случаев больной заразился в городе. 10 человек заразились в Ленинградской области, 5 – в Карелии, по 2 человека – в Нижегородской и Тверской областях и по одному – на о. Крит, в Белоруссии, Псковской и Архангельской областях и в Ямало-Ненецком автономном округе. И такие примеры не единичны. На наш взгляд, именно места заражения людей туляремией являются эпидемиологическими показателями, поскольку в них находятся источники и переносчики возбудителя. Учет этих данных может существенно повлиять на географию очагов туляремии на территории страны.

Существуют проблемы, связанные с диагностикой туляремии, обусловленные поздним ответом иммунной системы человека, что затрудняет своевременную постановку диагноза и проведение адекватного лечения.

В настоящее время отсутствует систематическое изучение штаммов возбудителя туляремии, циркулирующих на территории России. Чистую культуру бактерий выделяют только в случае бактериемии, что наблюдается достаточно редко.

Решение поставленных проблем будет способствовать повышению качества мониторинга заболеваемости туляремией в Российской Федерации.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Изменения микрофлоры пародонта при применении ниосомального геля «Регенерин» в стоматологической практике

Е.А.Гоптарева, И.А.Базиков

Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь

Новая область наномедицины – применение системы доставки с помощью наночастиц различной природы – открыла возможности использования инновационных подходов и для лечения ряда заболеваний пародонта. Принцип адресной доставки – сокращение общего количества вводимого препарата в сочетании с оптимизацией его антимикробной активности, является перспективным для лечения таких заболеваний, как повреждение слизистой оболочки полости рта и пародонтита. Целью исследования явилось изучение изменений микрофлоры пародонта при применении ниосомального геля «Регенерин» в стоматологической практике.

Материалом лабораторно-диагностических исследований служил экссудат зубодесневой борозды, полученный при обследовании пациентов, имеющих повреждения слизистой оболочки полости рта и заболевания пародонта (средний показатель индекса РМА – $12 \pm 0,9\%$), из которых были сформированы контрольная и две группы наблюдений. Первая группа с повреждениями слизистой оболочки поло-

сти рта. Вторая группа с заболеваниями пародонта. Контроль гигиенического состояния полости рта проводился с помощью гигиенического индекса.

В результате исследования изучен микробиологический статус у больных с повреждениями слизистых оболочек и заболеваниями пародонта после лечения гелем «Регенерин». У пациентов с повреждениями слизистых и заболеваниями пародонта после лечения ниосомальным гелем частота выявления носительства пародонтопатогенных видов составила 37,8%, при этом у 62,2% лиц не было выявлено ни одного вида пародонтопатогенной микрофлоры. Наименьшее количество среди анаэробной пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке составлял *Actinobacillus actinomycetemcomitans* ($3,32 \pm 0,11$ lg CFU); наибольшее – *Porphyromonas gingivalis* ($4,11 \pm 0,10$ lg CFU) и *Prevotella intermedia* ($3,44 \pm 0,20$ lg CFU). В отношении резидентной микрофлоры биопленки отмечалась разнонаправленная динамика: по отношению к количественным показателям пациентов контрольной группы минимальный прирост *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguis* (1,12–1,13 раза) сочетался с выраженным снижением *Peptostreptococcus anaerobius* (1,31 раза) и *Veillonella parvula* (1,12 раза).

В целом, полученные данные свидетельствуют о снижении резидентной и пародонтопатогенной микрофлоры в биопленке десневой борозды после лечения ниосомальным гелем «Регенерин», содержащим антимикробные пептиды. Антимикробная активность ниосомальных препаратов объяснялась также непосредственным действием самих нановезикул кремнийорганической природы.

Изучение антимикробной активности модифицированных атомами серебра ниосом с фитозэкстрактами к пародонтопатогенам

Е.А.Гоптарева, И.А.Базиков

Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь

Основой персистенции ряда видов бактерий на слизистой оболочке полости рта и пародонта является формирование биопленок, так как представители пародонтопатогенных видов обладают механизмами нейтрализации защитных систем макроорганизма. Ранее отмечена высокая эффективность восстановительного лечения слизистой оболочки полости рта стоматологическим ниосомальным гелем на основе фитозэкстрактов. Целью исследования явилось изучение возможности повышения антимикробной активности ниосомального геля с фитозэкстрактами при модификации поверхности ниосом атомами серебра.

Оболочка полученных ниосом создавалась из ПЭГ-12 диметикона по оригинальной технологии. Для серебрения ниосом использовали 1мМ раствор $AgNO_3$. Из реакционной смеси удалялись нитраты и обеспечивалось осаждение на ниосомы чистого серебра. Сорбция серебра на ниосомы проходила при ультразвуковой обработке реакционной смеси. Режим озвучивания: частота – 20 кГц, мощность – 200 Вт, экспозиция – 10–15 минут. Исследование антимикробной ак-

тивности ниосомальных фитогелей с атомами серебра осуществляли диско-диффузионным методом (ДДМ) при изучении их чувствительности к микроорганизмам, выделенным из полости рта пациентов с патологией пародонта.

Изучение антимикробной активности ниосомальных гелей показало, что модифицированные ниосомы подавляют рост микроорганизмов. Так, в отношении *Porphyromonas gingivalis* зона задержки роста для ниосомального геля с ниосомами, на поверхности которых находилось 50 мкМ серебра, составила $16,8 \pm 0,14$ мм. Антимикробная активность геля вдвое превышала активность ниосомального геля без атомов серебра и составила $35,1 \pm 0,16$ мм. Для *Bacteroides forsythus* зоны задержки роста составили $15,2 \pm 0,11$ мм для ниосомального геля без атомов серебра и $37,1 \pm 0,17$ мм для геля, содержащего серебряные ниосомы. Зоны задержки роста *Actinobacillus actinomycetemcomitans* составили $12,9 \pm 0,21$ мм и $38,7 \pm 0,29$ мм соответственно. Ниосомальный гель, на поверхности которых не адсорбированы атомы серебра, достоверно подавлял рост *Prevotella intermedia* в диаметре $13,7 \pm 0,12$ мм, с атомами серебра $36,6 \pm 0,18$ мм соответственно. Аналогичная ситуация наблюдалась и по отношению к *Treponema denticola*.

Таким образом, установлено, что опытные образцы разработанных ниосомальных фитогелей обладали высокой антимикробной активностью ко всем видам изученных микроорганизмов, причем антимикробная активность серебра усиливала действие геля.

К вопросу использования средств диагностики для индикации бешенства в полевом материале

Е.А.Градобоева¹, Е.М.Полещук², А.А.Погода³, Г.Н.Сидоров², И.В.Дериглазов⁴

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск;

²ФБУН «Омский НИИ природноочаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск;

³ООО «Фрактал Био», г. Санкт-Петербург;

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Омской области», г. Омск

В России ежегодно регистрируют в среднем до 3000 случаев заболеваний животных бешенством (Полещук и др., 2013). Мониторинг этой болезни способствует снижению заболеваний людей и животных. Перспективные молекулярно-генетические методы все чаще применяют в России для диагностики этой инфекции (Июлева и др., 2012; Девяткин и др., 2014; Dedkov et al., 2016).

«Набор для выявления РНК вируса бешенства в полной комплектации» производства ООО «Фрактал Био» (С.-Петербург) представляет собой комплекты реагентов для выделения нуклеиновых кислот и проведения ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени (Real-time). Он был использован нами для исследования на бешенство 210 образцов: 153 – полевого материала и 57 образцов биопробы.

Первичный материал включал образцы от лисиц, енотовидных собак, корсаков, норок, колонков, куниц, хорьков,

соболей, горностаев, летучих мышей и человека в виде 10%-х суспензий головного мозга на растворе Хенкса. Образцы с биопроб на беспородных белых мышках, погибших в ходе эксперимента, собранные на 2–11 пассажах, также были представлены 10%-ми суспензиями головного мозга. Исследование материала проводили на приборе RotorGene 6000.

С использованием указанной тест-системы наличие специфической РНК вируса бешенства было подтверждено во всех положительных образцах первичного материала от лисиц ($n = 14$), КРС ($n = 6$) и человека ($n = 2$) и не выявлено во всех отрицательных образцах. В случае отрицательных проб результат контролировали регистрацией накопления в реакции продукта амплификации внутреннего контрольного образца (геномная ДНК млекопитающих).

Разнообразная выборка полевого материала позволила вскрыть недостатки набора в части использования внутреннего контрольного образца (ВКО). Так, ВКО не сработал на образцах первичного материала от енотовидных собак ($n = 10$), летучих мышей ($n = 12$) и на всех образцах биопроб на мышках. При исследовании первичного материала от лисиц ($n = 35$) и корсаков ($n = 3$) реакция по ВКО не прошла или прошла неудовлетворительно (с 30–36-го цикла) более чем в 50% случаев. Разведение выделенных нуклеиновых кислот в несколько раз не улучшало прохождение реакции с ВКО, что говорит, по-видимому, о недостаточной универсальности амплифицируемого фрагмента. При высокой достоверности выявления РНК вируса бешенства отрицательные результаты по ВКО осложняют интерпретацию результатов.

Таким образом, вышеуказанная тест-система требует доработки в части оптимизации ВКО.

Встречаемость возбудителей клещевых инфекций в Прибайкалье (по данным обращаемости населения с присасыванием клещей)

Г.А.Данчинова, М.А.Хаснатинов, А.В.Ляпунов, Э.Л.Манзарова, Н.А.Ляпунова, И.С.Соловаров, И.В.Петрова

ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск

В Прибайкалье широко распространены иксодовые клещи, являющиеся переносчиками вирусных и бактериальных инфекций у человека. О повсеместном обитании клещей, число видов которых увеличивается и включает даже экзотические, ранее неизвестные в фауне региона, свидетельствует обращаемость населения в Центр диагностики и профилактики клещевых инфекций ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ с присасыванием клещей, произошедшим во всех административных районах Иркутской области и на территориях сопредельных регионов.

За последние десятилетия возросло не только число видов-переносчиков опасных патогенов, но и число возбудителей, выявляющихся в иксодовых клещах и передающихся через их укусы человеку. Среди них с помощью сертифицированных тест-систем в настоящее время достаточно объ-

активно в клещах можно обнаружить РНК/ДНК вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) – возбудителя одноименного заболевания, боррелий – *Borrelia burgdorferi sensu lato* – возбудителя клещевого боррелиоза (КБ), *B. miyamotoi* – возбудителя клещевой возвратной лихорадки (КВЛ), риккетсий – *Rickettsia sibirica*, *R. heilongjiangensis* – возбудителей клещевого риккетсиоза (КР), эрлийи – *Ehrlichia muris*, *E. chaffeensis* – возбудителя моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ), анаплазмы – *Anaplasma phagocytophilum* – возбудителя гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ).

С 2007 г. до июня 2018 г. с жалобами на укус клеща в Центр диагностики обратилось почти 85 тыс. человек, примерно две трети из них доставили на исследование клещей, большинство из которых – *Ixodes persulcatus* P. Sch., 1930. До 2013 г. исследование клещей проводилось преимущественно на две инфекции: ВКЭ (методом иммуноферментного анализа с тест-системами производства ФГУП «НПО «Микроген», Томск и АО «Вектор-Бест», Новосибирск) и КБ (методом микроскопии содержимого кишечника клещей). Инфицированность клещей широко варьировала по годам и сезонам и составляла 5–10% ВКЭ и 15–35% КБ, в 2–5% встречалась микст-инфекция ВКЭ–КБ. С внедрением молекулярно-биологических исследований (ПЦР, реал-тайм, с тест-системами АО «Вектор-Бест») спектр возбудителей, обнаруживаемых в клещах, значительно пополнился. Выявляемость ВКЭ (РНК) составляет до 1–3%, а бактериальные патогены, напротив, встречаются чаще (ДНК): КБ – до половины таежных клещей, МЭЧ – 11%, ГАЧ – 8 %, КВЛ – 7%. Встречаемость возбудителей КР у степных клещей составляет до 11% в апреле–мае каждого года.

Таким образом, наши результаты свидетельствуют о необходимости повсеместного внедрения диагностических исследований на спектр «клещевых» патогенов.

Сравнительный геномный анализ бактериофагов VSe11 и VSe102, лизирующих сальмонеллы сероваров Enteritidis, Typhimurium и Infantis

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

Нетифоидные *Salmonella enterica* являются наиболее распространенной причиной болезней пищевого происхождения у людей и по-прежнему остаются важной проблемой здравоохранения во всем мире. Ситуация усугубляется тем, что сальмонелла стала устойчивой к различным антибиотикам, что существенно затрудняет лечение сальмонеллезных инфекций. В этой связи бактериальные вирусы (бактериофаги) становятся потенциальными агентами биоконтроля этого патогена.

В настоящем исследовании мы сообщаем о секвенировании и анализе геномов двух сальмонеллезных бактериофагов VSe11 и VSe102, выделенных из образцов сточных вод на двух птицефабриках Московской области. Фаги VSe11 и VSe102 обладают сходной литической активностью против

сальмонелл сероваров Enteritidis, Typhimurium и Infantis и незначительно различаются по штаммовой специфичности и эффективности бляшкообразования на некоторых штаммах сальмонелл. Циклически перекрывающиеся линейные двухцепочечные ДНК-геномы фагов VSe11 и VSe102 имеют размер 86.360 п.н. и 86.365 п.н. соответственно, с содержанием G+C 39,0%. Оба фаговых генома содержат 129 кодирующих последовательностей (CDS) и 21 ген, кодирующий тРНК для 14 аминокислот. 125 CDS кодируют белки с идентичными аминокислотными последовательностями, и только четыре потенциальных гена кодируют гипотетические белки с отличающейся аминокислотной последовательностью. Предполагается, что это расхождение определяет различие в штаммоспецифичности фагов. В фаговых геномах выявлены гены, кодирующие белки, участвующие в метаболизме и репликации ДНК, упаковке ДНК в капсид, сборке фаговых частиц, структурные белки и лизины. Не обнаружены гены антибиотикорезистентности, гены, кодирующие токсины или какие-либо другие факторы вирулентности, присущие бактерии-хозяину, а также гены, определяющие лизогенный путь развития фага. Результаты BLAST-анализа показали, что ближайшими «родственниками» фагов VSe11 и VSe102 являются сальмонеллезные фаги Mushroom (GenBank: KP143762), SPT-1 (JX181822) и Si3 (KY626162). Все они кодируют коровые белки, присущие Felix O1-подобным фагам семейства *Myoviridae* подсемейства *Ounavirinae*.

Геномные характеристики, а также широкий спектр литической активности свидетельствуют о потенциальной возможности использования фагов VSe11 и VSe102 в качестве анти-сальмонеллезных средств. Полные нуклеотидные последовательности геномов VSe11 и VSe102 доступны в GenBank под №№ MG251391 и MG251392 соответственно.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Исследование антибактериальной активности цетилпиридиния хлорида на биопленки бактерий-возбудителей инфекционных заболеваний верхних дыхательных путей

Е.В.Детушева, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Инфекционные заболевания верхних дыхательных путей занимают ведущее место в инфекционной патологии ЛОР-органов. Помимо роста уровня приобретенной резистентности бактерий к антибиотикам, важным фактором, обуславливающим отсутствие или кратковременность эрадикации бактериальных патогенов, является способность бактерий к образованию биопленок, проявляющих значительно большую устойчивость к антибактериальным препаратам по сравнению с планктонными клетками. Наибольшая доказательная база роли биопленок в развитии хронической ЛОР-патологии имеется в отношении хронического среднего отита и хронических аденоидитов.

Исследование посвящено сравнительному изучению чувствительности к антисептику цетилпиридиния хлориду у возбудителей патологии верхних дыхательных путей в планктонном состоянии и в форме бактериальных биопленок с помощью оригинального разработанного авторами метода. Микроорганизмы, используемые в работе, выделены из клинических образцов при расследовании случаев инфекций по заданию Роспотребнадзора в 2016–2017 гг. Чувствительность планктонных культур к препаратам определяли методом серийных разведений в бульоне, а также на плотных питательных средах, нанося бактериальную суспензию на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения цетилпиридиния хлорида. Чувствительность биопленок определяли методом аппликаторов, нанося аппликатор с отпечатком бактериального газона, моделирующего состояние биопленки, на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения цетилпиридиния хлорида. За МБК принимали минимальную концентрацию цетилпиридиния хлорида, на которой отсутствовал рост культуры.

Оценка антибактериальной активности антисептика цетилпиридиния хлорида, входящего в состав комплексного препарата, показала, что чувствительность к этому антисептику у микроорганизмов разных таксономических групп в планктонной культуре значительно выше, чем в состоянии биопленки. Клетки всех использованных штаммов микроорганизмов в планктонном состоянии были чувствительны к данному антисептику в концентрации 0,05%, в то время как в состоянии биопленки – устойчивы в концентрациях 0,1–6,3%.

Углубленный анализ чувствительности к антибактериальным препаратам у представителей госпитальных патогенов, включая моделирование бактериальных биопленок для оценки реальной чувствительности к антисептикам и дезинфектантам, является весьма актуальным и важным научным направлением, необходимым для совершенствования контроля ИСМП в Российской Федерации.

Иммунорегуляторные функции нейтрофилов

И.И.Долгушин, Е.А.Мезенцева, А.Ю.Саввочкина, Е.А.Кузнецова

ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Челябинск

Со времен И.И.Мечникова нейтрофильные гранулоциты рассматривались главным образом как эффекторы антимикробного иммунитета и острого воспаления. Действительно, их короткий срок жизни (8–12 часов), отсутствие способности к пролиферации, синтезу *de novo* белковых медиаторов и рециркуляции из тканей в кровотоки поддерживали этот постулат. Сегодня известно, что нейтрофилы образуются в огромных количествах через серию последовательных стадий дифференцировки клеток-предшественников в костном мозге, где они накапливаются до того, как выйти в кровяное русло. Находясь в циркуляции, нейтрофилы патрули-

руют организм, первыми реагируя на сигналы опасности инфекционной и неинфекционной природы, являясь «отрядом быстрого реагирования» в системе врожденного иммунитета.

Это достигается быстрой миграцией в пораженную ткань, где нейтрофилы реализуют свои провоспалительные, антимикробные эффекторные функции путем фагоцитоза, формирования внеклеточных ловушек (НВЛ) или НЕТоза, деградации с выбросом протеолитических ферментов и антимикробных пептидов и продукции активных форм кислорода. Эти свойства снабжают нейтрофилы широкими защитными возможностями, но в то же время превращают их в циркулирующие «гранаты», которые могут повредить и собственные ткани организма. Возможно, чтобы минимизировать сопутствующий ущерб, нейтрофилы демонстрируют короткий срок жизни и элиминируются ежедневно. Клиренс нейтрофилов может происходить через апоптоз, некроз или НЕТоз с последующим их фагоцитозом макрофагами.

В течение последних 15 лет опровергнуто еще одно положение – о невозможности обратной миграции нейтрофилов из тканей в кровотоки. Оказалось, что клетки могут возвращаться в сосудистое русло из внесосудистого пространства, что бросает вызов классической концепции односторонней миграции нейтрофилов.

Увеличение продолжительности жизни нейтрофилов в кровотоке, возможно, является предпосылкой для формирования их функциональной и фенотипической гетерогенности.

Важно, что обратно мигрирующие нейтрофилы приобретают новые свойства и не способны снова мигрировать в ткань из-за замедления апоптоза. У них более длительный срок жизни и повышенная способность продуцировать активные формы кислорода, т.е. более выраженные провоспалительные свойства.

Таким образом, обратная миграция нейтрофилов в кровотоки является, с одной стороны, возможным механизмом разрешения локального воспаления, с другой – может приводить к диссеминации активированных нейтрофилов в отдаленные органы, способствуя развитию системного воспаления.

Микромицеты-контаминанты воздуха и поверхностей в помещениях г. Санкт-Петербурга

Е.В.Доршакова, И.Э.Павлова, Т.С.Богомолова

ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина, г. Санкт-Петербург

Цель исследования – изучить состав микромицетов на поверхностях и в воздухе помещений в г. Санкт-Петербурге.

Методы исследования. Для оценки состава микобиоты воздушной среды помещений проводили сравнение качественного и количественного содержания микромицетов воздуха помещений с таковым прилегающих к зданиям территорий. Отбор проб воздуха в обследованных помещениях, а также на прилегающих к зданиям территориях про-

водили, используя аспиратор ПУ-1Б (АОЗТ «Химко», Москва). Для исследования проб воздуха объемом 100 л были взяты чашки Петри с агаром Сабуро и сусло-агаром (ГОСТ ИСО 16000).

Смывы с поверхностей, площадью 1 дм², брали стерильными тампонами, смоченными 0,9%-м стерильным водным раствором хлорида натрия. Соскобы отбирали скальпелем в стерильные герметичные полиэтиленовые пакеты. Смывы и соскобы засеивали на чашки Петри с агаром Сабуро и сусло-агаром.

Посевы инкубировали в термостатах при температуре 28°C и 37°C. Идентификацию микромицетов по морфологическим и культуральным признакам, а также подсчет количества их колоний проводили через 14 дней.

Результаты исследования. За период 2014–2017 гг. обследовано 56 жилых и офисных помещений г. Санкт-Петербурга. В 5 помещениях (9%) концентрация микромицетов в воздухе превысила 3000 КОЕ/м³. Наибольшее количество грибов в воздухе составляло 26000 КОЕ/м³. В 14 помещениях (25%) количество микромицетов в воздухе составляло 1000–3000 КОЕ/м³, в 13 (24%) – 500–1000 КОЕ/м³, в 24 (42%) – не превышала 500 КОЕ/м³.

Атмосферный воздух прилегающих к зданиям территорий содержал микромицеты в количествах 20–1700 КОЕ/м³. Наибольшее количество микромицетов – 1700 КОЕ/м³ – было выявлено в единичном случае отбора проб воздуха, проведенном в ветреную погоду. В 55 случаях (98%) количество микромицетов на улице не превышало 270 КОЕ/м³.

Количество микромицетов на поверхностях обследованных помещений составляло 0–32000 КОЕ/дм² – в смывах, 0–35000 КОЕ/г – в соскобах. Количество грибов, превышающее 10000 КОЕ/г (дм²), было отмечено в пробах с поверхностей 22 объектов (40%), содержание грибов в диапазоне 1000–10000 КОЕ/г (дм²) было выявлено в 11 объектах (19%), 0–1000 КОЕ/г (дм²) – в 23 (41%).

В состав микобиоты проб воздуха, смывов и соскобов с поверхностей помещений г. Санкт-Петербурга наиболее часто входили грибы родов *Penicillium* и *Aspergillus*. *Penicillium spp.* были выявлены в 55 (99%) случаях. Представители рода *Aspergillus* (*A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. niger*, *A. versicolor*, *A. ustus*, *A. ochraceus*, *A. candidus*, *A. glaucous*) были обнаружены в 38 помещениях (69%). В пробах также присутствовали: *Aureobasidium pullulans*, *Alternaria sp.*, *Acremonium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Trichoderma sp.*, *Cladosporium sp.*, *Scopulariopsis sp.*, *Paecilomyces sp.*, *Stachybotrys sp.*, *Chaetomium sp.*, *Fusarium sp.*, *Mucor sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Chrysonilia sitophila*, *Exophiala pisciphila*. *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, отнесенные к III группе патогенности, способны вызывать микозы у иммунокомпрометированных лиц, *Penicillium spp.*, *Alternaria sp.*, *Cladosporium sp.* могут вызывать аллергические реакции, а *Stachybotrys sp.*, *Chaetomium sp.*, *A. versicolor* – обладать потенциальной токсигенной активностью.

Спектр грибов атмосферного воздуха составляли микромицеты родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Paecilomyces*, *Chaetomium*, *Mucor*.

Заключение. В 58% обследованных помещений г. Санкт-Петербурга концентрация микромицетов в воздухе превышала 500 КОЕ/м³. Помещения с количеством микромицетов,

превышающим 500 КОЕ/м³, имели очаги биодеструкции, содержание грибов в которых превышало 10 000 КОЕ/г (дм²). Качественный состав воздуха внутри помещений значительно отличался от такового у атмосферного воздуха. В составе воздуха биоповрежденных помещений присутствовали доминирующие представители микобиоты техногенных субстратов. Микромицеты воздуха и поверхностей техногенных субстратов могут представлять опасность для здоровья людей.

Лабораторные исследования костей и костных фрагментов животных на наличие возбудителя сибирской язвы

З.Ф.Дугаржапова, Е.В.Кравец, В.Е.Такайшвили, С.В.Балахонов

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Иркутск

Сибирская язва – особо опасная острая сапрозооантропонозная инфекционная болезнь, к которой восприимчивы многие сельскохозяйственные и дикие животные. В крови, органах, тканях, лимфатических узлах, кровянистом отделяемом больного генерализованной формой и павшего животного обнаруживается высокая концентрация вегетативной формы возбудителя. При подходящих условиях окружающей среды происходит элиминация микроба в органах и спорная форма возбудителя сохраняется в хрящевой ткани и губчатом веществе кости. Ранее трупы животных оставались на месте падежа, и лишь с начала XX в. их стали закапывать в земляные ямы. Поэтому почвенными очагами сибирской язвы считаются места падежа больных животных, захоронения, скотомогильники, биотермические ямы, места сброса биологических отходов. Лабораторные исследования костного материала на сибирскую язву не регламентированы в области ветеринарного и санитарно-эпидемиологического нормирования.

Цель работы – разработка методических рекомендаций по отбору, транспортированию и пробоподготовке костей и костных фрагментов животных из почвенных очагов сибирской язвы для лабораторных исследований на сибирскую язву.

Кости и их фрагменты отбирают с поверхности почвы в местах падежа животных, а из сибиреязвенных захоронений и скотомогильников извлекают с помощью гидравлического навесного ямобура. Пробы транспортируют и хранят при условиях окружающей среды.

При пробоподготовке средних, мелких костей пробы измельчают молотком, мельницами-дробилками или в гомогенизаторе. Губчатое вещество крупной трубчатой кости можно отобрать дрелью. Работы проводят с соблюдением правил биологической безопасности с микроорганизмами I–II групп патогенности. Для повышения эффективности выявления спор сибиреязвенного микроба и уничтожения попутной неспецифической вегетативной микрофлоры отобранные пробы заливают дистиллированной водой, шуттелируют, отстаивают, прогревают при 80°C в течение 20 мин. Лабораторные исследования на сибирскую язву проводят согласно требований МУК 4.2.2413-08.

В 2013–2016 гг. при мониторинге почвенных очагов сибирской язвы и обследовании сибиреязвенных захоронений и скотомогильников в пяти субъектах Сибири и Дальнего Востока в двух из 35 проб костей и костных фрагментов СХЖ обнаружена ДНК *Bacillus anthracis*. Впервые разработаны и утверждены методические рекомендации по отбору и пробоподготовке костей и костных фрагментов животных, внедрением которых позволит улучшить эффективность лабораторной диагностики сибирской язвы при обследовании почвенных очагов.

Разработка липосомальной лекарственной формы на основе антигрибных метаболитов *Bacillus mojavensis*

И.А. Дунайцев, А.Н. Сомов, И.О. Лев, С.К. Жиглецова, М.В. Клыкова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Рост распространенности микозов во всем мире представляет собой серьезную проблему. Одним из способов лечения микозов является энтеральный путь введения лекарственных средств. Защита активных молекул от разрушения в желудочно-кишечном тракте, повышение их кишечной абсорбции могут быть реализованы путем использования инкапсулированной формы антимикотического препарата, например приготовленной с применением липосом.

Во ФБУН ГНЦ ПМБ выделен новый штамм *Bacillus mojavensis* Lhv-97, обладающий способностью подавлять рост грибов, в том числе *Candida albicans*. Исследования по оптимизации условий культивирования штамма позволили добиться максимального выхода антимикотических метаболитов. Подобраны условия выделения и очистки активных метаболитов с использованием ВЭЖХ и эксклюзионной хроматографии.

Целью работы являлась разработка лабораторной технологии получения липосомальных препаратов, содержащих антигрибные метаболиты (АГМ) штамма *B. mojavensis* Lhv-97.

Препараты на основе АГМ штамма *B. mojavensis* Lhv-97 были приготовлены в липосомальной форме методом регидратации высушенной липидной пленки с последующей экстракцией через поликарбонатные микрофильтры с размером пор 0,2 мкм. Для приготовления липосом использовали различные комбинации нейтральных и катион-активных липидов фосфатидилхолина, холестерина, стеароил-ПЭГ400, пальмитоиллеоил-фосфатидилэтанолamina, диметил-диоктадецил аммония бромид. Распределение липосомальных везикул по размерам в суспензии определяли с помощью лазерного гранулометра MicroTec Plus (Fritsch, Германия). Оценку антагонистической активности получаемых липосом проводили в отношении культуры *C. albicans* ATCC-90028 методом лунок.

Получаемые липосомальные препараты состояли из липидных везикул размером 0,1–20 мкм с медианой объемного распределения около 5 мкм. Включение активной субстанции в них составляло до 25% по результатам определения после отделения невключенной фракции АГМ. Включение АГМ в состав везикул подтверждено в опытах с АГМ, мечеными флуо-

ресцеина изотиоцианатом. Активность в отношении культуры гриба *C. albicans* была показана в экспериментах *in vitro* как для неразделенной суспензии липосом, так и для фракции липосом после отделения невключенного АГМ. Отмечено, что активность липосомальных препаратов возрастала после выдержки их водных суспензий при температуре +4°C, что можно связать с выходом АГМ из фосфолипидных везикул.

Результаты выполненных исследований будут способствовать разработке новых антимикотических препаратов, а также созданию доступных моделей систем контролируемой доставки перспективных лекарственных средств.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Разработка диагностических латексных тест-систем в ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

С.И. Евсегнеев, Б.В. Ерусланов, И.П. Мицевич, Э.А. Светоч

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», г.п. Оболенск

В лабораторной микробиологической практике для быстрой идентификации бактериальных возбудителей важно иметь эффективные, но простые в исполнении и дешевые диагностикумы. К таким препаратам относят диагностические латексные тест-системы, которые реализуются при постановке реакции латексной агглютинации (РЛА) на стекле. В настоящее время многие западные фирмы, включая такие, как Microgen Bioproducts, OXSOID (Англия) и др., производят и реализуют на рынке, в том числе в России, десятки наименований латексных тест-систем для идентификации бактериальных патогенов.

С 2014 года производство латексных тестов было начато во ФБУН ГНЦ ПМБ. В настоящее время прошли государственную регистрацию и реализуются на рынке тест-системы для идентификации листерий, легионелл, шести возбудителей гнойных бактериальных менингитов, возбудителей геморрагического колита *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O104:H4. В 2017 году прошли испытания и находятся на регистрации латексные тест-системы для определения термолabileного энтеротоксина (LT) у ETEC и для иммуномагнитной сепарации *Listeria monocytogenes* из пищевого сырья.

В 2018 году в ФБУН ГНЦ ПМБ успешно прошли испытания еще трех латексных тест-систем для идентификации *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* и *Clostridium difficile*. На конечной стадии разработки находятся латексные тест-системы для идентификации *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, а также *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae*.

Одним из преимуществ производимых в Центре латексных тест-систем является их стоимость, которая меньше по сравнению с импортными тестами в среднем в 3–4 раза, а по некоторым наименованиям в 10 раз.

Таким образом, производимые и разрабатываемые в ФБУН ГНЦ ПМБ латексные тест-системы расширяют число диагностических тестов для применения при санитарно-

бактериологических исследований пищевых продуктов и объектов окружающей среды, а также для проведения научно-исследовательских работ в этом направлении. Учитывая стоимость отечественных латексных тест-систем, можно сделать заключение, что их производство необходимо расширять в рамках программы импортозамещения.

Исследование выполнено в рамках отраслевой Программы Роспотребнадзора.

Современное состояние ситуации по бешенству на территории Крымского полуострова

И.Л.Евстафьев¹, Н.Н.Товпинец¹,
Е.М.Полещук², Г.Н.Сидоров²

¹ФБУЗ «ЦГиЭ в республике Крым и городе федерального значения Севастополе», г. Симферополь;

²ФБУН «Омский НИИ природноочаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск

С 1970-х до начала 1990-х гг. в Крыму регистрировали в среднем ежегодно 46,4 случая бешенства животных. С 1993 г. до настоящего времени выявление возбудителя этой инфекции у животных сократилось в 3–4 раза. За последние 25 лет (1993 – июнь 2018 г.) количество случаев бешенства варьировало от 5 до 28 ежегодно, составляя в среднем 12. С 2000 по 2010 г. этот показатель составлял 11 случаев, а с 2011 по июнь 2018 – 14.

Впервые эпизоотии бешенства лисиц в Крыму отмечены в 1940-х гг. (Павлов, 1953). С тех пор лисица являлась здесь основным резервуаром инфекции. Удельный вес этого хищника в структуре заболеваний животных с 1971 по 1992 г. составлял 58,2%. Домашние животные болели в 20,4% случаев (в 11,6% – собаки, в 8,8% – кошки). КРС болел в 18,5% случаев, МРС – в 1,1%, прочие – в 1,7%.

С 1993 по 2000 г. и с 2001 по 2010 г. доля больных лисиц в общей структуре бешеных животных по-прежнему оставалась высокой, составляя 54,9 и 48,1% соответственно. Показатель бешенства у домашних животных вырос до 33,1 и 38,4%. У собак этот показатель был равен 24,3 и 19,2%, у кошек – 8,3% и 19,2%.

В настоящее время отмечается тенденция изменения количественной структуры заболеваний животных. Так, в 2011–2018 гг. зарегистрировано 27,7% бешеных лисиц, что в 1,7 раза меньше, чем в предыдущие 10 лет. Удельный вес бешеных собак достиг 25,9%, а доля больных кошек выросла до 34,8%. Показатель у КРС и МРС не превышал 2–4%.

Кроме лисицы, в 2012 и 2018 гг. в Красногвардейском и Алуштинском районах в эпизоотический процесс вовлекался волк (по 1 сл.), в 2008 и 2016 гг. в Алуштинском и Раздольненском – енотовидная собака (по 1 сл.), в 2010, 2015, 2017 гг. в Советском, Алуштинском, Симферопольском и Ялтинском – каменная куница (по 1 сл.).

На существенную роль кошек в передаче вируса бешенства из природных в антропоургические очаги впервые указал М.А.Селимов (1976). Высокие показатели заболевания кошек на территории Крымского полуострова на современном этапе свидетельствуют об усилении активности природ-

ного очага. Проявлением его эпидемической опасности стал случай гибели человека в 2017 году. В Бахчисарайском районе от бешенства погибла женщина после оцарапывания кисти домашним котом, не обратившаяся за медицинской помощью и заболевшая через 3 месяца. Это первый случай бешенства среди людей на полуострове после многолетнего периода (последний в 1961 г.).

Наличие риска заражения бешенством требует усиления противоэпидемических мероприятий на территории Крыма, в том числе активной санитарно-просветительной работы.

Реализация требований нового профстандарта в курсе преподавания медицинской микробиологии

А.Н.Евстропов, Л.Н.Захарова

ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск

Высокий риск общественного благополучия и безопасности, связанный с инфекционными заболеваниями бактериальной, вирусной, грибковой, паразитарной природы; появление новых и возврат известных инфекционных нозологий; угрожающий рост и распространение резистентности микробов к антимикробным препаратам диктуют необходимость пересмотра подходов к подготовке специалистов в области медицинской микробиологии, готовых к проведению комплексных микробиологических исследований с применением наиболее эффективных современных методов диагностики.

Первым этапом в этом направлении является объединение всех специальностей микробиологического направления и введение единой специальности – «Медицинская микробиология», необходимость которой в период с 2009 по 2017 гг. обсуждалась большой группой высококвалифицированных специалистов системы Роспотребнадзора, Министерства здравоохранения, Министерства образования и науки, медицинских вузов, практического здравоохранения. Результатом этой работы стал проект профессионального стандарта «Специалист в области медицинской микробиологии».

В случае принятия профессионального стандарта возникает необходимость внесения изменений как в программы обучения специалистов с высшим образованием уровня специалитета, так и в программу подготовки специалистов высшей квалификации «Медицинская микробиология» в ординатуре. Разработанные и реализуемые на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии рабочие программы для обучения студентов по дисциплине «Микробиология, вирусология и иммунология» по специальностям «Медико-профилактическое дело», «Лечебное дело», «Педиатрия» предусматривают изучение фундаментальных вопросов физиологии, морфологии микроорганизмов, вопросов патогенеза и эпидемиологии инфекционных заболеваний, вызываемых вирусами, бактериями, микроскопическими грибами, вопросов санитарной микробиологии, принципов классических и современных методов диагностики. Однако при разработке программ возникли трудности с определением необходимых уровней компетенций по дисциплине («Знать», «Уметь», «Владеть»), т.к. в действующих сегодня ФГОС ВО

формулировки компетенций, которые должны быть сформированы в результате изучения дисциплины, очень «размыты». ФГОС 3++ по специальности «Медико-профилактическое дело» обязывает образовательное учреждение устанавливать профессиональные компетенции на основе профессиональных стандартов. После утверждения профессионального стандарта «Специалист в области медицинской микробиологии» потребуется внести корректировки в действующий ФГОС ВО 3++. Одновременно необходима разработка проекта ФГОС по специальности «Медицинская микробиология» (ординатура), обеспечивающего преемственность образовательного процесса.

Таким образом, необходимость и целесообразность объединения всех специальностей микробиологического направления в единую специальность «Медицинская микробиология» не вызывает сомнений. Для обеспечения качества обучения специалистов, отвечающих современному уровню развития диагностических технологий в области медицинской и санитарной микробиологии, потребуется внести коррективы и обеспечить преемственность образовательного процесса на всех этапах подготовки специалиста.

Изучение распространения патогенных агентов вируса клещевого энцефалита в неэндемичных регионах Казахстана

Р.А.Егембердиева¹, Ж.Ж.Шапиева², А.М.Дмитровский¹, А.Ш.Орадова¹, С.С.Тастанова², Л.К.Зиядина²

¹Казахский Национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, г. Алматы, Казахстан;

²Научно-практический центр санитарно-эпидемиологической экспертизы и мониторинга, г. Алматы, Казахстан

Природные очаги клещевого энцефалита (КЭ) в Республике Казахстан официально установлены в Алматинской, Восточно-Казахстанской областях и г. Алматы. Однако с 2010 г. стали регистрироваться случаи КЭ в Акмолинской области (2010 г. – 1, 2011 г. – 3, 2013 г. – 3, 2015 г. – 6, 2016 г. – 2, 2017 г. – 6). В текущем 2018 г. в июне-июле диагностированы 2 случая КЭ в Северо-Казахстанской области.

В регионах природных очагов Казахстана основным переносчиком вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) являются клещи *I. persulcatus*. В Восточно-Казахстанской области установлена зараженность клещей *I. persulcatus* на уровне 2,8%, в Алматинской области и в г. Алматы – 3,3%. При генотипировании все изоляты отнесены к сибирскому подтипу TBEV.

В 2012–2013 гг. методом ИФА на наличие антигена ВКЭ исследовано 278 клещей *D. marginatus* из Северо-Казахстанской области, в том числе из Кызылжарского (140), Мамлютского (55), Шал-Акынского (44), Айыртауского (39) районов. Выявляемость в клещах антигена ВКЭ составила 8,2% (23 клеща). Максимальная зараженность клещей отмечена в Кызылжарском (10,0%), Шал-Акынском (9,1%) и Мамлютском (7,2%) районах, кроме того в Айыртуском районе – 2,5%. В мае 2012 г. в Северо-Казахстанской области, в окрестностях Кызылжарского, Мамлютского районов и г. Петропавловска было собрано 347 клещей (*D. marginatus* – 255, *D. reticulatus* – 92).

Методом ПЦР выявлена РНК ВКЭ в 55 клещах (15,9%): *D. marginatus* – 23 (9,0%), *D. reticulatus* – 32 (34,8%). Наибольший уровень выявления РНК ВКЭ установлен в Мамлютском районе (50,8%). Зараженность клещей в Кызылжарском районе составила 16,3%, в г. Петропавловске – 4,9%.

В 2013 г. методом ПЦР исследован 141 клещ (*D. marginatus*) из Карагандинской области, в том числе из Абайского (101 клещ) и Шетского (40 клещей) районов. РНК ВКЭ выявлена в 63 клещах (44,7%): в Абайском районе – в 48 (47,5%), в Шетском – в 15 (37,5%).

Кроме того, методом ИФА исследованы сыворотки крови от 125 лиц с укусами клещей из г. Петропавловска (72) и Кызылжарского района (53) Северо-Казахстанской области с целью выявления иммуноглобулинов (IgM, IgG) к ВКЭ. Антитела IgM выявлены в 4 пробах (3,2%), IgG – в 3 пробах (2,4%): в Кызылжарском районе IgM – в 3 пробах (5,7%), IgG – в 3 (5,7%), в г. Петропавловске только IgM – в 1 пробе (1,4%).

Приведенные данные свидетельствуют о широкой распространенности вируса клещевого энцефалита среди клещей в таких неэндемичных регионах, как Северо-Казахстанская, Карагандинская области.

Полученные результаты исследований по определению антигена и РНК ВКЭ в клещах, определению антител IgM, IgG к ВКЭ в сыворотках лиц с укусами клещей в Северо-Казахстанской области, регистрация больных клещевым энцефалитом в Акмолинской и Северо-Казахстанской областях позволяют считать, что границы природных очагов КЭ расширяются к северу Казахстана и основная роль в качестве переносчика вируса КЭ принадлежит клещам *D. marginatus* и *D. reticulatus*. Положительные результаты исследований клещей в Карагандинской области также подтверждают существование и активное функционирование еще одного природного очага КЭ и необходимость дальнейшего целенаправленного комплексного изучения клещевых инфекций в данных регионах.

Фенотипическая детекция продукции карбапенемаз у штаммов *Klebsiella* с использованием СИМ-теста

С.А.Егорова¹, Л.А.Краева¹, Н.В.Михайлов¹, И.В.Лихачёв¹, Е.С.Карпова¹, А.А.Самойлова¹, Е.В.Мельникова², Т.Н.Суборова²

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

²ФГБВ ОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова», г. Санкт-Петербург

Использование современных критериев интерпретации при определении чувствительности к карбапенемам позволяет сделать заключение о чувствительности штамма без постановки подтверждающих тестов. В то же время детекция карбапенемаз рекомендована в целях инфекционного контроля, поскольку этот механизм устойчивости более эпидемиологически значим по сравнению с альтернативными механизмами. В связи с этим бактериологическая лаборатория нуждается в простых и доступных методах детекции карбапенемаз. Коммерческие колориметрические тест-

системы (Carba NP и др.) и наборы дисков, содержащие меропенем и ингибиторы бета-лактамаз («KPC&MBL&OXA-48 disc kit», Liofilchem и др.), не зарегистрированы в Российской Федерации. Модифицированный Hodge-тест субъективен в оценке и часто дает сомнительные результаты. В настоящее время комитетом CLSI рекомендован метод CIM.

Оценили чувствительность и достоверность CIM-теста при тестировании 116 штаммов *K. pneumoniae*, нечувствительных к карбапенемам, у которых способность продуцировать карбапенемазы была подтверждена методом ПЦР с использованием реагентов «АмплиСенс® MDR MBL и KPC/OXA-48-FL» (Интерлабсервис, Россия). Молекулярное исследование выявило у 112 штаммов (96,6%) гены распространенных карбапенемаз: у 48 штаммов (41,4%) – гены метало-бета-лактамаз NDM, у 35 штаммов (30,2%) – карбапенемаз группы OXA-48, у 29 штаммов (25,0%) – одновременно гены NDM и OXA-48. У четырех штаммов (3,4%), отнесенных по критериям скрининга EUCAST в категорию нечувствительных к карбапенемам (МПК > 0,12 мг/л), гены распространенных карбапенемаз (NDM, VIM, IMP, KPC, OXA-48) не были выявлены. Все 112 штаммов, обладающие генами карбапенемаз, давали положительную реакцию в CIM-тесте. При этом тестирование пяти штаммов потребовало модификации протокола CLSI (2017 г.) из-за получения промежуточных результатов (незначительное уменьшение диаметра зоны задержки роста штамма *E. coli* ATCC 25922 вокруг диска с меропенемом). Использование более густого инокулюма (полная 10-мкл петля суточной культуры в 150 мкл деионизированной воды) позволило повысить чувствительность метода и подтвердить продукцию у всех штаммов *K. pneumoniae*, обладающих генами карбапенемаз. Для четырех карбапенем-нечувствительных штаммов, отрицательных в ПЦР, гидролиз меропенема не был выявлен CIM-тестом как в условиях протокола CLSI, так и при его модификации. Таким образом, CIM-тест показал 100%-ю чувствительность при тестировании карбапенемазо-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae*.

Молекулярные методы идентификации возбудителя паратифа В

С.А.Егорова¹, Л.А.Кафтырева¹, О.А.Каменева²

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

²ГБУЗ «Детская городская больница №22», г. Санкт-Петербург

Род *Salmonella* включает серовары, способные вызывать тифоподобные заболевания, к которым относится возбудитель паратифа В. Идентификация этого возбудителя классическими методами затруднена. Серовар S.Paratyphi В с антигенной характеристикой 4,5,12:b:1,2 включает два биологических варианта, различающихся по способности ферментировать d-тарtrate. Вариант, не ферментирующий d-тарtrate (dT⁻), способен вызывать тифоподобное заболевание (паратиф В), источником инфекции, как правило, является человек; вариант (dT⁺) (ранее называемый сероваром Java) характеризуется меньшей вирулентностью для человека, вызывает

гастроэнтерит, резервуаром являются животные. Дифференциация биоваров требует постановки биохимических тестов и не менее шести дней для получения результатов.

Цель исследования заключалась в оценке молекулярного метода при идентификации возбудителей паратифа В.

Материалы и методы. Изучены 7 штаммов S.Paratyphi В, в качестве контрольных – 20 штаммов *Salmonella* других серогрупп, ферментирующие d-тарtrate. Для идентификации серовара использована ПЦР в мультиплексном формате с электрофоретической детекцией (Levy et al., JCM, 2008): проводили детекцию генов *tyv* и *prt* (кодирующих синтез О-антигена), *viaB* (Vi-антигена), а также *fliC-a*, *fliC-b*, *fliC-d* (H-антигенов первой фазы a, b и d). Для молекулярной дифференциации двух биоваров S.Paratyphi В использован метод Malorny et al. (JCM, 2003), основанный на выявлении различий в определенном участке гена *STM3356* у вариантов S.Paratyphi В (dT⁺) и (dT⁻).

Результаты. У всех штаммов S.Paratyphi В в ПЦР получены два специфических фрагмента, характерных для генов *rfbJ* и *fliC-b*, что свидетельствовало о принадлежности штаммов к серогруппе O4 и наличии H-антигена b. У 6 штаммов S.Paratyphi В был выявлен специфический фрагмент, характерный для варианта, ферментирующего d-тарtrate, что позволило отнести их к варианту Java (S.Paratyphi В dT⁺). У одного штамма специфический фрагмент отсутствовал, то есть штамм принадлежал биовару S.Paratyphi В dT⁻ – возбудителю паратифа В. У других штаммов *Salmonella*, ферментирующих d-тарtrate, также обнаружен соответствующий фрагмент. Результаты ПЦР совпали с результатами классического биохимического теста ферментации d-тартата.

Заключение. Учитывая значительные эпидемиологические различия заболеваний, вызванных двумя биоварами Paratyphi В, необходимо определять биовар по отношению к d-тарtrate. Молекулярные методы позволяют сократить время исследования.

Лабораторная диагностика и экстренная профилактика иксодовых клещевых боррелиозов в Кемеровской области

А.Р.Ефимова^{1,2}, О.М.Дроздова², Ю.С.Чухров¹

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Кемеровской области», г. Кемерово;

²ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет», г. Кемерово

Официальная регистрация иксодовых клещевых боррелиозов (ИКБ) в Кемеровской области начата в 1992 году. За прошедшие годы установлено, что вся территория области является природным очагом ИКБ. С целью предупреждения заболевания ИКБ, в соответствии с СП 3.1.3310-15 «Профилактика инфекций, передающихся иксодовыми клещами» экстренную антибиотикопрофилактику необходимо назначать на основании результатов лабораторных исследований.

Цель исследования – изучение состояния лабораторной диагностики ИКБ для оценки риска инфицирования и назначения экстренной антибиотикопрофилактики в Кемеровской области.

Материалы и методы: в работе анализировали заболеваемость ИКБ за 25 лет (1993–2017 гг.), 19 720 обращений жителей Кемеровской области в медицинские организации (МО) с присасыванием клещей, результаты исследований 315 особей на ДНК боррелий (2018 г.). Использованы метод описательного ретроспективного эпидемиологического анализа, полимеразная цепная реакция. Доверительные интервалы интенсивных показателей рассчитывались для доверительной вероятности 95%.

Результаты. За годы наблюдения инцидентность ИКБ выросла в 3,6 раза – с 3,81‰ [95% ДИ = 3,20–4,57] в 1993 г. до 13,84‰ [95% ДИ = 12,47–15,31] в 2017 г. ($T_{пр.} = 4,49\%$). Заболеваемость ИКБ распределялась неравномерно. Методом перцентилей были определены 3 группы территорий: высокого, среднего и низкого риска. Максимальные уровни регистрировали на севере области, где инцидентность ИКБ была в 6–8 раз выше по сравнению с территориями низкого риска. Уровни инцидентности коррелировали с частотой обращений пострадавших жителей в МО на территориях разного риска.

За 3 месяца эпидемического сезона 2018 г. только у каждого третьего пострадавшего было проведено лабораторное исследование снятых клещей на наличие возбудителей инфекций. Индекс лабораторной доступности составил 30,29% [95% ДИ = 29,65–30,94]. Однако всего 5,69% [95% ДИ = 4,72–5,87] от всех исследованных особей подверглись идентификации *B. burgdorferi* sl. и у 29,21% [95% ДИ = 24,24–34,57] из них была обнаружена ДНК боррелий, что соответствует средней многолетней зараженности клещей, собранных с растительности в области (33,37% [95% ДИ = 32,33–34,43]).

Заключение. Установлен высокий риск инфицирования населения *B. burgdorferi* sl. и недостаточная доступность лабораторных исследований, что не позволяет обоснованно применять экстренную антибиотикопрофилактику ИКБ. Вероятно, необходимо увеличение возможности лабораторных исследований и изменение показаний для антибиотикопрофилактики для жителей территорий высокого риска заболевания ИКБ.

Разработка микробных препаратов нового поколения для защиты сельскохозяйственных культур от болезней

С.К. Жиглецова, Л.В. Коломбет, М.В. Клыкова, И.О. Лев, И.А. Дунайцев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Одной из основных угроз обеспечению населения качественным продовольствием во всем мире являются фитопатогенные микроорганизмы, которые не только вызывают значительные потери урожая, но и загрязняют продукты питания опасными токсинами. При этом все более широкое использование химических средств защиты растений от болезней приводит к развитию резистентности патогенных микроорганизмов и повышению негативного воздействия пестицидов на окружающую среду. К снижению иммунитета растений

к фитопатогенам, наряду с другими факторами, приводит понижение плодородия почв, а также недостаточность или несбалансированность применения химических минеральных удобрений. К настоящему моменту имеются многочисленные доказательства того, что ризосферные почвенные микроорганизмы способны существенно повышать доступность необходимых минеральных элементов для растений. Поэтому использование биологических препаратов на основе живых микроорганизмов рассматривается как альтернативный или дополнительный способ сокращения использования химических пестицидов и агрохимикатов в сельском хозяйстве.

Очевидно, что более эффективными являются микроорганизмы-продуценты биопрепаратов для растениеводства, сочетающие комплекс полезных свойств в одном штамме. В ГНЦ ПМБ выделены новые штаммы бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*, а также штамм гриба *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfelt et Nirenberg, GLS 03-35, высокоактивные в отношении бактериальных и грибных патогенов растений, обладающие также фосфатрастворяющей и ростостимулирующей активностью. Особо важной является активность выделенных штаммов в отношении психрофильных возбудителей так называемой снежной плесени озимых культур. Существенно, что выделенные продуценты хорошо совместимы с применяемыми сегодня химическими пестицидами.

Разработанные прототипы биопрепаратов на основе выделенных штаммов доказали повышение урожайности зерновых и бобовых культур в полевых деляночных испытаниях. При искусственном заражении возбудителями снежной плесени урожайность в вариантах, обработанных препаратами на основе выделенных штаммов, превышала более чем в 2 раза урожайность в контроле и была выше или на уровне вариантов, обработанных химическими фунгицидами.

Проведенные исследования показали, что использование почвенных микроорганизмов может позволить не только увеличить плодородие почв, повысить количество и качество продовольствия, но и улучшить среду обитания человека за счет отказа или снижения доз применяемых химических удобрений и пестицидов.

Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов сальмонелл сероваров *S. enteritidis*, *S. infantis*, *S. typhimurium*, выделенных от животных и из продукции животноводства

А.В. Забровская

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

Изучена чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) 70 штаммов *S. Enteritidis*, 69 штаммов *S. Infantis* и 79 штаммов *S. Typhimurium*, выделенных в 2004–2016 гг. от сельскохозяйственных животных, содержащихся на животноводческих предприятиях в Северо-Западном Федеральном округе Российской Федерации, и из продукции животноводства.

При сравнении чувствительности к АМП штаммов изученных сероваров отмечено, что наименьший удельный вес

чувствительных штаммов имел серовар *S. Infantis* – 7,2% от общего количества изученных культур. Подавляющее большинство штаммов этого серовара (78,3%) были полирезистентными и характеризовались устойчивостью к 3–5 группам препаратов. Присущим только этому серовару являлся профиль резистентности, включающий в себя устойчивость к трем препаратам: тетрациклину, налидиксовой кислоте и нитрофурантоину. Таким профилем обладали штаммы *S. Infantis*, выделенные из патматериала от птицы или продукции птицеводства, поступившего из Ленинградской области, а также из продукции импортного производства.

Серологический вариант *S. Typhimurium* являлся единственным в изученной выборке, штаммы которого обладали экстремальной резистентностью к антимикробным препаратам: устойчивы к 7 группам АМП. Удельный вес таких штаммов составлял 2,6%. Доля чувствительных штаммов составляла 12,6%, большинство штаммов (79,7%) являлись полирезистентными. У штаммов серовара *S. Typhimurium*, выделенных от павших свиней и из продукции свиноводства, был выявлен профиль резистентности, характеризующийся устойчивостью к пяти препаратам: ампициллину, хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину и сульфаниламиду. Большинство штаммов было изолировано в период с 2009 по 2014 г. из материала, поступившего из Тосненского района Ленинградской области, но были случаи обнаружения культур того же серовара с аналогичным профилем резистентности в материале, взятом на территории Гатчинского района, а также в импортной продукции свиноводства.

Большинство штаммов серовара *S. Enteritidis* (61,4%) являлись резистентными к одной-двум группам антимикробных препаратов. Чувствительные штаммы составляли почти треть от общего количества (31,4%), доля полирезистентных штаммов была незначительна (7,2%).

На основании полученных результатов можно сделать предположение о том, что формирование резистентности и распространение устойчивых к АМП клонов у штаммов сальмонелл разных сероваров происходит различными путями, с вовлечением разных механизмов формирования устойчивости.

Изоляция вируса геморрагической лихорадки с почечным синдромом в Пермском крае

А.В.Зайковская¹, П.Ф.Сафронов¹, С.Н.Соколов¹, С.А.Пьянков¹, В.Г.Рыжаенков³, О.И.Яровая², Л.Е.Булычев¹, С.А.Боднев¹, О.В.Пьянков¹

¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, г. Новосибирск;

²ФГБУН «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н.Ворожцова» Сибирского Отделения Российской Академии Наук, г. Новосибирск;

³ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае», Испытательный лабораторный центр, г. Пермь

Геморрагическая лихорадка с почечным синдромом (ГЛПС) – острая вирусная природно-очаговая зоонозная инфекция человека, представляющая серьезную проблему в связи с широким распространением, тяжестью болезни,

отсутствием эффективных средств этиотропной терапии и специфической профилактики. Возбудитель ГЛПС относится к роду *Hantavirus* семейства буньявирусов (*Bunyaviridae*). К настоящему времени известно более 30 серологически и генетически отличающихся друг от друга хантавирусов. ГЛПС широко распространена в РФ, в европейских очагах. Возбудителем ГЛПС в подавляющем большинстве случаев являются вирусы Пуумала и Хантаан. Показана также возможность циркуляции Сеул и Добрава. Вирусы Хантаан и Сеул циркулируют в природных очагах Дальнего Востока России. Основным путем заражения является воздушно-пылевой, заражение возможно также через поврежденную кожу при контакте с экскрементами инфицированных грызунов или со слюной в случае укуса.

Трудности в культивировании хантавирусов связаны с тем, что они в обычных условиях культивирования не оказывают видимого цитопатического действия на культуру клеток.

Клетки *Vero* заражали суспензией легких грызунов, содержащей по результатам предварительного исследования методом ИФА хантавирусный антиген. Типирование изолятов и оценку уровня репродукции вируса проводили при помощи количественного ПЦР-анализа в реальном времени с набором праймеров к S-сегменту нуклеокапсида (P.Maes et al., 2009). Полученные результаты были подтверждены в ИФА с использованием компонентов наборов ВектоХанта-IgG (ЗАО «Вектор-Бест») и «Диагностикума ГЛПС культурального, поливалентного для непрямого метода иммунофлюоресценции» (ФГУП ИПВЭ им. М.П.Чумакова РАМН).

Было проведено 8 пассажей на культуре клеток *Vero*. Изоляты успешно культивировались на культуре клеток *Vero* без выраженного цитопатического действия. Изоляты были типированы как генотип Пуумала.

Таким образом, три изолята генотипа Пуумала были выделены на культуре клеток *Vero* из суспензии легких мышечных грызунов вида рыжая полевка, отловленных в Чайковском районе Пермского края.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда в рамках проекта № 15-03-00193, государственного задания ГЗ-5/18.

Влияние бактеризованных минеральных удобрений на биометрические показатели томата

С.И.Закирьяева¹, Т.Ф.Арипов¹, Г.И.Джуманиязова¹, И.Т.Шоамиров², А.М.Махамедов²

¹Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан;

²Национальный Университет им. М.Улугбека, г. Ташкент, Узбекистан

На сегодняшний день томат (*L. esculentum Mill*) – одна из самых востребованных овощных культур. В повышении урожайности томата важная роль принадлежит удобрениям.

В последние десятилетия в научно-технической литературе растет количество работ, посвященных применению систем, использующих иммобилизацию микроорганизмов на

носителях, путем обработки гранул минеральных удобрений почвенными микроорганизмами.

Нами созданы новые бактериализованные минеральные удобрения путем адсорбционной иммобилизации клеток *Bacillus subtilis* BS-26 на комплексных минеральных удобрениях серии «FAN-AGRO».

Целью исследований являлось изучение влияния бактериализованных минеральных удобрений на корнеобразование, рост и развитие проростков томата в лабораторных условиях.

Объектами исследований являлись: минеральные удобрения FAN-AGRO 03, 04, 07, 09 и бактериализованные минеральные удобрения FAN-AGRO 03+*B. subtilis* BS-26, 04+*B. subtilis* BS-26, 07+*B. subtilis* BS-26, 09+*B. subtilis* BS-26, сероземная почва, семена томата сорта «Волгоградский 5/95».

Нами изучено влияние минеральных и бактериализованных минеральных удобрений серии FAN-AGRO на корнеобразование, рост и развитие проростков томата сорта «Волгоградский 5/95» в лабораторных условиях. Эксперименты показали, что внесение в почву бактериализованных минеральных удобрений способствовало более интенсивному росту и развитию растений томата по сравнению с вариантами с внесением минеральных удобрений и контролем (без удобрений). Наилучшие результаты были получены в варианте с бактериализованными минеральными удобрениями FAN-AGRO 04+*B. subtilis* BS-26 по ростостимулирующему и корнеобразующему эффектам при сравнении с другими бактериализованными минеральными удобрениями серии FAN-AGRO. Получено статистически достоверное увеличение высоты надземной части проростков, длины корней и фитомассы томата. Также выявлена значительная стимуляция развития корневой системы растений.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно заключить, что в качестве эффективного носителя для адсорбционной иммобилизации клеток фосфор-мобилизующего штамма бактерий *B. subtilis* BS-26 для растений томата рекомендуется минеральное удобрение FAN-AGRO 04.

Антагонистическая активность иммобилизованных клеток *Bacillus subtilis* BS-26 к фитопатогенным грибам томата

С.И.Закирьяева

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Вопросы микробиологической защиты растений становятся все более актуальными. Применение микроорганизмов позволяет решить задачи биологизации сельского хозяйства и оздоровления почв. Однако применение различных физических факторов воздействия на микроорганизмы приводит к снижению числа жизнеспособных микроорганизмов или их гибели, что сказывается на эффективности их использования.

Иммобилизация микроорганизмов на поверхности носителей предохраняет их от неблагоприятных факторов окружающей среды. Иммобилизованные клетки микроорганизмов более активны, чем свободные клетки.

В связи с этим, методом адсорбционной иммобилизации клеток *B. subtilis* BS-26 на фосфоритной муке нами разработана сухая форма бактериального удобрения FOSSTIM-3.

Целью наших исследований было изучение сохранности антагонистической активности иммобилизованных клеток *B. subtilis* BS-26 по отношению к фитопатогенным грибам томата после длительного (4 года) срока хранения.

Объектами исследований являлись свободные и иммобилизованные клетки *B. subtilis* BS-26, фитопатогенные грибы – *Cladosporium herbarum* Link. 56, *Alternaria alternata* 650, *Fuzarium solani* 422 и *F. oxysporium* 460.

Антагонистическую активность свободных и иммобилизованных клеток *B. subtilis* BS-26 проверяли методом лунок. Иммобилизованные на фосфоритной муке клетки *B. subtilis* BS-26 активно ингибировали рост фитопатогенных грибов *C. herbarum* Link. 56, *A. alternata* 650 и *F. oxysporium* 460 (d зоны угнетения патогенов составлял 65–68 мм), *F. solani* 422 и *F. oxysporium* 460 (d зоны угнетения патогенов составлял 50–55 мм), тогда как свободные клетки *B. subtilis* BS-26 показали наименьшую зону угнетения роста патогенов (27–30 мм).

Таким образом, изучение антагонистической активности иммобилизованных клеток *B. subtilis* BS-26 выявило, что после 4 лет хранения на фосфоритной муке клетки сохранили свою антагонистическую активность в отличие от свободных клеток, хранившихся в течение 4 лет в условиях холодильника при периодических пересевах.

Рецептор циклического аденозинмонофосфата *Yersinia pestis* необходим для развития экспериментальной бубонной чумы

С.А.Иванов, Р.З.Шайхутдинова, Т.Э.Светоч, Е.А.Красильникова, Т.И.Комбарова, С.В.Дентовская

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Рецептор циклического аденозинмонофосфата (Cyclic AMP receptor protein – CRP) является регулятором вирулентности многих патогенов. CRP контролирует экспрессию множества генов бактерий, ассоциированных с патогенностью и отвечающих за приспособление к изменяющимся условиям окружающей среды. Установлено, что потеря CRP ведет к значительному снижению образования возбудителем чумы биопленки. Для конструирования мутанта, дефектного по синтезу CRP (YPO0175) на основе вирулентного штамма *Y. pestis* subsp. *pestis* 231, использовали конъюгативный перенос инактивированного гена в составе суицидного вектора pCVD442 с последующим его элиминированием. Мутация в гене *crp* привела к изменению ростовых характеристик штамма (уменьшился размер колоний, снизилась скорость роста), но не вызвала появления чувствительности к гидрофобным агентам. Мы оценили устойчивость полученного мутанта к полимиксину В, так как экспериментально полученные данные подтверждают, что устойчивость к данному пептиду прямо отражает устойчивость к антимикробным

пептидам млекопитающих. Выращенные при температуре 25°C мутанты Δср были в 200 раз чувствительнее к бактерицидному действию полимиксина В, минимальная ингибирующая концентрация (МИК) составила 0,25 мкг/мл, а у исходного штамма – 50 мкг/мл. Полученный штамм *Y. pestis* 231ср::cat наряду с исходным *Y. pestis* 231 использовали для моделирования экспериментальной бубонной чумы у беспородных мышей и крыс. Показатель LD50 на мышах при подкожном заражении для штамма *Y. pestis* 231ср::cat достиг 10⁵ КОЕ в отличие от исходного штамма (LD50 = 2 КОЕ), а на крысах этот показатель соответствовал 10⁶ КОЕ для мутантного штамма и 56 КОЕ – для исходного. Подкожная иммунизация мышей дозой 10⁴ КОЕ штамма *Y. pestis* 231ср::cat обеспечивала 100%-е выживание животных, зараженных 200 DCL вирулентного штамма *Y. pestis* 231. Таким образом, делеция гена *ср* приводит к аттенуации штамма *Y. pestis* 231 для мышей и крыс на бубонной модели инфекции и подтверждает перспективность его использования в качестве кандидата в вакцинные.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Влияние diaзотрофов на рост и развитие риса

Г.Х.Кадырова, А.К.Абдуллаев, З.С.Шакиров, И.В.Сафаров, И.М.Халилов

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Известно, что инокуляция растений биопрепаратом на основе diaзотрофов приводит к усилению роста, развития и повышению урожайности риса на 10–25%, снижает заболеваемость сельхозкультур до 10%, повышает плодородие почвы и продуктивность растений, сокращает сроки созревания урожая на 15–20 дней и расходы на минеральные удобрения на 30–50%.

В связи с этим целью данной работы является изучение влияния местных штаммов diaзотрофов на всхожесть семян, рост и развитие различных сортов риса.

В наших исследованиях для изучения влияния бактериальной суспензии diaзотрофов на прорастание семян и развитие проростков сортов риса «Мустакиллик», «Искандер» и «Лазурный» использовали суспензии культур *Azospirillum* UT13-8 в количестве 7,6 × 10⁵ КОЕ/мл, *Azotobacter sp.* 12–2,5 × 10⁵ КОЕ/мл и *Nostoc calcicola* 25–2,3 × 10⁵ КОЕ/мл. Через сутки прорастание семян различных сортов риса, инокулированных diaзотрофами, составляло 95–100%. Выявлено, что вне зависимости от сорта риса длина корней 3-суточных проростков превышала в 10 раз длину корней суточных проростков. Инокуляция семян риса сорта «Лазурный» штаммом *Azospirillum* UT13-8 показала, что в корнях проростков образовались деформированные боковые корневые волоски по сравнению с контрольным вариантом, что коррелирует со способностью азоспирилл колонизировать корни растений.

При инокуляции семян различных сортов риса diaзотрофными бактериями в микровегетационных опытах био-

масса растений увеличивается по отношению к контролю. В частности, биомасса риса сорта «Лазурный» в вариантах, инокулированных штаммами *Azotobacter sp.* 12 и *Azospirillum* UT13-8, превышала контрольный вариант на 58–61%, а биомасса сорта «Мустакиллик» в вариантах, инокулированных *Nostoc calcicola* 25 и *Azospirillum* UT13-8, – на 51–55%. Максимальная эффективность на обоих сортах риса выявлена при инокуляции смешанными культурами diaзотрофов: *Azospirillum* A13-8 + *Azotobacter sp.* 12 + *Nostoc calcicola* 25.

Таким образом, более плотное развитие и увеличение корневых волосков инокулированных растений объясняется тем, что использованные местные штаммы diaзотрофов являются потенциальными продуцентами фитогормонов.

Антимикробная эффективность комбинированного применения офтальмологического ниосомального геля и электромагнитотерапии в лечении химических ожогов роговицы

Н.И.Калинкина, И.А.Базиков

Ставропольский государственный медицинский университет, г. Ставрополь

При ожоговых поражениях роговицы вероятность микробного поражения достаточно велика. Ожоговая травма создает благоприятные условия для развития вторичной инфекции, которая усиливает интоксикацию и отягощает течение ожога. Установлена клиническая эффективность применения ниосом кремнийорганической природы в качестве носителя лекарственных препаратов в лечении раневых процессов различной этиологии. Также известны исследования по влиянию физиотерапии на регенеративные процессы роговицы. Комбинированное применение данных методик является перспективным для лечения пациентов с ожогами роговицы, в том числе и с микробными осложнениями, что послужило основанием для проведения данной работы.

Проводился количественный секторальный посев на среды, предназначенные для культивирования бактерий со слизистой оболочки глаз. В анаэробных условиях чистые культуры факультативно- и облигатно-анаэробных бактерий получены с использованием 5% кровяного гемин-агара, приготовленного на основе Brain-Heart Infusion фирмы «Difco». Результаты количественного исследования микрофлоры рассчитывались в колониеобразующих единицах – КОЕ/мл (CFU) и lg CFU. Материалом для микробиологического исследования служило отделяемое слизистых глаз с бактериальными осложнениями экспериментальных щелочных ожогов роговицы. Выделенные микроорганизмы идентифицировали, а по характеру и частоте их встречаемости были составлены их процентные соотношения. Зону ожога роговицы подопытных животных инфицировали штаммом *Staphylococcus aureus*, наиболее распространенным возбудителем по результатам исследования распространенности возбудителей с поражением роговицы в клинических условиях. Наиболее часто выделяемыми микроорганизмами были представители семейства *Micrococcaceae* в 89,2%: *Staphylococcus epidermidis* – (52,5%), *Staphylococcus aureus* – (18,2%)

и реже *Streptococcus spp.* (8,0%), *Enterobacteriaceae spp.* (5,3%), *Enterococcus sp.* (5,2%). Грамотрицательная флора (10,8%) была представлена семействами *Enterobacteriaceae spp.* (*E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Enterobacter spp.*, *S. marcescens*, *P. rettgeri*, *M. morgani*) и неферментирующими бактериями *P. aeruginosa*, *A. baumannii*). Комбинированное лечение микробных осложнений ожога роговицы проводили с использованием ниосомального пептидного геля и электромагнитотерапии.

Результаты исследования продемонстрировали высокую антимикробную эффективность комбинированного применения офтальмологического ниосомального геля и физиотерапии в лечении химических ожогов роговицы.

Характеристика штамма *E. coli* серотипа O157:H7, выделенного от больного с диагнозом острый гастроэнтерит

Н.Н.Карцев¹, И.П.Мицевич¹,
Е.А.Алексеева², В.Ю.Яковлева²

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk;

²ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области», г. Вологда

Энтерогеморрагические *E. coli* по-прежнему не теряют своей актуальности в этиологической структуре острых кишечных инфекций.

Целью данного исследования было углубленное изучение штамма *E. coli* серотипа O157:H7, выделенного во ФБУЗ ВО «Вологодская областная инфекционная больница» от больного с диагнозом острый гастроэнтерит. В задачи исследования входило определение серотипа, биохимическая характеристика штамма, определение чувствительности к антибактериальным препаратам, детекция генов вирулентности, выявление продукции шига-токсинов.

Методом серотипирования с помощью моновалентной агглютинирующей сыворотки «Агглютинирующая О-коли сыворотка O157» (АО «Биомед» им. И.И.Мечникова) и латексного диагностикума «Диагностический набор реагентов для быстрой идентификации возбудителя геморрагического колита *Escherichia coli* O157:H7 в реакции латекс-агглютинации, жидкого (Латексная тест-система *E. coli* O157:H7)» (ФБУН ГНЦ ПМБ) подтверждена принадлежность культуры к серотипу O157:H7.

Были получены следующие биохимические характеристики изучаемого штамма *E. coli* O157:H7: цитрат Симмонса (–); ацетат натрия (+); индол (+); подвижность (+); мочевины (–); лактоза (+); сорбит (–); лизин (+). С помощью автоматического микробиологического анализатора Vitec 2 Compact была определена чувствительность изучаемого штамма к антимикробным препаратам. Штамм *E. coli* O157:H7 проявлял чувствительность ко всем антибиотикам, входящим в состав карты AST-N101.

Методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флюоресцентной детекцией детектированы гены вирулентности: *rfd*_{O157} – липополисахарида, *fli*_{CH7} – жгутикового

антигена, *eae* – фактора адгезии интимина, *stx1* – шига-токсина типа 1, *stx2* – шига-токсина типа 2, *ehxA* – энтерогемолизина.

С использованием иммунохроматографического теста Duopath® Verotoxins (иммунохроматографический экспресс-тест, выявляющий наличие веротоксинов (шигаподных токсинов) Merck KGaA (Германия)) подтверждена продукция веротоксинов типа 1 и 2.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что изучаемая культура принадлежит к шига-токсин продуцирующим, энтерогеморрагическим *E. coli* серотипа O157:H7 и относится ко второй группе патогенности.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Микробиоценоз кишечного содержимого рыб, пораженных личинками возбудителя *Opisthorchis felineus*

Л.В.Катаева, М.И.Беляева, Т.Ф.Степанова,
О.В.Посоюзных, Д.В.Некрасова, О.Н.Колотова

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, г. Тюмень

По данным Роспотребнадзора, в 2017 г. по микробиологическим и паразитологическим показателям не отвечали установленным требованиям 6,5% проб рыбы и 0,6% морепродуктов. Учитывая, что в 2017 г. вступил в силу технический регламент Евразийского экономического союза ТР ЕАЭС 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции», вопросы безопасности пищевой рыбной продукции в микробиологическом и паразитологическом отношении являются актуальными.

Исследовано 14 экземпляров язя *Leuciscus idus* семейства *Cyprinidae*, выловленных любительским ловом из Обь-Иртышского бассейна гиперэндемичного очага описторхоза. До проведения исследования рыба хранилась в условиях холодильника при температуре +4–6°C в течение 72 ч.

Проанализировано 30 культур микроорганизмов, выделенных из кишечника рыб. Идентификация микроорганизмов осуществлялась методом масс-спектрометрии. Микробиоценоз кишечного содержимого рыб был представлен ассоциациями бактерий семейства *Enterobacteriaceae* (53,3%) и *Aeromonadaceae* (46,7%). В структуре бактерий семейства *Enterobacteriaceae* идентифицировались штаммы родов *Klebsiella* (43,75%), *Citrobacter* (25,0%), *Serratia* (18,75%), *Raoultella* и *Enterobacter* (6,25% соответственно). Семейство *Aeromonadaceae* представлено видами *A. salmonicida* (35,7%), *A. hydrophila* и *A. bestiarum* (21,4% соответственно); *A. ichthiosmia*, *A. eucrenophila* и *A. veronii* (7,1% соответственно).

Исследование рыб проводили компрессионным методом в соответствии с МУК 3.2.988-00. Жизнеспособность личинок определяли по морфологическим признакам и двигательной активности. Вели подсчет количества личинок в 1 г мышц. В результате исследования установлена зараженность жизнеспособными личинками *O. felineus* всех исследу-

дованных экземпляров рыб. Количество метацеркарий в 1 г мышц варьировало от 2 до 42 личинок и в среднем составило 15.

Микроорганизмы, изолированные из кишечного содержимого рыб, инвазированных личинками возбудителя описторхоза, относятся к условно-патогенным бактериям. Известна их роль в этиологии воспалительных заболеваний кожи рыб, что влияет на качество пищевой рыбной продукции.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о высокой контаминации микроорганизмами рыб, не подвергавшихся низкотемпературной обработке до употребления в пищу. Соблюдение условий хранения и режим обработки рыбы позволит минимизировать риски заражения описторхозом и бактериальными инфекциями желудочно-кишечного тракта.

Микробиологический мониторинг циркуляции бактерий рода *Acinetobacter* в отделении реанимации и интенсивной терапии

Л.В. Катаева, О.Н. Колотова, Н.Ф. Карпухина, А.А. Вакарина, Т.Ф. Степанова

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора, г. Тюмень

Глобальный рост антибиотикорезистентности микроорганизмов является важной проблемой отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ). Одним из наиболее значимых возбудителей бактериальных инфекций среди грамотрицательных микроорганизмов является род *Acinetobacter*. Данные зарубежной статистики свидетельствуют о том, что представители рода входят в число шести самых опасных бактерий (ESKAPE1-патогены) для населения развитых стран. Наиболее часто развитие ацинетобактериальных инфекций человека связано с видом *Acinetobacter baumannii*, который является типичным условно-патогенным микроорганизмом, вызывающим инфекционный процесс на фоне иммуносупрессии. Искусственная вентиляция легких, диализ, наличие имплантированных медицинских устройств (катетеры, дренажные трубки и т.д.) усиливают риск присоединения ацинетобактериальной инфекции.

Проанализировано 550 культур микроорганизмов, выделенных за 5 месяцев текущего года из биоматериала больных ОРИТ. Идентификация микроорганизмов осуществлялась методом масс-спектрометрии. Чувствительность бактерий рода *Acinetobacter* к антибиотикам проводили диско-диффузионным методом к амикацину, левофлоксацину, цефепиму, имепенему, меропенему, ко-тримаксазолу.

Наибольший удельный вес в структуре всей выделенной микрофлоры составляет семейство *Enterobacteriaceae* (37,7%), почти половина из них отнесены к бактериям рода *Klebsiella*; бактерии рода *Acinetobacter* идентифицированы в 17,3% случаев. Кроме того, обнаружены бактерии родов *Staphylococcus* (14,2%), *Enterococcus* (10,5%), *Pseudomonas* (4,9%) и прочие – 15,3%. Среди бактерий рода *Acinetobacter*

преобладал вид *A. baumannii* – 92,71%. Частота обнаружения других видов составила: *A. nosocomialis* – 6,25%, *A. pittii* – 1,04%. *A. baumannii* преимущественно идентифицировался из мокроты (82%), реже из мочи (12,3%) и эндотрахеальной трубки (3,4%), по 1,1% из плевральной и брюшной полостей.

Несмотря на то, что *Acinetobacter* sp. выявляются значительно реже представителей семейства *Enterobacteriaceae*, они привлекают к себе большее внимание благодаря их высокой резистентности. Результаты нашего исследования чувствительности к антибиотикам свидетельствуют о том, что 82% штаммов *A. baumannii* обладали полирезистентностью. Вместе с тем анализ протеинограмм штаммов *A. baumannii*, идентифицированных от разных больных, пребывавших в ОРИТ в одно время, показал их идентичность, что свидетельствует о возможной контаминации ими больных в период лечения в этом отделении.

Характеристика возбудителя брюшного тифа, выделенного на территориях Российской Федерации в 2005–2017 гг., по чувствительности к антимикробным препаратам

Л.А. Кафтырева, С.А. Егорова

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

Изучена чувствительность к антимикробным препаратам (АМП) у 306 штаммов *S. typhi* методами: диско-диффузионным и градиентной диффузии согласно рекомендациям EUCAST (отечественный агар Мюллера–Хинтон, диски и MICE-полоски, Oxoid). Чувствительными к АМП были 17,0% штаммов, 83,0% характеризовались резистентностью, из них к хинолонам 83,0%, ампициллину 2,6% и хлорамфениколу 2,6%, триметоприм/сульфаметоксазолу 5,2%. Штаммы, устойчивые к цефалоспорином 3–4-го поколения и азитромицину, не выявлены. Штаммы по фенотипу резистентности распределились на 4 группы: чувствительные (17,0%); устойчивые только к хинолонам (77,8%); устойчивые к нескольким группам АМП: хинолонам, ампициллину, триметоприм/сульфаметоксазолу, хлорамфениколу (2,6%); устойчивые к хинолонам и триметоприм/сульфаметоксазолу (2,6%). Проведенные исследования показали, что брюшной тиф в РФ был вызван *S. typhi*, как чувствительными к АМП, так и штаммами, у которых развитие резистентности затрагивало различные группы препаратов, включая препараты, использовавшиеся для лечения брюшного тифа ранее и в настоящее время. Особенность российской популяции *S. typhi* заключается в том, что 83,0% штаммов характеризовались устойчивостью к хинолонам – препаратам, активно используемым в последние годы для лечения брюшного тифа, что делает невозможным применение их для эмпирической терапии брюшного тифа в РФ. Кроме того, популяция возбудителя включала штаммы с множественной устойчивостью к АМП, в том числе к современным препаратам и препаратам «первой» линии, которые

широко использовали в прошлом веке (ампициллин, хлорамфеникол, триметоприм/сульфаметоксазол). Несмотря на то, что в РФ заболеваемость брюшным тифом носит спорадический характер, регистрируемые «завозные случаи» обусловлены резистентными к АМП возбудителями. Штаммы с характерным фенотипом резистентности, затрагивающим препараты выбора для лечения брюшного тифа, имеют глобальное распространение как в странах, эндемичных по брюшному тифу (Юго-Восточная и Центральная Азия, Африка), так и в странах, где заболеваемость формируется «завозными» случаями (РФ, США, Япония, страны Европы). Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга резистентности к АМП возбудителя брюшного тифа, поскольку это заболевание склонно к эпидемическому распространению, возникновению вспышек, а инфицирование резистентными штаммами приводит к снижению эффективности антимикробной терапии.

Ведущие сиквенс-типы штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра, при заболеваниях мочевыводящих путей

Л.А.Кафтырева, М.А.Макарова

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Роспотребнадзор, г. Санкт-Петербург

E. coli – распространенный возбудитель инфекций мочевыводящих путей (ИМВП). Штаммы, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), часто вызывают инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), нередко осложняются развитием уросепсиса. Глобальное распространение получили *E. coli*, продуцирующие БЛРС генетического клона ST131 (сиквенс-тип 131), способные вызывать внутрибольничные и внебольничные ИМВП. Такие штаммы характеризуются резистентностью к цефалоспорином, фторхинолонам, аминогликозидам, продукцией БЛРС СТХ-М15. Их часто называют «успешным» клоном из-за глобального распространения.

Цель. Выявить ведущие сиквенс-типы штаммов *E. coli* – возбудителей ИМВП.

Материалы и методы. Изучены 88 выделенных из проб мочи штаммов *E. coli*, резистентных к ЦРС. Диско-диффузионным методом изучали чувствительность к 11 группам АМП: бета-лактамам, фторхинолонам, аминогликозидам, тетрациклину. Интерпретацию результатов проводили согласно клиническим рекомендациям 2018 г. Детекцию генов blaCTX-M проводили в ПЦР со специфичными праймерами. Мультилокусное сиквенс-типирование проводили согласно базе данных MLST University of Warwick (MarkAchtmanDatabase, <http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Ecoli/>).

Результаты. Все штаммы были резистентны как минимум к двум ЦРС, но оставались чувствительными к карбапенемам. Резистентность отмечена к амоксиклаву (33,0%), гентамицину (48,9%) и амикацину (10,2%), более половины штаммов были нечувствительны к цiproфлоксацину и тетра-

циклину. Молекулярными методами подтверждена продукция БЛРС генетического семейства СТХ-М, из них группы СТХ-М1 – 75,0% штаммов, СТХ-М9 – 17,0% и по одному штамму – СТХ-М2 и СТХ-М8/25. Штаммы, продуцирующие БЛРС группы СТХ-М1, были представлены СТХ-М15. MLST-анализ выявил 19 различных ST: 72,7% относились к трем типам: ST131 – 36,4%, ST38 – 19,3%, ST405 – 17% штаммов. Все штаммы, продуцирующие БЛРС СТХ-М15, относились к ST131 и характеризовались сочетанной резистентностью к цiproфлоксацину, тетрациклину и гентамицину.

Заключение. Роль *E. coli* как возбудителя ИСМП и ИМВП неуклонно возрастает. Наши исследования показали, что популяция возбудителя, вызывающего ИМВП, гетерогенна по резистентности к ЦРС, генам, кодирующим продукцию БЛРС, а также генетическим клонам. Три генетических клона *E. coli* являются доминирующими. К ним принадлежат более 70% штаммов. «Успешный» международный клон *E. coli* ST131 – СТХ-М15 – преобладал в популяции возбудителей ИМВП в Санкт-Петербурге.

Инфекции человека и сельскохозяйственных животных, передаваемые через укус клеща, на территории Байкальского региона

И.В.Козлова¹, Е.К.Дорощенко¹, О.В.Сунцова¹,
О.В.Лисак¹, В.А.Пар², С.Е.Ткачев², Ю.С.Савинова¹,
О.О.Черноиванова¹

¹ФГБУН «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Иркутск;

²ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск

Проведен анализ многолетних данных по распространённости, генетическому разнообразию и риску заражения людей возбудителями клещевых инфекций на территории Иркутской области. В ходе исследования уточнена структура сочетанных природных очагов и современные ареалы клещевых инфекций в регионе. Установлена высокая степень сочетанности природных очагов как ранее известных (клещевой энцефалит (КЭ); иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ); клещевой риккетсиоз), так и новых (гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ); моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ); клещевой боррелиоз, вызываемый *Borrelia miyamotoi*; бабезиоз) клещевых инфекций.

Кроме природных очагов клещевых инфекций человека, на территории Байкальского региона выявлено наличие очагов клещевых инфекций сельскохозяйственных животных (анаплазмоз овец – возбудитель *Anaplasma ovis*; бабезиоз овец – возбудители *Babesia crassa*, *B. motasi*; тейлериоз лошадей – возбудитель *Theileria equi*). Наибольшая видовая и генетическая вариабельность возбудителей клещевых инфекций отмечена на территории Эхирит-Булагатского и Иркутского районов Иркутской области. На территории Эхирит-Булагатского района обнаружена циркуляция: ВКЭ дальневосточного (ДВ), европейского (ЕВ), сибирского (СИБ) субтипов, штаммы 178-79 (субтип 4), 886-84 (субтип 5),

«политиповые» штаммы; *B. burgdorferi* s.l.; *B. miyamotoi*; *R. sibirica*; *R. raoultii* (R. sp. DnS14, R. sp. DnS28, R. sp. RpA4); *E. muris*; *A. phagocytophillum* (три генетических варианта); *A. ovis*; «*Candidatus R. tarasevichiae*»; *B. microti* US-type; *B. crassa*; *B. motasi*; *T. equi*.

В Иркутском районе в иксодовых клещах выявлены: ВКЭ ДВ, ЕВ, СИБ субтипов, «политиповые» штаммы; *B. burgdorferi* s.l.; *B. miyamotoi*; *E. muris*; *A. phagocytophillum* (2 генетических варианта); «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*»; «*Candidatus R. tarasevichiae*»; *B. microti* US-type; *B. divergens*/*B. venatorum*; *B. crassa*; *T. equi*.

Исследование выполнено при финансовой поддержке гранта РФФИ №16-04-01336_А.

Возбудители гнойно-септических инфекций в стационарах Санкт-Петербурга

Н.С.Козлова¹, Н.Е.Баранцевич², К.Г.Косякова^{1,3},
О.А.Каменева³, Е.П.Баранцевич²

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

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А.Алмазова», г. Санкт-Петербург;

³СПГБУЗ «Детская городская больница №22», г. Колпино, г. Санкт-Петербург

Цель исследования. Анализ и сопоставление видового состава возбудителей гнойно-септических инфекций (ГСИ) стационаров двух районов Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. В 2015–2016 гг. в трех стационарах двух районов Санкт-Петербурга из различного материала больных ГСИ были выделены 2319 штаммов возбудителей. Два стационара южного района, детский и взрослый, объединенные под названием «южный», являлись районными, стационар в северном районе («северный») – многопрофильным. Идентификация этиологически значимых микроорганизмов осуществлялась фенотипически, а в северном стационаре еще и по последовательности первых 500 пар нуклеотидов гена *16SPHK*.

Результаты. Проведенное исследование показало преобладание в стационарах двух районов Санкт-Петербурга инфекций респираторного тракта, в то же время в северном стационаре в три раза чаще, чем в южном, встречались инфекции мочевыделительного тракта и кровотока. Были выявлены существенные различия в микробном пейзаже возбудителей ГСИ в стационарах разных районов. В северном многопрофильном стационаре преобладали грамотрицательные возбудители ГСИ, в районном южном – грамположительные. В структуре возбудителей ГСИ в северном стационаре преобладали штаммы грамотрицательных и грамположительных микробов восьми видов (*K. pneumoniae*, *E. faecalis*, *E. coli*, *P. aeruginosae*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *A. baumannii* и *E. faecium*) с совместным удельным весом более трех четвертей выделенных культур (84,5%). Доля остальных возбудителей не превышала 2,0% для каждого. Ведущими возбудителями ГСИ оказались *K. pneumoniae* (25,3%), *E. faecalis* (12,3%) и *E. coli* (10,0%). Совместная доля этих трех возбудителей составила почти половину (47,6%)

всех выделенных штаммов. В южном стационаре преобладали штаммы грамположительных и грамотрицательных микробов шести видов, преимущественно стафилококков (*S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. hominis*), их совместный удельный вес составил почти две трети от числа выделенных культур (67,6%). Доля микроорганизмов остальных видов не превышала 3,0% для каждого. Ведущими видами оказались *S. aureus* (20,7%), *S. epidermidis* (16,5%) и *S. haemolyticus* (11,1%). Совместная доля стафилококков этих трех видов составила в южном стационаре почти половину (48,4%) от числа выделенных культур.

Выводы. Спектр возбудителей ГСИ различного происхождения отличался в многопрофильном и районных стационарах Санкт-Петербурга, при этом в районных преобладали разные виды стафилококков, роль которых в развитии внутрибольничных инфекций в последние годы значительно снизилась. В многопрофильном стационаре, как и в большинстве стационаров России (исследование МАРАФОН), преобладали энтеробактерии, прежде всего *K. pneumoniae*.

Выявление ДНК возбудителя туляремии у нимф и имаго таежного клеща (*Ixodes persulcatus*)

М.И.Кормилицына, Т.В.Михайлова, Э.И.Коренберг,
Ю.В.Ковалевский

ФГБУ «Федеральный национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи» Министерства Здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Природные очаги туляремии лесного типа остаются наименее изученными. Известно, что им свойственен сравнительно «вялый» эпизоотический процесс и слабое эпидемическое проявление. Циркуляция возбудителя поддерживается за счет мелких млекопитающих, местами зайцев, а также переносчиками и длительными хранителями инфекции – кровососущими беспозвоночными. Спонтанная зараженность туляремийными бактериями отмечалась чаще у иксодовых клещей. Культуры возбудителя туляремии выделяли от клещей *Ixodes persulcatus*, обитающих в лесных стациях, при этом по результатам биопроб их зараженность составляла менее 1% [Олсуфьев и Дунаева, 1970]. Возможное участие клещей этого вида в циркуляции возбудителя туляремии слабо изучено молекулярно-биологическими методами.

Цель работы: выявить наличие ДНК *Francisella tularensis* у клещей *I. persulcatus* методом полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ).

Исследованы 520 нимф и имаго таежного клеща, снятых с мелких млекопитающих в 2006–2011 гг. в лесах Среднего Урала. Две группы клещей включали по 130 пулов (каждая по 2 нимфы или имаго), суспензии которых исследовали на наличие ДНК методом ПЦР-РВ с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов и анализом специфичности по кривым плавления (по «конечной точке») [Кормилицына и др., 2016]. Для выявления ДНК франциселл, а также так называемых *Francisella*-like бактерий – эндосимбионтов кле-

щей, использовали мишень *16S rRNA* с родоспецифичными праймерами NC-Fran16Sr-F/1281R0,1 (размер амплифицируемого участка – 221–222 п.н.). Для идентификации вида применяли праймеры и зонды: 1) IpnA2F/R и IpnA2P; 2) ISFtu2F/R и ISFtu2P (82 и 97 п.н. соответственно). Для некоторых образцов нимф использовали праймеры iglCFt-F/R (226 п.н.). В результате была выявлена *16S rRNA*-мишень *Francisella spp.* в 70 пулах нимф ($53,8 \pm 8,7\%$) и 49 пулах имаго ($37,7 \pm 8,5\%$). ДНК-положительные образцы были проверены на наличие видоспецифических ген-мишеней. Подавляющее большинство образцов идентифицированы как *F. tularensis*: 60 из 70 положительных проб нимф ($85,7 \pm 8,4\%$) и 47 из 49 проб имаго ($95,9 \pm 5,7\%$). Однако полуколичественный анализ ПЦР-ампликонов показал относительно малые количества субстратов всех образцов на уровне предельных границ концентрации контролей во всех этих реакциях. Таким образом, выявление ДНК *F. tularensis* у клещей *I. persulcatus* свидетельствует об их возможной роли в циркуляции и длительном сохранении возбудителя туляремии в очагах лесного типа.

Сравнительный анализ качества питательных сред для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболонск

Растущая устойчивость возбудителей инфекционных болезней к антимикробным препаратам (АМП) в настоящее время требует точных результатов анализа, поскольку ошибки тестирования могут привести к неправильному выбору препаратов для лечения и способствовать распространению резистентности. Наиболее распространенным методом для определения чувствительности патогенов к АМП является диско-диффузионный метод (ДДМ). Критическим фактором, влияющим на результаты тестирования, является качество используемой питательной среды. В ФБУН ГНЦ ПМБ разработана технология и организовано производство отечественного агара Мюллера–Хинтон, удовлетворяющего современным требованиям документов EUCAST и клиническим рекомендациям.

Цель. Провести оценку качества разработанного отечественного агара Мюллера–Хинтон в сравнительных испытаниях с импортными аналогами при исследовании тест-штаммов диско-диффузионным методом (ДДМ).

Материалы и методы. В работе тестировали агары Мюллера–Хинтон (МХА) шести фирм-производителей: BD BBL, HiMedia, Bio-Rad, Merck, BD Difco, ФБУН ГНЦПМБ. Исследовали 11 тест-штаммов: *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecalis*

ATCC 51299, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *H. influenzae* ATCC 49766, *H. influenzae* ATCC 49247, *K. pneumoniae* ATCC 70060, диски (BD) со следующими АМП: гентамицин, тобрамицин, амикацин, ципрофлоксацин, имипенем, меропенем, тигецилин и триметоприм/сульфаметоксазол. При тестировании требовательных тест-штаммов в среды дополнительно вносили 5%-ю дефибрированную лошадиную кровь (E&O, Шотландия) и 20 мг/л β -NAD (Sigma).

Концентрацию металлов измеряли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) на плазменном спектрометре iCAP-6500 Duo Thermo Scientific (England).

Определение чувствительности микроорганизмов к АМП диско-диффузионным методом и интерпретацию результатов проводили в соответствии с актуальными версиями клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам».

Результаты исследования оценивали путем сравнения диаметров зон подавления роста с допустимыми значениями, рекомендованными клиническими рекомендациями для рутинного контроля качества питательных сред. При получении результатов, выходящих за рамки допустимых интервалов, их оценивали как ошибки. Результаты, укладывающиеся в допустимый интервал диаметров, но отличающиеся от целевых значений на $\pm(1-2)$ мм, расценивали как отклонения, а на ± 3 мм – как существенные отклонения.

Результаты. Полученные результаты при тестировании большинства тест-штаммов соответствовали целевым значениям либо имели отклонения от целевых значений на $\pm(1-2)$ мм.

Ошибки и существенные отклонения обнаружены при исследовании тест-штаммов, являющихся индикаторами изменения состава питательной среды: *P. aeruginosa* ATCC 27853 – маркер изменения концентрации двухвалентных металлов кальция (Ca), магния (Mg), цинка (Zn); *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 чувствительны к изменению уровня марганца (Mn); *E. faecalis* ATCC 29212 – индикатор содержания тимина/тимидина. Так, на МХА (HiMedia) обнаружены ошибки при тестировании *P. aeruginosa* ATCC 27853 к гентамицину, амикацину и тобрамицину, на МХА (Merck) – к ципрофлоксацину, а на МХА (Merck) при определении чувствительности *S. aureus* ATCC 25923 и *E. faecalis* ATCC 29212 к тигецилину.

Различающиеся концентрации двухвалентных металлов в исследуемых средах позволили объяснить полученные ошибки и существенные отклонения.

На разработанном в ФБУН ГНЦ ПМБ агаре Мюллера–Хинтон существенные отклонения или ошибки не отмечены.

Вывод. Отечественный агар Мюллера–Хинтон соответствует требованиям нормативных документов по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам, не уступает импортным аналогам и даже превосходит некоторые из них.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Клинические проявления микст-инфекции клещевого энцефалита и клещевого боррелиоза у взрослых за период 2008–2017 гг. в Новосибирске

Е.И.Краснова¹, Ю.В.Казакова¹, Т.Г.Бурмистрова²,
В.Г.Кузнецова¹, М.В.Савельева²

¹ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Новосибирск;
²ГБУЗ НСО «Городская инфекционная больница №1», г. Новосибирск

Особую проблему в настоящее время составляют микст-инфекции: клещевой боррелиоз (КБ) и клещевой энцефалит (КЭ) ввиду того, что в природных очагах возбудители этих заболеваний формируют сочетанные очаги и могут быть источниками микст-инфекций.

Цель исследования. Изучить клинические проявления микст-инфекции (КЭ и КБ) у больных, проживающих в Новосибирске.

Материалы и методы. Проведен анализ клинической картины микст-инфекции (КЭ и КБ) у 79 пациентов (52 мужчин и 27 женщин), госпитализированных в ГИКБ № 1 Новосибирска в 2008–2017 гг. Возраст больных варьировал от 20 лет до 81 года с преобладанием лиц старше 50 лет (51 чел.).

Результаты. Из 1082 больных, госпитализированных с диагнозом КЭ, у 79 (7,3%) отмечалась микст-инфекция (КЭ и КБ). Среди них у 61 (77,2%) пациента диагностирована лихорадочная форма, у 18 (22,8%) регистрировалось поражение центральной нервной системы (ЦНС): менингит – у 12 и очаговая симптоматика – у 6 чел.

Наличие мигрирующей клещевой эритемы было отмечено у 53 из 79 больных (67,1%), причем у большинства этих пациентов КЭ протекал в виде лихорадочной формы (80,3%). При сочетании КЭ с безэритемной формой КБ (26 чел., 32,9%) в 54% случаев выявлялись формы с поражением ЦНС – менингоэнцефалополлиомиелитическая (4 пациента, с 1 летальным исходом), менингоэнцефалитическая (2 чел.), менингеальная (8 чел.). Двухволновое течение КЭ отмечалось у 1 больного.

Выводы. Микст-инфекция (КЭ и КБ) у больных, жителей Новосибирска, госпитализированных с диагнозом КЭ, составила 7,3%. Среди них у каждого пятого пациента отмечалось поражение ЦНС. Случаи КЭ с очаговыми симптомами поражения ЦНС чаще сочетались с безэритемной формой КБ, что диктует необходимость комплексного подхода к профилактике, ранней диагностике и терапии данных клещевых инфекций.

Выявление ДНК туляремийного микроба в суспензиях органов мышей

Т.Ю.Кудрявцева, И.Ю.Щит

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболонск

В последнее десятилетие разработка методов на основе ПЦР направлена на повышение специфичности и чувствительности для выявления единичных клеток возбудителя.

В результате эпизоотического обследования территорий области в лаборатории особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии Курской области» были выявлены антитела к возбудителю туляремии в сыворотках крови мышевидных грызунов, приготовлены суспензии органов, однако культуру туляремийного микроба выделить не удалось. Суспензии органов мышей были переданы в ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболонск).

Из полученных суспензий органов – двух серопозитивных образцов №5 (титр 1:80), №35 (титр 1:60) и четырех серонегативных образцов №45, №58, №117 и №142 – была выделена ДНК с использованием набора реагентов для выделения геномной ДНК из биологического материала фирмы «Синтол».

В качестве мишени для анализа на присутствие ДНК туляремийного микроба был выбран *iglC* ген острова патогенности, который присутствует в двух копиях у вирулентных для человека и животных штаммов возбудителя туляремии.

Для ПЦР с детекцией продукта амплификации в режиме реального времени были рассчитаны праймеры и зонд к последовательности выбранного гена с помощью программы Primer Express и проверены на специфичность с использованием программы BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Праймеры *iglCF46* и зонд синтезированы и очищены фирмой «Синтол», Москва.

Реакцию проводили на приборе для проведения ПЦР-анализа с детекцией продукта в режиме реального времени Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Systems (США). Во всех суспензиях органов мышей, и серопозитивных и серонегативных, методом ПЦР в реальном времени было выявлено наличие ДНК туляремийного микроба. Сигнала от ДНК из мочевого пузыря и сердца лабораторных «чистых» мышей получено не было.

Количество ДНК туляремийного микроба в опытных образцах составило: №5 – 493 fg, №35 – 512 fg, №45 – 7,2 pg, №58 – 604fg, №117 – 1,2 pg, № 142 – 11,4 pg.

Таким образом, ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени обеспечивает высокую чувствительность и специфичность реакции и позволяет определять специфическую ДНК *F. tularensis* в общей суспензии органов животных в присутствии превосходящей во много раз мышинной ДНК.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Клинико-лабораторная оценка экспресс-метода выявления резистентных штаммов возбудителей одонтогенной инфекции

А.А.Лабазанов, А.А.Арутюнян, С.В.Трофимов,
А.Ю.Дробышев, В.Н.Царёв

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

Клиническая больница №1 ФГБУ (Волынская) Управления делами Президента РФ, г. Москва

Цель исследования. Совершенствование диагностики гнойно-воспалительных заболеваний челюстно-лицевой области и определения чувствительности микробных ассоциаций к

антибиотикам с помощью метода лазерной флуоресцентной спектроскопии гнойного экссудата воспалительного очага.

Материалы и методы. Проведено ретроспективное исследование данных обследования и лечения пациентов на базе клиник челюстно-лицевой хирургии г. Москвы (МГМСУ им. А.И.Евдокимова, ГКБ №1 ФГБУ (Волынская) Управления делами Президента РФ). Диагноз «K12.2 Флегмона и абсцесс области рта» по МКБ-10 поставлен 169 больным с гнойной инфекцией челюстно-лицевой области (мужчин – 56,5% и женщин – 43,5%) основного трудоспособного возраста от 20 до 60 лет. Выделение и идентификация микроорганизмов проведены с применением общепринятых принципов аэробного и анаэробного культивирования. Определение чувствительности к антибиотикам выполнено с использованием метода разведений в бульоне и запатентованного метода лазерной флуоресцентной спектроскопии (Александров М.Т. с соавт., 2009). Оценивали рост культуры сразу после добавления препарата к бактериальной взвеси, через 1 час, через 2 и 24 часа.

Результаты. По данным ретроспективного исследования охарактеризована структура микробиоты гнойной раны при одонтогенной инфекции. За период 2008–2018 гг. выделено и идентифицировано 198 штаммов микроорганизмов у 67,7% пациентов: у 57 больных (34,8%) – в монокультуре, у 54 больных (32,2%) характер микрофлоры носил ассоциативный характер (выделено 2–4 и более видов микроорганизмов). В 33% случаев результаты посевов отрицательны.

Преобладали представители облигатно-анаэробных неклостридиальных анаэробов (*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium necroforum*, *Tannerella forsythia*) и микроаэрофильных стрептококков (*Streptococcus sanguinis*, *S. mitis*, *S. intermedius*). Установлена частота выделения чувствительных и резистентных штаммов аэробных и анаэробных клинических изолятов.

Выводы. Экспериментально обосновано применение лазерной флуоресцентной спектроскопии как экспресс-метода для определения чувствительности микробной ассоциации гнойной раны к антибиотикам по результатам оценки мощности флуоресценции. По данным клинико-лабораторного исследования, доминирующей микробиотой являлись облигатно-анаэробные и микроаэрофильные бактерии с высокой частотой устойчивости к бета-лактамам антибиотикам (метициллин/оксациллин-резистентные) – 24,8%, а *Staphylococcus spp.* – до 60%.

Распространение гипервирулентных линий *Klebsiella pneumoniae*, нечувствительных к антибактериальным препаратам

А.И.Лев, Н.К.Фурсова, А.И.Борзилов, Е.И.Асташкин, Н.В.Воложанцев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Бактерии *K. pneumoniae* как в Российской Федерации, так и во всем мире являются актуальными госпитальными патогенами. Исследователями описаны «классические» и «ги-

первирулентные» эволюционные ветви клебсиелл: классические штаммы вызывают заболевание у лиц с ослабленным иммунитетом и часто характеризуются множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ); гипервирулентные штаммы способны вызвать тяжелые заболевания у людей с нормальным иммунитетом, часто чувствительны к антибактериальным препаратам (АБП). Появление нового варианта клебсиелл – гипервирулентных штаммов с МЛУ-фенотипом – отмечено в Аргентине, Китае, Франции и Южной Корее, что связано с приобретением штаммами гипервирулентных сиквенс-типов (ST) генов устойчивости к АБП (Cejas et al., 2014; Zhang et al., 2015; Surgers et al., 2016; Cheong et al., 2017). В Китае был описан случай приобретения «классическими» МЛУ-клебсиеллами ST111^{K47} плазмиды вирулентности pLVPK-типа (Gu et al., 2017).

Целью работы была экспериментальная проверка гипотезы о возможности формирования гипервирулентных мультирезистентных *K. pneumoniae* при конъюгативной передаче генетических детерминант антибиотикорезистентности.

В клетки высоковирулентного для мышей штамма *K. pneumoniae* KPM9 сиквенс-типа ST1544 (LD50 = 10 КОЕ) с помощью конъюгативного переноса плазмид и криотрансформации были переданы плазмиды, несущие гены бета-лактамаз (БЛ) – *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1}, *bla*_{OXA-48} и *bla*_{NDM-1}, из мультирезистентных штаммов *K. pneumoniae* KPB500 и KPB757K сиквенс-типа ST218 (LD50 > 106 КОЕ). Получены трансконоганы *K. pneumoniae* KPM9, которые приобрели гены *bla*_{OXA-244}, *bla*_{CTX-M-15} и *bla*_{TEM-1}, что обеспечило им устойчивость к цефтазидиму, цефтриаксону, цефепиму, эртапенему и имипенему. Трансконоганы, получившие ген *bla*_{OXA-244}, приобрели устойчивость к цефтриаксону, цефепиму и имипенему. Трансформанты *K. pneumoniae* KPM9, которым был передан ген эпидемической карбапенемазы *bla*_{NDM-1}, клонированный в векторе pET, приобрели устойчивость ко всем перечисленным выше бета-лактамам. Важным является факт, что во всех трех экспериментах не произошло существенного снижения вирулентности для мышей у штаммов-трансконогантов (24 и 18 КОЕ) и трансформантов (101 КОЕ) по сравнению с исходным реципиентным штаммом.

Таким образом, экспериментально продемонстрирована принципиальная возможность приобретения гипервирулентными клебсиеллами генов бета-лактамаз и экспрессии этих генов в клетках трансконогантов и трансформантов *K. pneumoniae* без значительного снижения степени вирулентности для лабораторных мышей. Полученные данные подтверждают опасения экспертов здравоохранения о реальной в настоящее время опасности формирования и распространения в госпитальных условиях гипервирулентных множественно лекарственно устойчивых штаммов *K. pneumoniae*.

Работа выполнена в рамках проекта РФФ Грант 15-15-00058-П.

Отбор и оценка эффективности пробиотических микроорганизмов против носительства сальмонелл у бройлеров

В.П.Левчук, Н.И.Лулева, В.В.Перельгин,
В.Д.Похиленко, Э.А.Светоч

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Одним из направлений в борьбе с патогенными микроорганизмами, альтернативным антибиотикам, является использование естественных антагонистов бактериальной природы. Бактериальные штаммы нормофлоры человека и животных, способные в процессе персистенции повышать устойчивость организма к инфицирующим агентам, не причиняя вреда носителю, принято считать пробиотиками. Нами выделены и идентифицированы штаммы пробиотических микроорганизмов, которые способны ингибировать опасные энтеробактерии.

Цель работы – оценка антагонистических свойств выбранных штаммов и синтезируемых ими метаболитов в опытах *in vitro* при совместном культивировании в колбах с патогенными энтеробактериями, а по их результатам и в опытах на бройлерной птице, инфицированной сальмонеллами.

Ингибирующее действие пробиотиков определяли в отношении штаммов *Salmonella Enteritidis* 92rif^r, *Salmonella Enteritidis* 237, *Salmonella Typhimurium* 490/60, *E. coli* O157:H7 Я-63, *E. coli* 3/6, *Klebsiella pneumoniae* 969R, *Morganella morganii* 156, *Yersinia enterocolitica* 03 Ленч. Для проведения экспериментов была необходима среда культивирования, на которой сравнительно хорошо росли бы штаммы пробиотиков (лактобациллы, энтерококки и бациллы), сальмонеллы и другие энтеробактерии. Оказалось, что этим целям соответствовал бруцелла-бульон (HiMedia, Индия). При оценке природы микробного антагонизма использовали среду MPC (HiMedia, Индия) и ГРМ-бульон (ГНЦ ПМБ, Россия) с добавлением дрожжевого экстракта (ДЭ) и глюкозы.

Все эксперименты проводили по общей схеме. В качалочные колбы на 0,75 л, содержащие по 0,1 л одной из питательных сред, инокулировали по 1 мл взвесей одного (контроль роста) или двух штаммов (опыт: пробиотик и сальмонелла). Колбы инкубировали в качалке при 37°C и 130 об./мин. в течение 24 часов. По окончании культивирования из каждой колбы асептически отбирали пробы культуральной жидкости (КЖ) для определения титра штаммов, оптической плотности, кислотности (рН) и делали высевы на чашки Петри с MPC-агаром и ГРМ-агаром (контроли). Посевы культивировали при 37°C в аэробных (чашки с ГРМ + ДЭ) или микроаэрофильных (чашки с MPC) условиях в течение 24 ч. По окончании учитывали число колониеобразующих единиц (КОЕ) и определяли титр (КОЕ/мл) каждого из штаммов. По завершению выращивания в КЖ определяли наличие бактериоцидной активности путем нанесения проб на свежезасеянные газоны тест-культур *Salmonella Enteritidis* 237 и *Listeria monocytogenes* 776. Посевы инкубировали при 37°C в аэробных условиях в течение суток. По наличию и диаметру зон подавления роста тестовых культур были сделаны заключения о природе фак-

торов антагонистической активности (органические кислоты, перекись водорода или бактериоцины).

Для определения бактериоцидной активности отобранных штаммов в отношении сальмонелл и других энтеробактерий были проведены эксперименты *in vitro* по совместному культивированию штаммов пробиотиков с патогенами. Наиболее эффективными штаммами, показавшими высокий уровень антагонистической активности против широкого ряда грамотрицательных и грамположительных тест-культур, оказались штаммы *Lactobacillus salivarius* 1090, *Lactobacillus plantarum* 1Kop1, *Enterococcus faecium* 760, *Enterococcus faecium* 1ПБЛ, *Paenibacillus polymyxa* В-37, *Bacillus subtilis* САВ2, а также *Saccharomyces cerevisiae* М-14 и ветеринарный препарат Субтилис-Ж. Эти штаммы были использованы в опытах на бройлерах, инфицированных *Salmonella Enteritidis* 92rif^r.

В результате проведенных экспериментов было показано, что самая высокая лечебная эффективность оказалась у штамма *Lactobacillus salivarius* 1090 (у 100% бройлеров сальмонеллы не обнаружены), несколько ниже (70%) у штаммов *Enterococcus faecium* 760, *Enterococcus faecium* 1ПБЛ (44%) и препарата Субтилис-Ж (30%). Не выявлена лечебная эффективность у штаммов *Lactobacillus plantarum* 1Kop1, *Paenibacillus polymyxa* В-37 и дрожжей М-14. Таким образом, в результате выполненных экспериментов было показано, что лишь некоторые штаммы пробиотиков, характеризующиеся высокой антагонистической активностью в опытах *in vitro*, способны элиминировать сальмонеллы из кишечника и паренхиматозных органов птицы.

Использование молекулярно-биологических методов для обоснования этиологической значимости *Escherichia coli* при диарейных заболеваниях

М.А.Макарова, З.Н.Матвеева, Л.А.Кафтырева

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

Обоснование этиологической значимости *E. coli* при острых кишечных заболеваниях (ОКЗ), даже при массивном выделении из проб биоматериала, является сложной задачей и требует применения комплекса методов и дополнительных критериев. Рутинная лабораторная диагностика, основанная на определении принадлежности *E. coli* к определенной О-серологической группе, не позволяет достоверно оценить этиологическую значимость штаммов при ОКЗ. Значительный прогресс в лабораторной диагностике эшерихиозов связан с внедрением в практику молекулярно-биологических методов, которые поддерживают и расширяют общепринятую классификацию патогенных *E. coli*. Достижения молекулярной биологии в разработке технологий тестирования генов, кодирующих факторы вирулентности, коренным образом изменили представления о том, что патогенность *E. coli* является атрибутом серологической группы. Установлено, что в пределах одной О-группы патогенными следует считать штаммы, имеющие конкретные

факторы вирулентности, что отличает их от сапрофитных изолятов *E. coli* микробиоты кишечника. Молекулярно-биологические методы расширяют аналитические и диагностические возможности, повышают чувствительность и достоверность диагностического исследования. Бактериологические исследования, традиционно считающиеся «золотым стандартом», позволяют выделять чистые культуры возбудителей, которые имеют важное значение при определении чувствительности к антибиотикам. Известно, что у диарейных *E. coli*, способных к широкому эпидемическому распространению, факторы патогенности и резистентность к антибиотикам генетически детерминированы, поэтому детекция кодирующих генов позволяет использовать их для тестирования клинических изолятов.

В связи с этим в практической работе бактериологических лабораторий следует широко использовать молекулярно-биологические методы для обоснования этиологической значимости штаммов *E. coli* определенных серологических групп как возбудителей ОКЗ. На российском рынке доступны отечественные тест-системы для рутинного проведения таких исследований.

Бесспорным является заключение о том, что микроорганизмы способны реализовать свой патогенный потенциал и вызвать патологические изменения в организме человека, ограниченные генетическими детерминантами, которыми обладает конкретный штамм. О клинической значимости *E. coli* при ОКЗ не следует судить по О- и Н-антигенам, так как патогенность не является видовым признаком и не всегда связана с конкретной серологической группой и с сероваром.

Энтерогеморрагические *Escherichia coli*, выделенные в 2010–2015 гг. от пациентов с диарейным синдромом

М.А.Макарова, З.Н.Матвеева, Л.А.Кафтырева

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Роспотребнадзор, г. Санкт-Петербург

Изучены 28 штаммов энтерогеморрагических *E. coli* (ЕНЕС), выделенных из проб испражнений пациентов детского возраста с гемоколитами. Выявление генов, кодирующих О- и Н-антигены (*rfb* и *flic*), синтез шигаподобных токсинов и фактор адгезии (*stx1*, *stx2*, *eae*), а также класс бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), проводили в мультиплексном формате ПЦР с электрофоретической детекцией. Продукцию токсинов подтверждали иммунохроматографическим методом в тесте RIDA Quick Verotoxin. Чувствительность к 17 антибиотикам определяли диско-диффузионным методом.

Коммерческими ОК и О-сыворотками определены О-группы: О26, О55, О111, О145, О157. Подтвержден серовар О26:Н11, О55:Н7, О111:Н8, О145:Н28, О157:Н7, О157:Н- в ПЦР; у всех штаммов выявлены гены, кодирующие продукцию шигаподобных токсинов и фактор адгезии (интимин), что позволило отнести эти штаммы к ЕНЕС. В иммунохроматографическом тесте у всех штаммов подтверждена продукция шигаподобных токсинов. Штаммы были устойчи-

вы к цефалоспорином расширенного спектра и хинолонам. Продукция БЛРС подтверждена методом двойных дисков и наличием генов, кодирующие БЛРС СТХ-М1.

Таким образом, установлено, что ЕНЕС О26, О55, О111, О145 и О157 вызывают диарейные заболевания у детей. Штаммы перечисленных серогрупп нередко вызывали групповые заболевания острыми кишечными инфекциями (ОКИ) в странах Европы, США и Японии. Факторами передачи служили разнообразные пищевые продукты животного и растительного происхождения. Такие штаммы не могут быть достоверно идентифицированы без детекции генов вирулентности. *E. coli* серогрупп О26, О55 и О111 в зависимости от характеристики факторов вирулентности могут относиться к двум патогруппам – энтеропатогенным (ЕРЕС) и энтерогеморрагическим (ЕНЕС). Как правило, они вызывают ОКИ у детей: энтериты (ЕРЕС) и гемоколиты (ЕНЕС). Согласно методическим указаниям по лабораторной диагностике заболеваний, вызываемых *E. coli*, продуцирующими шига-токсины, у штаммов, относящихся к серогруппам О26, О55 и О111, необходимо проводить последующую идентификацию на наличие генов или продукции токсинов с помощью ПЦР или иммунохроматографических тестов. При ранней этиологической диагностике ЕНЕС-ассоциированных гемоколитов возможна коррекция терапии пациентов для снижения риска развития тяжелых осложнений. Неполная лабораторная диагностика и, как следствие, неадекватная терапия ЕНЕС-инфекции нередко становятся причиной серьезных осложнений и летального исхода.

Применение иммобилизованных дрожжей для оптимизации процесса сбраживания светлого пивного суслу

Б.Мамарасулов¹, Д.Т.Мирзарахметова²

¹Наманганский государственный университет, г. Наманган, Узбекистан;

²Институт микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

Одной из основных проблем пивоваренной промышленности является совершенствование технологического процесса спиртового брожения в целях улучшения пролиферации дрожжевых клеток и получения тем самым питкого пива с гармоничным вкусом и высокой пеностойкостью. Целью данной работы была оптимизация процесса брожения путем двухступенчатого сбраживания суслу с использованием иммобилизованных дрожжей на второй ступени брожения. Поэтому процесс брожения был оптимизирован обработкой бродящей среды на второй ступени брожения иммобилизованными дрожжами. В работе были использованы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Первую ступень брожения проводили классическим способом путем сбраживания пивного суслу (12%) при 20°C до остаточных сахаров 5%. Далее бродящую среду направляли на вторую ступень брожения, представляющую собой биореактор с иммобилизованными на полиуретановых насадках дрожжами, где проводили до-сбраживание в лимитированных условиях.

Полученное сброженное суслу было проанализировано на содержание микропримесей. Качество полученного дис-

тиллята по физико-химическим показателям и дегустационным свойствам превосходило контрольный образец, который был получен из исходного пивного сусла двухступенчатым способом сбраживания без применения иммобилизованных дрожжей.

Полученные результаты могут найти свое применение в пищевой промышленности для совершенствования технологий получения сброженных материалов для производства дистиллятов для приготовления бренди, виски, ликероводочных изделий и т. д.). Предлагаемая технология открывает возможность оптимизировать и интенсифицировать процессы брожения, решить проблемы «недобродов» и улучшить дегустационные и физико-химические показатели сброженных материалов в производстве пива.

Оценка бактерицидного действия экспериментального лазерно-плазменного источника на планктонные культуры возбудителей нозокомиальных инфекций, циркулирующих в условиях отделений реанимации и интенсивной терапии

О.Ю.Манзенюк¹, М.Ю.Якимов², Н.Г.Соловьев², Т.Н.Мухина¹, В.В.Фирстова¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск;

²ФГБУН «Институт проблем механики им. А.Ю.Ишлинского» РАН, г. Москва

Одной из причин постоперационных осложнений с неблагоприятным исходом в отделениях реанимации и интенсивной терапии являются нозокомиальные инфекции, обусловленные патогенными антибиотикорезистентными микроорганизмами. В связи с этим актуальна разработка новых методов борьбы с внутрибольничными инфекциями. В наших экспериментах мы впервые применили экспериментальный прибор – лазерно-плазменный широкополосный источник излучения (ЛПИ-50) с пересекающимися лазерными лучами (ИПМех РАН) с оптоволоконным фильтром излучения коротковолнового УФ-С диапазона (230–280 нм).

Цель исследования: оценить бактерицидное воздействие плазменного разряда в диапазоне 220–1020 нм на суспензии планктонных культур *Staphylococcus aureus* MRSA B-7362, *Pseudomonas aeruginosa* 7373 (штамм выделен из бронхов больного, содержит ген *blaVIM-2*), *Pseudomonas aeruginosa* 7374 (штамм выделен из трахеи больного, содержит ген *blaVIM-2*), *Mycobacterium chelonae* (vs. *abscessus*) 395 (клинический изолят от больного, получен из ФГБНУ «ЦНИИТ») и определить минимальное время облучения биологических микрообъектов (суспензий клеток), при котором 99,9% микроорганизмов погибает.

Материалы и методы: объектом исследования являлись суспензии штаммов, приготовленные по оптическому стандарту мутности (5МЕ/10⁹ КОЕ/мл), в разведениях с шагом 10 до 10⁻⁶ в фосфатном буфере, которые вносили в лунки 96-луночного планшета по 100 мкл. Расстояние между объектом и плазмой было 160 мм. Оптоволоконный фильтр ра-

ботал таким образом, что в него попадало приблизительно 75% излучения ультрафиолетового бактерицидного диапазона 230–280 нм и около 25% более длинноволнового широкополосного излучения. Доза облучения 10 мДж/см². После облучения в течение 63 секунд из каждой лунки высевали по 100 мкл на чашку с плотной питательной средой ГРМ (опыт проводили в трех повторях). Параллельно готовили контрольные планшеты с суспензиями культур, которые не подвергались облучению. Подсчет колоний проводили ежедневно в течение 4 дней опыта.

Результаты. Облучение ЛПИ-50 в течение 63 секунд оказывало бактерицидное действие на суспензии планктонных культур золотистых стафилококков, синегнойной палочки и нетуберкулезных микобактерий. Максимальная концентрация патогенных микроорганизмов, при которой достигается бактерицидный эффект, составляла 107КОЕ/мл.

Таким образом, использование коротковолнового УФ-С диапазона может быть перспективным направлением борьбы с постоперационными инфекционными осложнениями.

Диссоциативные формы *B. anthracis*, выделенные из проб внешней среды

Л.И.Маринин, Р.И.Миронова, Н.А.Шишкова, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

В современных условиях в результате все увеличивающихся техногенных нагрузок и антропогенных воздействий на окружающую природную среду, повсеместного применения антибактериальных лечебных и дезинфицирующих средств, различного рода консервантов качественно изменилась экзогенная и эндогенная микрофлора, с которой человеческий организм постоянно контактирует, что отразилось на эволюции инфекционных болезней. Все это в полной мере относится и к возбудителю сибирской язвы. Непрерывное использование вакцин, широкое применение антибиотиков, перемены в промышленности и сельском хозяйстве изменили экологические факторы, что сказывается не только на выживаемости возбудителя сибирской язвы, но и на его свойствах.

Из почвы старых скотомогильников были выделены штаммы, резко отличающиеся от типичных сибирезвенных штаммов. Они образовывали крупные слизистые колонии на обычных питательных средах при обычных условиях выращивания. Почвенные штаммы были атипичными по ряду признаков, определяющих патогенность или связанных с ней, включая капсуло- и токсинообразование *in vitro*, дополнительные потребности в аминокислотах, плазмидный состав, вирулентность для лабораторных животных.

Вегетация в почве под воздействием абиотических и биотических факторов среды сопровождается гибелью значительной части популяции, а уцелевшие микробы в процессе длительного размножения диссоциируют. Диссоциативные процессы, являющиеся проявлением адаптационной изменчивости, затрагивают антигенную структуру, вирулентность и ряд других существенных признаков ми-

кроорганизма. При этом адаптационная изменчивость патогенных бактерий при переходе от паразитического существования к сапрофитному и наоборот имеет индивидуальный и популяционный характер. Индивидуальная изменчивость обусловлена генетическими и молекулярно-биологическими событиями в отдельной микробной клетке. Изменения признаков могут происходить с использованием имеющейся или приобретением новой генетической информации путем различных геномных перестроек или за счет внешних источников. Популяционная изменчивость возбудителя при смене среды обитания заключается в адаптивной перестройке всей внеорганизменной части популяции, в основе которой лежит ее гетерогенность. Селективные процессы в новой среде обитания смещают эту гетерогенность в адекватном направлении. В результате «самоперестройки» популяции в окружающей среде происходит постепенное изменение состава популяции и формируются слабо- и авирулентные штаммы. Длительное пребывание и вегетирование возбудителя сибирской язвы в почве при соответствующих условиях приводит к постепенным изменениям его культурально-морфологических, антигенных и прочих характеристик, а также к постепенной потере им вирулентности.

Мы провели анализ различных свойств 170 штаммов, выделенных из различных источников, находящихся в музейной коллекции ФБУН ГНЦ ПМБ. Оценивали культурально-морфологические свойства (характер роста на плотных и в жидкой питательных средах), способность образовывать капсулу в организме и на специальных питательных средах, вирулентность для белых мышей по показателю LD₅₀, а также плазмидный состав по ПЦР с соответствующими праймерами.

Исследования позволили выявить 22 штамма, отличающиеся по тому или иному признаку. Среди них наибольшее количество с атипичными свойствами составляли штаммы, выделенные из почвы. Выявлены отдельные атипичные штаммы, выделенные от больных людей и животных, характеризующиеся разным набором факторов патогенности.

При выращивании на плотных питательных средах культуры сибиреязвенных штаммов проявляют типичные культурально-морфологические признаки (характер роста, морфология колоний и клеток). Как правило, через 17–24 ч культивирования вырастают типичные колонии различной величины (1–5 мм), в основном крупные, сухие, серовато-матовые с серебристым оттенком, мелкозернистые, шероховатые, с плоской или слегка выпуклой поверхностью. Такие колонии обозначаются как R-форма (шероховатые). Под малым увеличением микроскопа колонии имеют ворсистую бахромчатую периферию, состоящую из сплетений длинных извитых нитей микробных палочек, отходящих от центральной части колонии. Свойство возбудителя образовывать на плотных питательных средах завитки (локоны) дало повод сравнивать колонии с головой мифической Медузы, локонами волос Венеры или лвиной гривой. Завитки локонов направлены к центру колонии. При сплошном росте на агаровой среде образуется серовато-белое наложение, по краям которого сохраняются локоны. Однако на агаровой среде вырастают белесоватые, гладкие колонии разных размеров, со сглаженной шероховатостью, ровным краем и другими

нехарактерными признаками. Были отмечены атипичные S-формы гладких колоний, переходные O-, OS-формы, а также промежуточные RRO-, RMS-, G-, Sm-, Rp- и Sp-варианты сибиреязвенного микроба.

Возбудитель сибирской язвы дает характерный рост при выращивании в жидких питательных средах. Бульон остается прозрачным или слегка опалесцирует, в нем плавают беловатые хлопья различной величины. Ни пленки, ни истинного пристеночного кольца в бульоне не образуется. Через 16–24 ч культивирования хлопья опускаются на дно и приобретают вид сеточки, нитей или хлопка (комка ваты). При встряхивании пробирок бульон не мутнеет, осадок разбивается на мелкие хлопья. В толще слоя бульона могут быть взвешенные в незначительном количестве хлопья растущей культуры. В то же время в 2–5% случаев у сибиреязвенных штаммов отмечались отклонения от типичного роста в бульоне. Наблюдалось равномерное помутнение бульона, образование пристеночного кольца и аморфного или трудно разбиваемого осадка.

При высеве культур штаммов на бикарбонатно-сыворочную среду вырастали одновременно слизистые и шероховатые колонии. Причем соотношение их у разных штаммов было неодинаковым. В основном вырастали крупные, выпуклые, блестящие, полупрозрачные, гладкие колонии слизистой (мукоидной) консистенции M (Mucoid)-, S-, или SM-формы. В падающем свете поверхность таких колоний гладкая, блестящая. Края округлые и ровные. Центр сферический, плавно переходящий в периферическую часть, структура однородная. В окрашенных мазках из этих колоний обнаруживали цепочки палочек, окруженных слоем капсульного вещества. Отдельные колонии плоские, шероховатые, серовато-матовые или белесоватые R-, RO-формы, не содержащие капсульных палочек.

Были отмечены различия между штаммами *B. anthracis* по вирулентности для лабораторных животных разных видов: белых и черных мышей (линии BALB/C, Braup и др.), морских свинок, хомяков, кроликов.

Указанные особенности культурально-морфологических свойств затрудняют первичный отбор колоний *B. anthracis* при исследовании проб по выявлению возбудителя сибирской язвы. Особенно это относится к исследованиям проб почвы.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Получение рекомбинантных белков E вируса клещевого энцефалита

**М.А.Марьин, М.В.Силкина, А.С.Пинчук,
Н.А.Зенинская, А.К.Рябко, Я.О.Мунтян,
Т.А.Иващенко, В.В.Фирстова, И.Г.Шемякин**

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
г.п. Оболенск*

Ежегодная регистрация случаев заболевания клещевым энцефалитом свидетельствует об эпидемиологической опасности инфекции, отсутствии специфического лечения и

угрозе здоровью заразившихся людей. Перспективной мишенью для нейтрализации вируса является белок E вирусной оболочки, состоящий из четырех доменов, три из которых (I–III) экспонированы наружу вириона. Белок E может быть использован для серодиагностики вируса клещевого энцефалита.

Целью работы было получение рекомбинантных эктодоменов белка E вируса клещевого энцефалита.

Материалы и методы. Оптимизированные последовательности ДНК, кодирующие I+II и III домена белка E, синтезировали *de novo* по аминокислотной последовательности полипротеина ВКЭ Q01299 (UniProtKB/Swiss-Prot) с учетом частоты использования кодонов в эукариотах и бактериях. Плазмидный вектор, содержащий нуклеотидную последовательность, кодирующую I+II домены, создали на основе плазмиды pcDNA 4, предназначенной для экспрессии в клетках эукариот. Перед целевой нуклеотидной последовательностью дополнительно ввели Козак-последовательность и кодоны лидерной последовательности «secresop». Полученную плазмиду трансфицировали в клетки HEK293T, селекцию клонов проводили по зеоцину. Полученный рекомбинантный белок очищали металл-хелатной хроматографией. Аминокислотную последовательность III домена химеризовали с пептидом SUMO с гексагистидином на N-конце. Экспрессирующий вектор получили путем встраивания последовательности ДНК-фрагмента в вектор pET SUMO (Invitrogen) методом ТА-клонирования. Штамм *E. coli* B121(DE3) электропорировали полученной плазмидой, наращивали биомассу в жидкой среде LB с ампициллином и глюкозой, а синтез белка индуцировали добавлением ИПТГ. Рекомбинантный белок извлекали из периплазматического пространства бактерий детергентным лизисом. Полученный лизат пропускали через металл-хелатную хроматографическую колонку, элюировали имидазолом и диализовали, затем обрабатывали протеазой ULP1 и повторно пропускали через ту же колонку. Проскок содержал очищенный III домен без SUMO-пептида.

Результаты. Разработанные методы экспрессии позволили получить очищенные рекомбинантные домены белка E с высоким выходом: 50–100 мг/л культуральной жидкости для I+II домена и 3–4 мг/л для III домена. Сыворотки людей, переболевших клещевым энцефалитом, дали положительный результат в иммуноблоттинге с рекомбинантными антигенами белка E вируса клещевого энцефалита, что подтвердило возможность их использования для проведения серологических исследований.

Работа выполнена в рамках ГК 9Д по Федеральной целевой программе.

Химерное антитело 14D5 эффективно защищает модельных животных от различных субтипов вируса клещевого энцефалита

А.Э.Матвеев¹, И.В.Козлова², Е.К.Дорощенко², О.В.Лисак², Я.А.Хлусевич¹, Л.А.Емельянова¹, О.В.Сунцова², Ю.С.Савинова², И.К.Байков¹, Н.В.Тикунова¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск;

²ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАН, г. Иркутск

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), представитель семейства *Flaviviridae*, является этиологическим агентом одной из наиболее грозных нейроинфекций. На территории РФ в основном встречаются штаммы, принадлежащие к трем субтипам ВКЭ – Дальневосточному, Сибирскому и Западному. В настоящее время для экстренной профилактики и терапии клещевого энцефалита применяют сывороточный иммуноглобулин, получаемый из крови доноров, проживающих в природных очагах этого заболевания. Этот препарат обладает терапевтическим эффектом, особенно при введении на 1–2-й день после укуса клеща. Вместе с тем препарат имеет определенные недостатки, как и все препараты на основе донорской крови.

Для создания альтернативного препарата было сконструировано химерное антитело 14D5 против гликопротеина E ВКЭ. Антитело получали на основе вариабельных доменов вируснейтрализующего моноклонального антитела и константных доменов IgG1/каппа человека. Аффинность созданного антитела к белку E ВКЭ составила $2,6 \times 10^{10}$ M⁻¹; индекс нейтрализации (IC₅₀) в экспериментах *in vitro* – 0,043 мкг/мл; степень гуманизации – 98,2%. На основе суспензионной культуры эукариотических клеток был создан стабильный штамм-продуцент; оптимизированы способы очистки антитела, подтверждена правильность его структуры.

Ранее было показано, что антитело 14D5 в дозировках 10–100 мкг/мышь способно эффективно защищать мышей от введения сотен летальных доз штамма Абсеттаров, принадлежащего к Европейскому субтипу ВКЭ. Для подтверждения универсальности противовирусных свойств антитела 14D5 в отношении других субтипов ВКЭ, распространенных на территории РФ, была проверена его способность защищать мышей, инфицированных штаммами из Дальневосточного и Сибирского субтипов ВКЭ. Для этого мышей BALB/c внутрибрюшинно инфицировали ВКЭ Софьин и ВКЭ Васильченко в дозе ~250 РЛД₅₀ для каждого и исследовали противовирусные свойства антитела 14D5 в реакции экстренной профилактики клещевого энцефалита. При этом оценивали выживаемость, средний период полужизни и вес подопытных животных. В этой же модели анализировали терапевтические свойства антитела 14D5 при введении через 2 и 3 дня после инфицирования. В результате было показано, что защитные свойства антитела 14D5 в модели клещевого энцефалита *in vivo* в отношении штаммов, принадлежащих к Дальневосточному, Сибирскому и Западному субтипам ВКЭ, высоки и различаются незначительно, и, следовательно, химерное антитело 14D5 является широконейтрализующим.

Работа выполнялась по проекту РНФ 16-14-00083.

Изучение антибактериальных свойств зубных паст и жидких средств для гигиены полости рта

Д.И.Махсудова, В.Ю.Плешков, С.Н.Батурлина

ФГБ ОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», г. Омск

Реальность современной косметической промышленности такова, что большинство производимых продуктов являются необходимыми для жизнедеятельности человека и в то же время по своему составу могут оказывать негативное воздействие на здоровье населения.

Производство зубных паст нормируется Российским ГОСТ 7983-99 и Международным стандартом TS EN ISO 11 609-2010, а производство ополаскивателей для полости рта нормируется Российским ГОСТ Р 51577-2000, ТР ТС – 009-2011.

В результате анкетирования студентов Омского государственного медицинского университета было установлено, что студенты отдают предпочтение следующим косметическим и гигиеническим средствам по уходу за полостью рта: зубным пастам «Colgate» – 41,67%; «Splat» – 23,96%; «Parodontax» – 9,38%; ополаскивателям «Лесной бальзам» – 36,1%; «Listerin» – 31,6%; «Colgate Plax» – 15,3%.

В ходе исследований проводилось выделение нормофлоры из полости рта студентов. Выделение чистых культур и их идентификацию проводили по общепринятым методикам.

Антибактериальные компоненты ополаскивателей для полости рта представлены цетилпиридиния хлоридом, карбамидом, имидазолидинилом мочевины. Профилактические зубные пасты содержат антибиотики, фтористые компоненты (монофторфосфат натрия, фторид натрия), экстракты растений ромашки, облепихи (масло), эфирные масла шалфея и прополис и другие вещества, ингибирующие микрофлору.

В результате исследований установлено, что наибольшим антибактериальным действием на культуры, выделенные от студентов, и на тест-культуры *E. coli*, *S. aureus*, *S. viridans* обладали зубные пасты «Parodontax» (d = 31 мм), «Sensodyne» (d = 19 мм), «Splat» (d = 18 мм) и ополаскиватели для полости рта «Glister» (d = 29/28мм); «Лесной бальзам» (d = 22/22 мм), «Colgate Plax» (d = 22/20 мм), «Таежные рецепты» (d = 18/18 мм).

Заключение. Микрофлора ротовой полости у студентов была представлена в основном стрептококками, вейлонеллами, лактобактериями, коринебактериями, микрококками, псевдомонадами, стафилококками, энтеробактериями, нейссериями, энтерококками.

Студенты ОмГМУ чаще используют зубные пасты брендов «Colgate», «Splat», «Parodontax» и ополаскиватели торговых марок «Лесной бальзам», «Listerin», «Colgate Plax».

В соответствии с полученными результатами стоит отдавать предпочтение пастам «Parodontax» и «Sensodyne» и

ополаскивателям для полости рта «Glister», «Лесной бальзам» ввиду их высокого ингибирующего действия на микрофлору.

Биотрансформация нитрила акриловой кислоты клетками штамма *Rhodococcus ruber-8/4/1*, иммобилизованными в структуре геля агарозы

А.А.Махсумханов, Б.Х.Алимова, О.М.Пулатова, М.И.Камбаралиева, М.Р.Шарифов, Ш.А.Ташбаев, Ф.Б.Эгамбердиев

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г.Ташкент, Узбекистан

Перспективными объектами биотехнологии при получении амидов из соответствующих нитрилов являются нитрил конвертирующие микроорганизмы. Ранее нами был выделен штамм бактерии *Rhodococcus ruber-8/4/1* – продуцент нитрилгидратазы. Как известно, эффективность процесса биотрансформации может быть повышена иммобилизацией клеток бактерий, которая позволит стабилизировать ферментативную активность, повысить устойчивость клеток к токсическим субстратам или продуктам реакции и обеспечить возможность более длительного использования биокатализатора по сравнению со свободными клетками, увеличивая тем самым выход конечного продукта. В связи с этим целью данного исследования явилось изучение процесса биотрансформации нитрила акриловой кислоты (НАК) иммобилизованными в структуру агарозного геля клетками *Rhodococcus ruber-8/4/1*, обладающими нитрилгидратазной активностью. Сохранение нитрилгидратазной активности клеток после включения в структуру агарозного геля определяли по образованию акриламида из НАК в реакционной среде за 20 мин биотрансформации. Включение клеток в структуру агарозного геля проводили в концентрации агарозного геля от 0,5 до 3,0%. Установлено, что оптимальная концентрация агарозного геля составила 0,8%. Это позволило получить достаточно стабильный биокатализатор, так как практически не происходило потерь клеток из матрицы геля. Следует отметить, что нитрилгидратазная активность клеток после иммобилизации упала в 2,0–2,5 раза, тогда как при концентрации агарозного геля 0,5% – в 4 раза, а при 3,0% – в 7 раз. Определили зависимость нитрилгидратазной активности иммобилизованных клеток от количества НАК, который вносили в реакционную среду в концентрации от 0,3 до 7,0%. Показано, что при концентрации субстрата 4,0% активность иммобилизованных клеток достигает значений исходной активности суспензии осажденных из культуральной жидкости клеток. При проведении повторных циклов конверсии НАК нитрилгидратазная активность сохранялась в течении 5 циклов, далее наблюдалось снижение активности.

Оптимизация состава легионелбакагара для проведения санитарно-бактериологических исследований

Т.П.Морозова, Л.В.Домотенко,
И.П.Мицевич, А.П.Шепелин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
г.п. Оболensk

Высокие адаптивные способности легионелл позволяют им успешно колонизировать искусственные водные системы: системы охлаждения и кондиционирования, градирни, компрессорные устройства, бассейны, фонтаны и др. В настоящее время известно около 50 видов легионелл различных серогрупп, преимущественно выделенных из объектов окружающей среды. Из них наиболее патогенными являются представители I серогруппы. Для выделения легионелл используют коммерческие питательные среды различных фирм производителей: Legionella BCYE Agar Base (BD), Legionella (GVPN) Selectavial (Mast Group), Legionella Agar Base (HiMedia) с ростовыми и селективными добавками, а также среду лабораторного приготовления БУДРАГ (МУ 4.2. 2217-07).

В нашем центре разработана и ранее выпускалась питательная среда – Легионелбакагар, предназначенная для культивирования легионелл. Отсутствие селективной добавки ограничивало использование данной питательной среды.

Цель работы – оптимизировать состав Легионелбакагара для проведения санитарно-бактериологических исследований и испытать ее на расширенном наборе музейных штаммов и штаммов легионелл, выделенных из объектов внешней среды.

Материалы и методы. В процессе оптимизации использовали белковые гидролизаты производства ФБУН ГНЦ ПМБ. В качестве контрольной среды – среда Legionella BCYE Agar Base (BD) с селективной добавкой и без нее.

Испытание проводили с использованием 6 референс-штаммов различных серогрупп: *Legionella pneumophila* ATCC 33152, ATCC 33155, ATCC 33156, ATCC 33215, *Legionella micdadei* NCTC 11371, *Legionella longbeachae* ATCC 33462, а также 9 штаммов *Legionella pneumophila*, выделенных из объектов внешней среды – 5 штаммов из Сочи (душевые рожки системы горячего водоснабжения, температура воды от 41 до 60°C), 2 штамма из Ростова-на-Дону (вода из градирни), 1 штамм из Санкт-Петербурга (душ в отеле, система горячего водоснабжения, температура воды 48°C) и 1 штамм из Хабаровска (секционный материал). Исследуемые штаммы относились к серогруппе 1 ($n = 8$) и к серогруппам 2–14 ($n = 7$).

Серотипирование проводили методом латексной агглютинации с помощью «Набора реагентов для быстрой идентификации *L. pneumophila* в реакции латекс-агглютинации, жидкого (Латексная тест-система *L. pneumophila* серотип 1)» производства ГНЦ ПМБ, Рег. № РЗН 2013/1278.

Испытание питательной среды проводили в соответствии с требованиями МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред».

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований оптимизирован состав основы легионелбака-

гара за счет введения пиррофосфата железа и изменения концентраций ингредиентов. Основа среды включает кислотный гидролизат рыбной муки, стимулятор роста гемофильных микроорганизмов, экстракт пекарных дрожжей, пиррофосфат железа, уголь активированный, агар. В качестве ростовой добавки используется цистеин. Разработан состав селективной добавки для подавления роста микробов-контаминантов при выделении и культивирования легионелл из объектов внешней среды и клинических образцов, включающий ванкомицин, полимиксин и амфотеррицин.

Среда оптимизированного состава проста в изготовлении и не требует корректировки pH в отличие от контрольной среды.

В ходе дальнейших испытаний показано, что тестируемая среда без селективной добавки обеспечивала рост всех посеянных штаммов через 68–72 ч инкубации посевов. На селективном варианте среды рост культур легионелл отмечался на 72–96 ч инкубирования посевов и наблюдалось подавление роста псевдомонад, эшерихий, стафилококков, грибов и др. Колонии всех штаммов имели типичную морфологию: плоско-выпуклые, гладкие, серовато-голубые. Аналогичные результаты были получены и на контрольной среде. Для подтверждения стабильности серологических свойств выросших культур легионелл на среде оптимизированного состава проведено серотипирование методом латексной агглютинации. Показано, что в процессе инкубации сохраняются серологические свойства легионелл как на среде без селективной добавки, так и на среде с селективной добавкой

Выводы. Оптимизированный состав Легионелбакагара обладает хорошими ростовыми и селективными свойствами и может быть использован для выделения легионелл при проведении санитарно-бактериологических исследований.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Влияние новых питательных сред на ростовую активность солеустойчивых ризобактерий хлопчатника

Х.С.Нарбаева, Г. И.Джуманиязова

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

Питательная среда для культивирования бактерий должна обеспечивать не только хорошее количество жизнеспособных клеток, но и высокую степень спорных клеток (85–95%). Поэтому подбор оптимальных питательных сред на основе легкодоступных и дешевых компонентов, которые могли бы поддержать высокую степень как жизнеспособных, так и спорных клеток, является весьма актуальной задачей.

Ранее нами из ризосферы хлопчатника были выделены и в результате скрининга отобраны 4 активных штамма ризобактерий хлопчатника, одновременно обладающих следующими свойствами: солеустойчивость к 15–20%-м токсичным хлоридным и сульфатным солям, фосформобилизующая активность (растворение трикальцийфосфата и минерализация фитина), деструктивная активность по отношению

к хлорорганическим (ГХЦГ и ПХБ) пестицидам, корнеобразующая и ростостимулирующая активности.

В связи с этим целью исследований было изучение влияния новых питательных сред на ростовую активность солеустойчивых ризобактерий хлопчатника с полифункциональными свойствами. В лабораторных условиях было изучено влияние новых питательных сред на основе водных экстрактов биокомпоста (ВЭБК) и птичьего помета (ВЭПП) на динамику роста жизнеспособных и спорных клеток ризобактерий, изменение рН питательных сред. Контрольными средами служили стандартные питательные среды: пептонная вода с глюкозой и NaCl (ПВ) и стандартная питательная среда с кукурузным экстрактом для фосфоробактерий (КЭ). Определяли численность ризобактерий в динамике глубокого культивирования, количество спор и изменение рН среды.

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что на среде ВЭПП монокультуры ризобактерий показали хорошую ростовую и спорообразующую активности, значение рН питательной среды закономерно снижалось, что свидетельствует о сохранности кислотообразующих свойств ризобактерий на новой питательной среде. На среде ВЭБК штаммы ризобактерий также показали хорошую ростовую и спорообразующую активности, снижение рН питательной среды. Таким образом, новые питательные среды на основе водных экстрактов птичьего помета и биокомпоста не уступают стандартным питательным средам ПВ и КЭ и могут быть рекомендованы для промышленного культивирования изученных ризобактерий хлопчатника с полифункциональными свойствами при производстве биопрепарата комплексного действия на их основе.

Биотехнология получения статинов на основе местного штамма *Aspergillus terreus-20*

С.М.Насметова, Г.Б.Саттарова

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

Статины представляют собой группу органических веществ, снижающих уровень эндогенного холестерина в организме человека. Они чрезвычайно востребованы как эффективное средство против гиперхолестеринемии. Эта способность связана со свойством статинов конкурентно ингибировать 3-гидроксиметил глутарил Со-А редуктазу, отвечающую за трансформацию 3-НМГ-СоА в мевалонат. Коммерческое производство ловастатина основано на ферментации *A. terreus*, и большинство литературных данных связано с этим видом. Целью исследования являлось изучение продукции ловастатина местным штаммом *A. terreus-20*, отобранным в результате скрининга 30 почвенных изолятов *A. terreus*.

Методом ТСХ и масс-спектрального анализа показано, что в состав метаболитов статиновой природы, синтезируемых *A. terreus-20*, кроме трех форм ловастатина – лактона, гидроксикислоты и ее соли, входят также правастатин и монаколин J. Впервые показана способность штамма

A. terreus-20 продуцировать симвастатин, что позволило выявить потенциальную возможность синтеза симвастатина прямой ферментацией культуры.

Оптимизированы питательные среды и условия глубокого и твердофазного культивирования, выделения и очистки статинов. В результате удалось повысить уровень продукции ловастатина глубинным культивированием до 640 мг/л и твердофазной ферментацией до 9,7 мг/г сухого субстрата. Разработано 2 модифицированных способа очистки статинов методом ТФФ *A. terreus 20*, при котором наряду с ловастатином происходит выделение симвастатина. Суммарный конечный выход суммы статинов составил 2 г из 1 кг субстрата, с содержанием более 80 и 60 весовых % по ловастатину и симвастатину соответственно (вес/вес; W/W) и чистотой более 90%.

Исследования токсикологической и гипополипидемической активности полученного препарата на двух моделях животных показало сходную активность с референс-препаратом ловастатина по триглицеридам и холестерину. Показано отсутствие токсического действия препарата *in vivo* на крысах.

На основании полученных данных можно заключить, что отобранный нами местный штамм *A. terreus-20* обладает высокой статин-синтезирующей активностью и является перспективным для получения генерического препарата ловастатина для профилактики и лечения гиперлипидемии.

Фундаментальное понимание природы инфекций и дальнейшее развитие санитарной и клинической микробиологии

Д.В.Николаенко

Журнал «Энвайронментальная эпидемиология», г. Киев, Украина

Не может быть продвижения в развитии санитарной и клинической микробиологии без обсуждения фундаментальных вопросов. Провалы в их понимании ведут к потерям целых блоков информации.

Пример 1. Информация природы часто не регистрируется в доминирующей парадигме. Она определяется как незначимая. Нет корректного исследования почвенных сред в районах вспышек туляремии. В итоге теряется ключевая информация по активизации *Francisella tularensis*. Феномен очередной вспышки массовой заболеваемости остается категорически непонятным.

Пример 2. Игнорируются исключительно ценные массивы информации, собранные экспертами с позиций других парадигм. Шокирующая история – массив информации по сибирской язве, собранный в Российской империи. Начиная с 1860-х годов имела место беспрецедентная манифестация инфекционных заболеваний. Ее причинами были: а) вовлечение в освоение новых территорий империи (первая вспашка земли часто дает активизацию *Bacillus anthracis*) и б) естественные перемены в природе.

Научной новинкой является инфекционная экология. Развитие направления связано с категорическим уходом от антропоцентризма современной эпидемиологии. Инфекция понимается как дискретное свойство экологической системы

микроорганизмов. Используется понятие EGS (эпигеосистема). Введены новые таксономические единицы исследования процесса дискретной активизации патогенных свойств микроорганизмов. Не используется понятие «биологический вид-резервуар». Их нет. «Виды-резервуары» выступают лишь в качестве первой жертвы. Вводится различие понятий «инфекция», «инфекционный процесс» и «инфекционное заболевание». Дано новое понимание вирулентности. Специфика вирулентности, проявления патогенных свойств зависит от микроэлементного стресса и специфики дисбаланса в EGS. Вопрос может быть детально описан на основании panogeoscience (NGS). Много неясного, но само направление сомнений не вызывает. Дано теоретически последовательное объяснение ряда инфекционных заболеваний с позиций инфекционной экологии (Эбола, туляремия и некоторые другие). Новый подход важен в связи с переменами климата.

Продвижение в санитарной и клинической микробиологии может иметь место только при условии понимания и систематического исследования дискретной активизации патогенных свойств микроорганизмов. Это вариативная адаптивная реакция, возникающая в EGS.

Влияние импульсного электромагнитного поля на выход этанола при сбраживании темного пивного сусла

Ф.Норматов, Д.Мирзарахметова

Институт микробиологии АН РУз, г. Ташкент, Узбекистан

В Узбекистане имеется высокая потребность в разработке новых видов сортового высокоэкстрактивного пива и в увеличении их ассортимента. Это связано с тем, что дегустационные показатели темного пива получаются недостаточно высокими: интенсивность цвета зачастую напрямую связана с повышенной горечью. Поэтому в настоящее время совершенствование биотехнологии получения темного высокоэкстрактивного сортового пива с невысокой горечью очень актуальна. Целью данной работы была оптимизация процесса сбраживания темного высокоэкстрактивного пивного сусла путем использования импульсного электромагнитного поля. Для ее достижения было изучено влияние низкочастотного импульсного электромагнитного поля при сбраживании темного высокоэкстрактивного пивного сусла и технология получения сортового темного пива.

Засып включал несоложенный материал: овсяные хлопья и жареный овес (15%). Для получения зернового сусла партию светлого солода (20%), темный солод и несоложенный материал загружали в заторный аппарат и заливали водой с температурой 64–68°C из расчета 4 кг/кг солода для подготовки сырья в течение 60 мин. Затем добавляли остальную часть светлого солода и проводили осахаривание крахмала по следующей схеме: 50°C (60 мин), 62°C (30 мин), 72°C (30 мин), 75°C (15 мин). В работе были использованы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Брожение проводили при обработке импульсным электромагнитным полем (частота 4 Гц, мощность 1 мкВт), используя в качестве питательной среды темное пивное сусло (16%). Результаты показали, что дрожжи показали лучшие результаты при проведении про-

цесса брожения под действием импульсного электромагнитного поля. Приготовленное пиво имело цветность, соответствующую стандарту для темного пива, крепость пива 5,8 об.% алкоголя, питкое с мягким и полным вкусом и кофейными нотками. Пена была мягкая, мелкозернистая, плотная, стойкая.

Полученные результаты могут найти свое применение в пищевой промышленности для совершенствования технологии приготовления темного пива, регулирования профиля летучих компонентов и расширения ассортимента пива и других продуктов бродительных производств.

Территориальные особенности бруцеллезной инфекции в отдельных регионах Сибирского федерального округа

А.Х.Нурпейсова^{1,2}, Ю.А.Пневский³, А.А.Сарыглар⁴, Ч.Б.Ондар⁴, Д.А.Донгак⁴, Б.К.Ондар⁴

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск;

²ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск;

³Управление Роспотребнадзора по Омской области, г. Омск;

⁴ГБУЗ республики Тыва «Инфекционная больница», г. Кызыл

Территориальные особенности отдельных регионов Сибирского федерального округа сказываются на проявлениях бруцеллезной инфекции в них. Ярким примером служат Республика Тыва и Омская область.

В сельском хозяйстве Тывы животноводство (овцеводство и скотоводство) более развито, чем растениеводство. Эпизоотии животных обусловлены в основном *B. melitensis*, которая вызывает у людей острое течение бруцеллеза. В период 2010–2017 гг. было зарегистрировано 136 случаев впервые выявленного бруцеллеза, из них: 92 острого; 42 хронического; 2 подострого. Заболели преимущественно владельцы частных хозяйств.

Республика Тыва – это часть Восточно-Сибирского экономического района. Около половины протяженности административной границы республики совпадает с линией государственной границы РФ с Монголией, где ситуация по бруцеллезу еще более критична.

Основными отраслями сельского хозяйства Омской области являются растениеводство, молочно-мясное животноводство, свиноводство и птицеводство. По данным статистических материалов, в регионе за период 2010–2017 гг. зарегистрировано 42 случая впервые выявленного бруцеллеза у людей, из них: 23 хронического; 10 резидуального; 7 острого; 1 подострого; 1 латентного. Более чем у 80% больных была выявлена связь с профессиональной деятельностью. Обращают на себя внимание существенное превышение хронического бруцеллеза над другими вариантами инфекции, особенно при спорадической заболеваемости, и вид циркулирующего возбудителя на территории области – *B. abortus*.

Омская область входит в состав Западно-Сибирского экономического района, на юге граничит с Республикой Казахстан, где более неблагоприятная ситуация по бруцеллезу.

Либерализация формирования и наполнения продовольственного рынка РФ, межгосударственных потоков продуктов животного происхождения способствует увеличению степени эпизоотического и эпидемического риска в стране и в регионах СФО. При этом эпизоотическое состояние как Омской области, так и республики Тыва формируется под давлением неблагоприятной обстановки на прилегающих территориях.

Пробиотики из микроорганизмов: микробиология, биотехнология и практическое использование

Д.К.Огай¹, Ш.М.Миралимова²

¹ООО «ОРОМ-БИОПРЕПАРАТ», г. Ташкент, Узбекистан;

²Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В Узбекистане опасными для здоровья человека, особенно детей, являются такие факторы окружающей среды, как пестициды, гербициды, перенасыщенность продуктов питания азотистыми соединениями, высокое содержание солей тяжелых металлов в воде, почве и др. У детей младенческого возраста диарейное заболевание является основной причиной смертности.

С 70-х годов прошлого столетия были начаты фундаментальные исследования молочнокислых бактерий, распространенных в условиях жаркого климата Узбекистана.

Высокая температура и специфические экологические условия окружающей среды, как показали экспериментальные исследования, оказали существенное влияние на культурально-морфологическое, физиолого-биохимические, генетические и технологические свойства местных штаммов. Отбор штаммов по производственно-ценным свойствам позволил создать не только коллекцию уникальных местных штаммов, МКБ, но и разработать целую серию пробиотиков (Ором-1, Ором-2, Ором-3, Шубат, Бифидобактерин КМ и Бифидобактерин М), успешно применяемых и по сей день для диетического питания людей с различной патологией желудочно-кишечного тракта.

Созданы лечебно-профилактические сухие препараты Лактобактерин Ором, Бифидобактерин PL, Колибактерин, Бификол, Бактоспорулин, которые вырабатываются на ООО «ОРОМ-БИОПРЕПАРАТ» и реализуются на рынке Узбекистана. Показана высокая эффективность препаратов при лечении диарейных и инфекционных заболеваний.

Из возбудителей кишечных заболеваний наибольший интерес вызывает *Helicobacter pylori*. Тщательный скрининг имеющихся культур молочнокислых и бифидобактерий позволил выделить небольшое число штаммов, подавляющих рост и развитие клинических штаммов *H. pylori*. В опытах *in vitro* показано, что один штамм *Lactobacillus rhamnosus* 925 ак способен подавлять рост и развитие кишечных штаммов *H. pylori*. В опытах *in vivo* показано, что культура способна к эрадикации *H. pylori* SS1 в желудке гнотобиоти-

ческих мышей при превентивном однократном введении *L. rhamnosus* 925 ак. Выявлено, что как бактериоциногенные, так и не бактериоциногенные штаммы *L. rhamnosus* способны устранять воспалительные процессы в слизистой оболочке желудка инфицированных хеликобактером специальных беспатогенных мышей. Приняты к производству новые биопрепараты Лактопропионикс и Лактопрополис.

Оценка патогенного потенциала *Escherichia coli* молекулярно-биологическим методом

Е.А.Оришак¹, К.Г.Косякова^{1,2}, Л.Ю.Нилова¹, А.П.Листопадова³, В.П.Новикова³, О.А.Каменова², Г.С.Мельникова²

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

²СПб ГБУЗ «Детская городская больница №22», г. Санкт-Петербург;

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», г. Санкт-Петербург

Escherichia coli описана в литературе как представитель нормобиоты кишечника и возбудитель инфекций различной локализации. Серотипирование эшерихий не всегда позволяет выявлять патовары, поэтому в практических лабораториях все больше внимания уделяется молекулярно-биологическим методам доказательства патогенности *E. coli*.

Цель работы – проанализировать частоту обнаружения патогенных эшерихий путем детекции генов, кодирующих факторы патогенности, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Материалы и методы. Протестировано 48 штаммов *E. coli*, выделенных от детей в возрасте от 3 до 18 лет с патологическими состояниями: 22 – с хроническим гастроудоденитом (ХГД), 19 – с атопическим дерматитом и ХГД, 7 – с бронхиальной астмой и ХГД. Из суточных культур *E. coli* готовили суспензию в 200 мл ТЕ и выделяли тотальную ДНК с помощью комплекта реагентов «Рибо преп» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Детекцию генов, кодирующих факторы патогенности *E. coli* (*eaeA*, *bfpA*, *stx1*, *stx2*, *east1*, *aggA*, *st1*, *lt*, *afa*, *ipaH*, *ial*, *cnf1*, *chuA*), проводили методом ПЦР-РВ по программе амплификации в соответствии с рекомендациями производителя комплекта реагентов (BioBeagle, Россия) на анализаторе CFX 96 (BioRad, США).

Результаты. У всех пациентов с ХГД в качестве моно- или сочетанной патологии на фоне изменений в микробиоте кишечника 2-й, 3-й степени были выявлены патогенные *E. coli*: при хроническом гастроудодените – 7 из 22 протестированных (с генами *eaeA*, *bfpA*, *aggA*, *afa*, *chuA*), при атопическом дерматите – 3 из 19 (с генами *eaeA*, *bfpA*, *aggA*, *east1*). Среди штаммов от детей с бронхиальной астмой патогенных эшерихий выявлено не было. Известно, что гены *eaeA*, *bfpA* кодируют продукцию интимина и пилей для прикрепления к энтероцитам (патотип ЕРЕС), гены *east1*, *aggA* кодируют синтез термостабильного энтеротоксина и отвечают за прикрепление пилей I типа к клеткам (патотип EAgEC), ген *afa*

определяет продукцию афимбриальных адгезинов (патотип DAEC), ген *chuA*, кодирующий синтез белка-переносчика гема, согласно литературным данным, обнаруживается у 68–84% штаммов *E. coli*, выделенных от пациентов с болезнью Крона.

Заключение. Широкое внедрение в диагностическую практику детекции генов факторов патогенности *E. coli* представляется целесообразным элементом бактериологических исследований для оценки этиологической значимости эшерихий, а также для определения их вероятной роли в манифестации заболеваний, инфекционная составляющая которых остается малоизученной до настоящего времени.

Дифференциация штаммов *Francisella tularensis* с использованием экспериментальных мышей, иммунизированных кислотонерастворимым комплексом туляремийного микроба

В.М.Павлов, Т.И.Комбарова, Р.И.Миронова, Г.М.Вахрамеева, А.Н.Мокриевич

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Бактерии *Francisella tularensis*, возбудители туляремии, в зависимости от географического происхождения способны вызывать разной степени тяжести инфекционный процесс у людей и чувствительных животных. Принято подразделять вид *F. tularensis* на четыре подвида, которые отличаются друг от друга по биологическим, биохимическим и генетическим показателям. Природные изоляты и вакцинный штамм 15 НИИЭГ туляремийного микроба вирулентны для экспериментальных мышей. Иммунизация мышей линии BALB/c кислотонерастворимым комплексом туляремийного микроба (КНК) позволила использовать их для дифференциации вирулентных природных штаммов от вакцинного штамма и природных штаммов, потерявших ключевые компоненты патогенности или факторы, влияющие на их экспрессию. Так, удаление гена *recD* в геноме природных штаммов *F. tularensis* приводило к значительному снижению вирулентности бактерий как для морских свинок ($LD_{50} > 10^6$ КОЕ), так и для иммунизированных КНК мышей ($LD_{50} > 10^3$ КОЕ). Эти мыши были также нечувствительны к подкожному заражению штаммом 15 НИИЭГ в дозах до 10^6 КОЕ. Такая мышечная модель может быть использована как для оценки вирулентности природных изолятов *F. tularensis*, так и для первичного отбора штаммов, перспективных для создания улучшенной живой туляремийной вакцины.

Секретируемые протеазы бацилл как вероятные факторы регуляции конкурентных отношений в среде микроорганизмов

В.В.Перелыгин, В.Д.Похиленко, В.П.Левчук, Т.А.Калмантаев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

В последние десятилетия часто используются комплексные препараты пробиотиков для лечения и профилактики болезней человека и животных. В состав комплексов могут входить как бактерии-продуценты антимикробных пептидов, так и бактерии, секретирующие протеазы. Вместе с тем взаимовлияние этих соединений на конкурентные отношения в микробиоценозе изучено не в полной мере.

Цель работы – исследование характера и уровня взаимодействия бактерициноподобных веществ бактерий *E. mundtii* и *B. lentus*, имеющих различные спектры антимикробной активности как в отношении друг друга, так и в смеси против тестовых патогенов.

Штаммы *E. mundtii* В-7424 и *B. lentus* В-7150, продуценты бактерициноподобных субстанций (БПС), были выделены нами, идентифицированы и депонированы в коллекции микроорганизмов ГНЦ ПМБ. Получение препаратов БПС проводили с использованием питательных сред производства ГНЦ ПМБ в ферментере вместимостью 10 л. Культуральную жидкость (КЖ) фракционировали методом ультрафильтрации, а БПС получали путем разделения в смеси двухфазных растворителей (вода/дихлорметан). Препарат БПС, полученный в виде интерфазной пленки, был высушен и использован в последующих исследованиях. Определение антагонистической активности препаратов БПС проводили с использованием свежеприготовленных газонов тестовых патогенов (Гр+ и Гр-) путем титрования. Наличие и активность протеаз в составе БПС оценивали по размеру зон гидролиза, образовавшихся после нанесения проб образцов на поверхность молочного агара с различными показателями pH (6–9). Специфичность фермента и его классификация определялись на основе pH-зависимости и чувствительности к реагенту PMSF – ингибитору сериновых протеаз.

Регидратированный препарат БПС *B. lentus* (10 мг/мл) был разделен на четыре равные порции, которые были подвергнуты следующим условиям обработки: температура 30°C и 60°C, значения pH 6,0 и 10,0 и время инкубации для всех вариантов – 60 мин. По мере завершения периода инкубации все порции препарата БПС *B. lentus* были исследованы на уровень бактерицидной активности в отношении тестового штамма *E. coli* M17.

Установлено, что при физиологическом значении pH (6–7) бактерицидная активность препарата БПС *B. lentus* не изменялась после 60 мин инкубации как при температурах 30°C, так и 60°C. Бактерицидная активность оставалась без изменений и при показателе pH = 10, но только в том случае, когда температура инкубации соответствовала 30°C. Отмечено также, что бактерицидная активность БПС *B. lentus* полностью исчезает, если пробы одновременно инкубировали

ли при pH = 10 и температуре 60°C. Предполагая, что в БПС *B. lentus* может присутствовать щелочная протеаза, которая имеет температурный максимум около 70°C, а оптимум активности при pH 8–10, мы обработали нативную пробу БПС *B. lentus* реагентом PMSF. Установлено, что в этом случае препарат БПС полностью потерял способность к гидролизу казеина и, следовательно, штамм *B. lentus* является продуцентом секретируемой щелочной протеазы, устойчивой к температуре 70°C и гидролизующей казеин в диапазоне pH 7–10.

Отмечено, что смесь (1:1) интактных БПС *E. mundtii* и *B. lentus* привела к полной потере препаратом БПС *E. mundtii* антагонистической активности в отношении листерий. В то же время при использовании такой же смеси препарата, в которой БПС *B. lentus* предварительно был инактивирован при температуре 80°C, активность бактериоцина полностью сохранена.

Таким образом, было подтверждено, что БПС *B. lentus* содержит фермент – секретируемую сериновую щелочную протеиназу, которая при инкубировании с БПС *E. mundtii* разрушает бактериоцин и, соответственно, может являться средством для подавления конкурирующих бактерий. Полученные результаты указывают на возможные механизмы сосуществования микробных сообществ, в которых существенная роль отводится секретируемым протеазам как важным посредникам межклеточной связи популяций, координирующих их развитие и, возможно, контролирующих инвазию посторонних микроорганизмов.

Возбудители гнойно-септических инфекций в психиатрической больнице Санкт-Петербурга

С.Б.Пилипенко¹, Е.А.Мамонова¹, Ю.В.Голубева¹, Н.С.Козлова², А.В.Метляева³

¹СПБ ГКУЗ «Городская психиатрическая больница №3 им. И.И.Скворцова-Степанова», г. Санкт-Петербург;

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

³ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», г. Санкт-Петербург

Цель исследования. Анализ видового состава возбудителей гнойно-септических инфекций (ГСИ) в психиатрической больнице Санкт-Петербурга.

Материалы и методы. В 2017 г. в психиатрической больнице Санкт-Петербурга из различного материала больных гнойно-септическими инфекциями были выделены 1997 штаммов возбудителей. Идентификация этиологически значимых микроорганизмов осуществлялась фенотипически.

Результаты. Среди возбудителей ГСИ в психиатрической больнице преобладали грамположительные микроорганизмы, которые составили почти половину выделенных штаммов (46,7%). Среди них преобладали стафилококки (74,1% от числа грамположительных и 34,6% от общего числа культур), гораздо реже встречались стрептококки (15,3% и 7,2% соответственно) и энтерококки (10,5% и 4,9% соответствен-

но). Стафилококки были представлены десятью видами, наиболее распространенными из которых оказались три – *Staphylococcus epidermidis* (15,2% от общего числа штаммов), *S. aureus* (9,5%) и *S. simulans* (4,1%). Грамотрицательные бактерии встречались реже (38,7%) и были представлены энтеробактериями (20,8%) и неферментирующими грамотрицательными бактериями (НГОБ, 17,9%). Среди восьми родов выделенных энтеробактерий преобладали клебсиеллы (41,2% от числа энтеробактерий), эшерихии (29,4%) и протеи (21,2%). Удельный вес *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis* составил 8,1; 6,1 и 4,3% от общего числа изолятов. Среди НГОБ чаще встречались штаммы *Moraxella catarrhalis* (5,4% от общего числа культур), которые преимущественно выделялись из мочи (78,5%). *Pseudomonas aeruginosae* и *Acinetobacter baumannii* были представлены незначительным числом изолятов (по 2,6%). Среди грибов рода *Candida* (14,7%), представленных 5 видами, преобладала *C. albicans* (11,0%).

Выводы. Среди возбудителей ГСИ в психиатрической больнице преобладали микроорганизмы восьми видов (*S. epidermidis*, *C. albicans*, *S.aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *M. catarrhalis*, *P. mirabilis*, *S. simulans*), удельный вес которых составил почти две трети от числа выделенных культур (63,7%). Наиболее частыми возбудителями ГСИ оказались стафилококки (золотистый и эпидермальный), а также *C. albicans*, совместная доля которых составляла более трети (35,7%) изученных штаммов. Согласно данным исследования МАРАФОН, наиболее актуальными для стационаров России возбудителями ГСИ являются представители энтеробактерий и НГОБ (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosae* и *A. baumannii*). В то же время в психиатрической больнице они значительно уступали стафилококкам, и только *K. pneumoniae* вошла в список ведущих видов возбудителей ГСИ.

Сравнительная оценка основ кровяного агара различных фирм-производителей

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Одной из наиболее часто используемых основ при приготовлении кровяного агара является колумбийский агар, который выпускается рядом фирм-производителей как в сухом виде, так и в виде готовой питательной среды в чашках Петри с добавлением крови. В ГНЦ ПМБ разработана технология изготовления колумбийского агара в сухом виде.

Цель работы: провести сравнительную оценку разработанного колумбийского агара и агаров четырех иностранных фирм-производителей на модели кровяного агара.

Материалы и методы. Кровяные агары готовили с добавлением 5% крови бараньей дефибринированной (E&O Laboratories Limited, кат. № DSC100). Для приготовления сред сравнения использовали следующие основы: BBL Columbia agar base (Becton Dickinson, кат. № 211124), Columbia agar (Mast Group, кат. № DM1 15D), Columbia blood agar base (Oxoid, кат. № CM0331), Columbia agar (bioMerieux, кат. № 51026).

В исследовании использовали штаммы альфа-гемолизирующих стрептококков (*S. pneumoniae* ATCC 6305 и *S. pneumoniae* ATCC 49619) и бета-гемолизирующих стрептококков группы А (*S. pyogenes* Dick1), группы В (*S. agalactiae* ATCC 12386), группы С (*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* ATCC 12388), группы G (*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* ATCC 12394). Через 18 ч инкубации на всех исследованных средах измеряли диаметр колоний выросших микроорганизмов и оценивали характер зон гемолиза вокруг них.

Результаты. Все варианты кровяного агара обеспечивали рост всех исследованных штаммов при посеве из разведений, содержащих единичные клетки. Установлено, что характер роста обоих штаммов *S. pneumoniae* на всех вариантах кровяного агара не имел существенных различий: диаметр колоний составлял от 0,4 до 0,6 мм, вокруг колоний формировалась зона альфа-гемолиза.

В ходе исследования выявлены различия специфической активности исследованных питательных сред при культивировании бета-гемолизирующих стрептококков. Штамм *S. agalactiae* ATCC 12386 формировал на всех исследованных средах колонии диаметром от 0,8 до 1,0 мм, однако на средах Mast Group и Oxoid зоны гемолиза были менее отчетливые. При сходной интенсивности зон гемолиза колонии *S. pyogenes* Dick1 на колумбийских агарах производства Oxoid и bioMerieux имели диаметр от 0,8 до 1,0 мм, тогда как на средах остальных производителей, включая ФБУН ГНЦ ПМБ, – от 1,0 до 1,2 мм. Наибольшие размеры колоний и более крупные зоны гемолиза у обоих штаммов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* наблюдали на кровяных агарах, приготовленных на основе колумбийских агаров производства ФБУН ГНЦ ПМБ, Becton Dickinson и bioMerieux.

Выводы. В ходе исследования показано, что колумбийский агар производства ФБУН ГНЦ ПМБ не уступает по ростовым свойствам колумбийским агарам иностранных фирм-производителей и может быть использован в качестве основы для приготовления кровяного агара. В настоящее время питательная среда проходит процедуру Государственной регистрации.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Исследование иксодовых клещей на обнаружение возбудителей инфекционных заболеваний

Н.Н.Попова, О.Л.Скопенко

Медсанчасть «Северсталь», микробиологическая лаборатория, г. Череповец

На территории Вологодской области ежегодно регистрируют случаи заболевания кодовым клещевым боррелиозом и клещевым энцефалитом. Имеет место увеличение количества обращений населения с жалобами на присасывания клещей.

Цель – определить наличие и видовой состав возбудителей, выделенных из клещей, снятых с кожных покровов людей, обратившихся за медицинской помощью на территориях Череповецкого, Шекснинского, Кадуйского и Чагодощенского районов Вологодской области.

Материалы и методы. Методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ) с использованием наборов серии «РеалБест» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) исследовано 933 иксодовых клеща на выявление возбудителей клещевого энцефалита, клещевого боррелиоза, анаплазмоза и эрлихиоза. Амплификацию участков ДНК при постановке ПЦР-РВ проводили на термочиклере с детекцией CFX96 (BioRad, США).

Результаты. За период с мая по сентябрь в 2016 и в 2017 гг. из 933 проб клещей были обнаружены ДНК боррелий комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* (*Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, *Borrelia burgdorferi sensu stricto*) в 43,8% случаев (409 пробах), РНК вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) – в 0,3% (3 пробах). В то же время 864 пробы суспензии клещей были исследованы на наличие ДНК *Anaplasma phagocytophilum* (возбудителя гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ)), *Ehrlichia muris* и *Ehrlichia chaffeensis* (возбудителя моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ)). В результате ПЦР был обнаружен МЭЧ в 4,5% случаев (39 проб), ГАЧ – в 0,23% (2 пробах). В ряде случаев одновременно отмечалось наличие смешанного инфицирования переносчиков двумя патогенными для человека микроорганизмами.

Заключение. В результате проделанной работы в сезоны 2016 и 2017 гг. отмечается высокая зараженность клещей боррелиями (в 2016 г. – 38,5%, в 2017 г. – 47,7%). Обнаружение других возбудителей (ВКЭ, ГАЧ, МЭЧ) составляет от 0,18 до 5,7%. Для своевременной и адекватной профилактики и лечения природно-очаговых заболеваний актуально определять в переносчике наличие и вид инфекционного агента.

Бета-лактамазы расширенного спектра и проблема селективности питательных сред

А.А.Порин^{1,2}, З.Н.Матвеева¹, Е.В.Белоусова³, А.В.Архипова², А.В.Демидова², К.А.Кузьмина²

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

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

³ЗАО «Научно-исследовательский центр фармакотерапии», г. Санкт-Петербург

В большинстве современных питательных сред для подавления сопутствующей микрофлоры используются селективные добавки на основе смеси антибиотиков. Широкое распространение резистентных штаммов может быть не только проблемой при выборе препаратов для этиотропной терапии инфекционных процессов, но и затруднять выделение целевых микроорганизмов из объектов внешней среды.

Целью настоящего исследования было определение частоты обнаружения БЛРС-продуцирующих контаминантов при использовании протокола ГОСТ ИСО 10272-1-2013 для выделения кампилобактеров из куриного мяса.

Материалы и методы. Куриные тушки из розничной сети исследовались в соответствии с ГОСТ ISO 10272-1-2013.

В качестве обогатительной среды использовали бульон Bolton (Oxoid, UK), который инкубировали в микроаэрофильной атмосфере в течение 5 часов при 37°C, а затем 40–44 часа при 42°C. Высев осуществляли на среду CCDA (HiMedia, Индия). Чашки инкубировали в микроаэрофильной атмосфере при 42°C 48 часов, с обязательным просмотром через 18–24 часа. Колонии различных морфотипов отбирались для дальнейшего исследования. Идентификация осуществлялась методом MALDI TOF масс-спектрометрии. Продукцию БЛРС определяли методом «двойных дисков». Всего было исследовано 20 проб куриного мяса.

Результаты. Ни в одной из исследованных проб бактерии рода *Campylobacter* не были обнаружены. Рост контаминантов отмечен на всех чашках. В 6 случаях интенсивность роста делала невозможной дальнейшую работу с чашкой. Всего было выделено 24 штамма энтеробактерий, в том числе 18 штаммов *E. coli* и 6 – *K. pneumoniae*. Продукция БЛРС отмечена у 21 штамма энтеробактерий – 87,5%, в том числе 16 штаммов *E. coli* и 5 штаммов *K. pneumoniae*, что составляет 88,9% и 83,3% соответственно.

Выводы. Цефалоспорины используются в большинстве сред для кампилобактеров в качестве основного, а иногда единственного антибактериального агента. Проведенные предварительные исследования показывают, что причиной снижения селективности наиболее популярной среды для выделения кампилобактеров является широкое распространение БЛРС-продуцирующих энтеробактерий, что делает актуальным совершенствование добавок, а также разработку альтернативных методов выделения кампилобактеров на неселективных средах.

Влияние кластерного серебра на эффективность действия бактериофагов против золотистого стафилококка

В.Г.Пугачёв, О.Д.Тотменина

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово

Альтернативу антибиотикам составляют препараты бактериофагов. Достоинство этих препаратов заключается в высокой специфичности фагов, чувствительности патогенной микрофлоры к бактериофагам, эффективности в терапии хронических инфекций, особенно ассоциированных с образованием бактериальных биопленок. Клинически значимыми особенностями являются: сочетаемость со всеми видами традиционной антибактериальной терапии, отсутствие противопоказаний к фагопрофилактике и фаготерапии, отсутствие аллергических реакций и низкая токсичность; отсутствие влияния на нормальную бактериальную флору кишечника и препараты пробиотиков, что дает возможность для их совместного применения. Бактериофаги – это специфическая защита от патогенных и условно-патогенных штаммов микроорганизмов, однако в ряде случаев бактериофаги недостаточно эффективны как антибактериальные препараты, особенно при существовании патогена в составе биопленок. В ряде работ было показано синергическое дей-

ствие кластерного серебра на действие антибиотиков на патогенные штаммы золотистого стафилококка и в химиотерапии при лечении туберкулеза. Антимикробные и противовирусные свойства ионов серебра не вызывают сомнений.

При изучении влияния кластерного серебра на вирулентность бактериофагов нами было показано, что кластерное серебро, стабилизированное поливинилпирролидоном, увеличивает вирулентность бактериофагов против золотистого стафилококка и сальмонелл в суспензиях и биопленках. Биологическая активность сальмонеллезного и стафилококкового бактериофагов в присутствии серебра сохраняется. Препараты бактериофагов с концентрацией 10^6 – 10^9 БОЕ/мл сохраняют литическую активность в течение 6 месяцев при наличии серебра до 2 мг/мл. При исследовании действия стафилококкового и сальмонеллезного фаговых препаратов с кластерным серебром против *Staphylococcus aureus* и *Salmonella enteritidis*, соответственно в суспензиях и биопленках, было показано, что концентрации кластерного серебра в диапазоне от 1,4 до 14 мкг/мл достаточно для снижения остаточной микрофлоры до полного удаления. Данное количество серебра не оказывает влияния на рост бактерий. При исследовании жизнеспособности бактерий в пленочных обрастаниях после обработки их суспензией фага (титр 3×10^8 ф.ч./мл) и смесью фага с кластерным серебром (3×10^8 ф.ч./мл + 1,3 мг) показано, что на прикрепленные бактерии эффективное бактерицидное действие оказывает смесь фага с кластерным серебром, эффективность совместного действия такого препарата увеличена на два порядка.

Скрининг коллекционных штаммов микроскопических грибов по биосинтезу лимонной кислоты

О.М.Пулатова, Б.Х.Алимова, А.А.Махсумханов, И.Ж.Камбаралиева, Ш.А.Ташбаев, Н.К.Холмурадова, М.С.Мамиев

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г.Ташкент, Узбекистан

В настоящее время ежегодное производство лимонной кислоты (ЛК) составляет 1,6 млн тонн, а годовой прирост – 3–5% от существующего уровня. Широкое применение ЛК связано с тем, что она используется в пищевой, химической и фармацевтической промышленности, а также входит в состав моющих средств в виде ее натриевых солей, где цитрат натрия успешно заменяет экологически опасные полифосфаты.

Целью настоящей работы является скрининг коллекционных штаммов микроскопических грибов, относящихся к виду *Aspergillus niger*, по биосинтезу лимонной кислоты.

Кислотообразующая способность коллекционных штаммов микроскопических грибов *Aspergillus niger* (качественный метод) оценивалась на агаризованной среде с мелом. Среди 56 исследуемых штаммов более высокой способностью образовать зоны растворения мела обладали два штамма, при этом размеры зон растворения не превышали 8 мм. Было обнаружено, что среди изученных штаммов кис-

лотообразующей способностью не обладали 30 штаммов микроскопических грибов. Следует отметить, что тестом на агаризованной среде на кислотообразующую способность штаммов невозможно точно оценить уровень синтеза ЛК в среде. С целью количественного определения ЛК, а также для проверки результатов, полученных методом селекции на твердой среде, проводили культивирование отобранных штаммов (15) в жидкой среде с сахарозой. Исследование показало, что отобранные штаммы при культивировании на жидкой питательной среде способны синтезировать лимонную кислоту в концентрации от 1,41 до 2,98 г/л.

Таким образом, скрининг коллекционных штаммов микроскопических грибов, относящихся к виду *Aspergillus niger*, по биосинтезу ЛК показал, что среди 56 штаммов микроскопических грибов 30 штаммов не проявляли кислотообразующей способности, более высокой кислотообразующей активностью обладали всего 3 штамма.

Бактериальные изоляты, выделенные из атмосферных аэрозолей, обладающие липолитической активностью

Л.И.Пучкова, И.С.Андреева, А.С.Сафатов, Г.А.Буряк

ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово

Изучение липолитических ферментов бактерий представляет интерес как с точки зрения более полной характеристики их участия в метаболизме, так и для оценки вклада отдельных ферментов в адаптацию микробов к различным условиям существования. Отдельные гидролитические ферменты бактериальной клетки могут быть использованы в биотехнологии. Данная работа посвящена исследованию липолитической активности микроорганизмов, выделенных из атмосферного аэрозоля на юге Западной Сибири. Отбор проб атмосферных аэрозолей осуществляли с использованием лаборатории «Оптик-Э», смонтированной на базе самолета Ту-154, в импинджеры, в которые в качестве сорбирующей жидкости заливали раствор Хенкса. Отобранные пробы из импинджеров высевали на селективные питательные среды и инкубировали в термостате при температурах 28–30°C и 6–10°C в течение 3–14 суток. Выделены и охарактеризованы бактериальные культуры, относящиеся к родам *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Lysinibacillus* и ряду других. Скрининг продуцентов липаз проведен качественным методом на агаризованных питательных средах, содержащих 0,01% CaCl₂ и 1,0% детергента (Твин-20 и Твин-80). Чашки выдерживали в термостате при 28–30°C в течение 2 суток. Учитывали и отбирали культуры, вокруг колоний которых образовывались непрозрачные зоны гидролиза, образующиеся из преципитата солей кальция. Для исследования ферментативной активности штаммов, отобранных в результате скрининга, бактериальные культуры выращивали в колбах с питательной средой с добавлением детергентов и без них в объеме среды 50 мл на качалке при 30°C 18 часов. По окончании ферментации в бесклеточной культуральной жидкости определяли активность в Трис-буфере рН 7,6, со-

державшем 0,04 М CaCl₂ и 0,4% субстрата. Исследуемые образцы вносили в реакционную смесь и нагревали на водяной бане при 37°C. Проявление липолитической активности регистрировали по увеличению оптической плотности реакционной смеси через 2 и 4 часа в 1 см кюветах на спектрофотометре при длине волны 400 нм. Выявлено, что в разные периоды отбора проб воздуха процент содержания липазных штаммов меняется. Получено несколько штаммов, обладающих высокой секрецией ферментов, которые могут быть перспективны для биотехнологического применения.

К вопросу о видовом составе рода *Trichophyton*

И.М.Пчелин, Н.В.Васильева, А.Е.Тараскина

НИИ медицинской микологии им. П.Н.Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И.Мечникова», г. Санкт-Петербург

К роду грибов *Trichophyton* принадлежит основной возбудитель онихомикоза и микоза стоп в РФ *T. rubrum*. Широко известны также *T. mentagrophytes*, *T. tonsurans* и другие представители. Всего род *Trichophyton*, по современным представлениям, включает в себя 16 видов возбудителей поверхностных микозов людей и животных. Вместе с тем таксономия рода не гармонизована со стандартами филогенетической систематики.

Для получения подробной информации об известном генетическом разнообразии генотипов региона ITS грибов рода *Trichophyton* в базе данных Генбанк были выполнены текстовые поиски, каждый запрос состоял из одного отдельно взятого биномена и фразы «internal transcribed spacer». При помощи скриптов на языке Python было отобрано 1396 последовательностей региона ITS грибов рода *Trichophyton*, распределенных между 44 отдельными генотипами. На основании получившейся выборки была построена кладограмма по методу максимального правдоподобия. Распределение генетических расстояний в выборке содержало штрих-кодовый зазор. Кладограмма была разделена на три основные ветви, которые содержали 12 видовых гипотез РТР и 15 видовых гипотез АBGD. В ветви *T. mentagrophytes* анализ АBGD объединял *T. equinum* с *T. tonsurans*, *T. interdigitale* с *T. mentagrophytes* и *T. quinckeanum* с *T. schoenleinii*. Первые две пары видов находились в пределах одной гипотезы РТР. В ветви *T. benhamiae* результаты АBGD и РТР были в основном согласованы. Оба анализа подтвердили виды *T. bullosum*, *T. erinacei* и *T. eriotrephon*. *Trichophyton benhamiae* и *T. concentricum* представляли одну и ту же видовую гипотезу. Также было выявлено три потенциальных неописанных вида; один из них был близок к *T. bullosum*, а другой – к *T. concentricum* и *T. benhamiae*. Эта последняя ОТЕ содержала последовательности «белой расы *T. benhamiae*». РТР-анализ, но не АBGD, предложил независимость изолятов с генотипом EU181452 от *T. verrucosum*. Группа *Trichophyton rubrum* составляла одну видовую гипотезу в РТР-анализе. Метод АBGD дифференцировал *T. rubrum*, *T. soudanense*, *T. violaceum*, а также генотип EF631617 *T. megninii*.

Таким образом, род *Trichophyton*, с одной стороны, потенциально содержит 2–4 не описанных вида. С другой стороны, существующая классификация может быть пересмотрена в сторону объединения некоторых существующих видов. Эти выводы должны быть проверены филогеномными построениями, а также оценены с точки зрения морфологии и экологии (клинических данных).

Симпатрический очаг клещей рода *Ixodes* в Омской области: первое генетическое исследование клещей *Ixodes apronophorus* и переносимых ими инфекционных агентов

В.А.Рар¹, В.В.Якименко², Я.П.Иголкина¹, Ю.В.Сабитова¹, А.Ю.Тикунов¹, С.Е.Ткачѳв¹, Н.П.Винарская², А.К.Танцев², Н.В.Тикунова¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск;

²ФБун «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск

В северной части Омской области обнаружены области симпатрии клещей *Ixodes apronophorus*, *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*. Клещи *I. persulcatus* и *I. trianguliceps* из различных регионов ранее были генетически охарактеризованы по митохондриальным и ядерным генетическим локусам; клещи *I. apronophorus* до настоящего времени не были исследованы генетически.

Для генетической идентификации *I. apronophorus* была разработана методика для определения видов клещей методом ПЦР с использованием видоспецифичных праймеров из области внутреннего транскрибируемого спейсера ITS2. Была определена видовая принадлежность клещей, собранных с мелких грызунов из двух участков в Большеуковском и Тевризском районах Омской области. Часть питававшихся клещей подвергли метаморфозу в лабораторных условиях. Клещей генотипировали по ядерному (ITS2) и митохондриальным (*cox1* и *16S* рРНК) локусам. Показана более высокая генетическая вариабельность клещей *I. apronophorus* и *I. persulcatus* по сравнению с *I. trianguliceps*. Полученные результаты подтвердили данные морфологических исследований о принадлежности *I. apronophorus* к подроду *Ixodes*. Впервые было показано, что клещи *I. apronophorus* генетически наиболее схожи с клещами *I. kazakstani* и могут быть отнесены к группе *I. persulcatus* внутри подрода *Ixodes*.

Снятые с грызунов *I. apronophorus* были часто инфицированы *Rickettsia Helvetica* (72%); значительно реже (3–8%) в клещах была выявлена ДНК *Borrelia burgdorferi* s.l., *Ehrlichia muris*, «*Candidatus Neoehrlichia mikurensis*» и «*Ca. R. tarasevichiae*». В *I. persulcatus* преобладали «*Ca. R. tarasevichiae*» (83%); в единичных клещах обнаружены *B. burgdorferi*, *R. raoultii* и *Anaplasma phagocytophilum*. В *I. trianguliceps* были детектированы *R. helvetica*, «*Ca. R. uralica*» и *A. phagocytophilum*. Исследование клещей, снятых с грызунов и перелинявших в лаборатории, показало способность *I. apronophorus* к трансфазовой передаче *R. helvetica*, *B. burgdorferi* s.l. и ВКЭ сибирского субтипа. Показано наличие трансфазовой

передачи *B. burgdorferi*, «*Ca. R. tarasevichiae*», «*Ca. R. uralica*», *E. muris* и *A. phagocytophilum* клещами *I. persulcatus* и *I. trianguliceps*. *Borrelia miyamotoi* обнаружены только в перелинявших *I. persulcatus*. На основании результатов секвенирования фрагментов генов *p83/100* и *clpA* и межгенного спейсера боррелий в клещах *I. apronophorus* были выявлены *B. bavariensis* и новый генотип *B. burgdorferi* s.l., не относящийся ни к одному из известных видов.

Работа поддержана темой VI.55.1.1:0309-2016-0002.

Влияние микроорганизмов на приготовление силоса

А.К.Рахманина, Т.Абдуллаев, Х.М.Хамидова

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент

Использование микробиологических заквасок при силосовании кормов является эффективным способом повышения качества получаемого корма и снижения потерь в процессе ферментации растительной массы.

Целью наших исследований являлось изучение влияния различных микроорганизмов и их комбинаций на приготовление силоса из пшеничной соломы в лабораторных условиях.

Для приготовления силоса в лабораторных условиях в качестве заквасок были выбраны следующие микроорганизмы: *Trichoderma harzianum* UzCF-28, *Penicillium canescens* UzCF-54 – микромицеты, синтезирующие комплекс целлюлолитических ферментов, каротин-синтезирующие дрожжи *Rhodotorula* sp205, гомоферментативные лактобациллы *Lactobacillus plantarum*, способствующие подавлению нежелательной гнилостной микрофлоры, увеличению содержания сухого вещества, и бактерия *Bacillus subtilis*, продуцирующая антибиотикоподобные вещества и ферменты, губительные для гнилостной микрофлоры.

Результаты по влиянию микроорганизмов на силосование пшеничной соломы получены после 10 суток, 30 суток и 7 месяцев выдержки. Лучшие результаты после 7 месяцев выдержки по содержанию сухого вещества в силосе из пшеничной соломы – 3,16%, получены с внесением заквасок *T. harzianum* UzCF-28 + *Rhodotorula* sp.205 и *T. harzianum* UzCF-28 + *Penicillium canescens*. У стандарта содержание сухого вещества было 31,48%.

Отмечено, что во всех опытных вариантах наблюдалось увеличение содержания азота и сырого протеина по сравнению с контролем. Содержание общего азота пшеничного силоса, приготовленного с закваской из *T. harzianum* UzCF-28, составило 1,06%, *T. harzianum* UzCF-28 + *Rhodotorula* sp. 205 – 1,59%, *T. harzianum* UzCF-28 + *Lactobacillus plantarum* + *Rhodotorula* sp. 205 – 0,98%, в контрольном варианте – 0,64%.

По содержанию сырого протеина лучшими были образцы N1 и N2 пшеничного силоса, полученного при заквашивании культурами: *T. harzianum* UzCF-28 – 6,2% и *T. harzianum* UzCF-28 + *Rhodotorula* sp. 205 – 9,97%. У контроля содержание сырого протеина было 4,06%. Необходимо отметить, что органолептическая оценка силоса с добавкой микроорганизмов была высокой.

Таким образом, показано, что включение силосных заквасок на основе микроорганизмов *Trichoderma harzianum* UzCF-28 + *Rodotorula sp.* 205 стимулирует ферментационные процессы в силосе, в результате чего увеличивается содержание сырого протеина и сухого вещества.

Микробиологические способы приготовления силоса и их использование в рационе питания симментальских телок

Д.О.Рахманов¹, З.Р.Ахмедова², Т.Э.Шонахунов²

¹Научно-исследовательский институт животноводства и птицеводства МСХ РУз, пос. Красный водопад, Ташкент, Узбекистан;

²Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

За последние годы поголовье молочного скота в Узбекистане резко увеличилось. Рентабельность производства молока во всем мире повышается на основе роста молочной продуктивности, а не поголовья скота. Количество поступающих на убой мясных и молочных коров возрастает в связи с увеличением потребности населения в белках. Компенсировать это возможно как за счет расширенного и рационального использования сверхрамонтных телок и/или выранных низкоудойных коров молочных и комбинированных пород, так и путем увеличения продуктивности животных за счет кормления высокопитательными, качественными и сбалансированными по составу кормами.

Немаловажным является обеспечение кормами животных в осенне-зимний период года. Поэтому в большинстве хозяйств Республики Узбекистан готовятся силосы различного происхождения и способов подготовки, а удельный вес силоса и сенажа, используемых в кормлении животных, составляет 50–60% от их общего рациона. Изготовленный силос и сенаж в хозяйствах из-за неправильной технологии приготовления имеет низкое качество.

Поэтому в данной работе рассматриваются способы приготовления высококачественного силоса и сенажа для животноводства путем использования микробиологической ферментации, являющейся перспективным и экологическим чистым способом заготовки кормов, с последующим определением влияния откорма полученными биологически обогащенными кормами на молочную и мясную продуктивность крупного рогатого скота.

Закладку сенажа из люцерны и разнотравья проводили весной. Покос проводили в фазе бутонизации в производственных условиях скотоводческой фермы ООО «Узнаслэита». Силосование было заложено поэтапно в объемах 350 и 800 тонн из измельченной (1–3 см) фитомассы люцерны, с опрыскиванием биологически активными добавками, приготовленными из микроорганизмов (грибов, дрожжей, актиномицетов, молочнокислых бактерий), в количестве 80, 150 литров (опытная яма). Для оценки действия БАД микробного происхождения была заложена вторая яма с такими же объемами фитомассы, но без добавления БАД (контрольная яма).

В сенаже, приготовленном без микробиологических добавок, после 3 месяцев хранения общее количество органи-

ческих кислот составило 4,58%. Содержание молочной кислоты в общей сумме – 54,3%, уксусной кислоты – 35,3% и масляной кислоты – 11,4%, тогда как с внесением микробиологических добавок после 3 месяцев содержание органических кислот было ниже на 0,64%, чем в сенаже без микробиологических добавок. Содержание молочной кислоты в общей сумме – 77%, уксусной кислоты – 23%, а масляная кислота отсутствовала.

Органолептическая оценка показала, что сенаж, приготовленный с внесением микробиологических добавок, имел хлебный и ароматный запах. Внесение микробиологических добавок ускорило процесс накопления молочной кислоты, снизило активную кислотность среды до pH 4,2, что губительно для гнилостных и маслянокислых бактерий. Было установлено, что через 90–120 дней после заготовки созревание силоса доходило до кондиции.

Далее ферментированная партия силоса была использована для откорма молодняка симментальских породы (на ремонтных телках 10–17-месячного возраста). Были сформированы две группы по 10 голов в каждой, отобранных по принципу аналогов. Условия содержания: групповое, в постройках облегченного типа. Кормление зависело от массы тела (30–50 кг/день). Через 2–3 месяца кормления наблюдали увеличение массы тела (20–25 кг/месяц), удоя молока (5–7 литр/день), а также снижение выделения фекалий.

Таким образом, результаты позволяют рекомендовать ферментные добавки грибов *Aspergillus oryzae-5*, *Pleurotus ostreatus-105/7*, *Saccharomyces cerevisiae-2* и культуры молочнокислых бактерий в качестве биологического катализатора при заготовке силоса.

Инфицированность клещей возбудителями трансмиссивных инфекций в Ярославской области

**В.А.Романов¹, Е.Д.Светалкина²,
Е.В.Комарова², Э.В.Малафеева¹**

¹ФГБОУ ВО «Ярославский государственный медицинский университет», г. Ярославль;

²ГАУЗ ЯО «Клиническая больница скорой медицинской помощи им. Н.В.Соловьева», г. Ярославль

Климатогеографические и природные условия Ярославской области, ее фауна и флора определяют существование в области природных очагов ряда трансмиссивных инфекционных болезней. Иксодовые клещи, обитающие на территории Ярославской области, могут быть переносчиками ряда природно-очаговых инфекций, в том числе клещевого вирусного энцефалита (КВЭ), иксодового клещевого боррелиоза (ИКБ), моноцитарного эрлихиоза человека (МЭЧ) и гранулоцитарного анаплазмоза человека (ГАЧ). Исследование инфицированности членистоногих возбудителями трансмиссивных инфекций с помощью современных методов является важной научно-практической задачей.

Было проведено исследование присосавшихся к людям клещей на 4 инфекции (КВЭ, ИКБ, МЭЧ И ГАЧ) с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). За период с 2011 по 2017 г. в больницу скорой медицинской помощи обратились

24 852 пострадавших от укусов клещей жителя г. Ярославля и близлежащих сельских районов. Наиболее высокие показатели инфицированности клещей отмечены в отношении возбудителя ИКБ – позитивные пробы по данным ПЦР колебались от 23,7% до 35,5%, в среднем 29,04%. В меньшей мере клещи были инфицированы вирусом КВЭ (положительные пробы от 0 до 0,38%, в среднем 0,15%), а также возбудителями МЭЧ (положительные данные, в среднем 4,14%) и ГАЧ (позитивные результаты от 0,06% до 0,33%, в среднем 0,26%). Микст-инфицированность клещей наиболее часто встречалась при сочетании возбудителей ИКБ и МЭЧ (от 1,8% до 2,8%, в среднем 0,26 %). Иные разнообразные сочетания двух и даже трех возбудителей были обнаружены в единичных случаях.

Таким образом, клещи, обитающие в Ярославской области, в наибольшей степени инфицированы возбудителем ИКБ, в меньшей мере – МЭЧ, минимально – ГАЧ и вирусом КВЭ. ПЦР позволяет оперативно решить вопросы инфицированности клещей и на этой основе своевременно проводить профилактику трансмиссивных инфекций.

Единая специальность «Медицинская микробиология»

Н.В.Рудаков

*ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора, г. Омск;
ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский
университет» Минздрава РФ, г. Омск*

В последние несколько лет усиленно дискутируется вопрос о последипломной подготовке специалистов в области лабораторной медицины.

Приказом Минздрава РФ от 7 октября №700н утверждена номенклатура специальностей специалистов, имеющих высшее медицинское и фармацевтическое образование.

В соответствии с номенклатурой выделены, в частности, такие специальности: бактериология (п. 5), вирусология (п. 6), клиническая лабораторная диагностика (п. 26), организация здравоохранения и общественное здоровье (п. 42), паразитология (п. 47), социальная гигиена и организация санэпидслужбы (п. 67). С нашей точки зрения указанная номенклатура оптимальна на данном этапе развития профилактической медицины.

Объектами специальностей бактериология (п. 5), вирусология (п. 6), клиническая лабораторная диагностика (п. 26) являются бактерии, вирусы, человек соответственно. Применяются также различные методы исследования – бактериологические (бактериологические питательные среды), культуры эукариотических клеток (в вирусологии), биохимические, гематологические, цитологические и другие методы клинической лабораторной диагностики.

Существенно отличаются и необходимые требования к обеспечению режима биологической безопасности и квалификации специалистов.

В соответствии с решением Координационного совета в области образования «Здравоохранение и медицинские науки» по укрупненным группам профессий, специальностей и направлений подготовки 32.00.00 «Науки о здоровье и профилактическая медицина» сформировано учебно-методическое объединение (УМО), в составе которого создана рабочая группа по микробиологии. Специальность клиническая лабораторная диагностика (п. 26) вошла в укрупненную группу «клиническая медицина» (31.00.00). Следовательно, науки об микромире (бактериология, вирусология) существенно отличаются по объекту исследования, требованиям к организации и биологической безопасности лабораторий и применяемым методам от специальности клиническая лабораторная диагностика и не могут быть объединены в единую специальность лабораторная медицина. Ряд современных методов выявления патогенных микроорганизмов (ИФА, ПЦР) не должны использоваться в лабораториях, не лицензированных в соответствии с требованиями биологической безопасности для микроорганизмов соответствующих групп патогенности.

Вирусы, бактерии, простейшие и грибы являются лишь разными таксонами микроорганизмов и изучаются в медицинских ВУЗах в рамках дисциплины «медицинская микробиология» на профильных кафедрах микробиологии. Бактериология и вирусология являются науками о микромире, разделами более общего понятия «микробиология» как науки о малых формах жизни. Специализированные вирусологические лаборатории составляют лишь небольшую часть микробиологических лабораторий. Еще в меньшей степени представлены специализированные паразитологические и микологические лаборатории, соответствующие исследования обычно выполняются на базе крупных бактериологических лабораторий. В связи с современными требованиями по сертификации специалистов представляется целесообразным выделение единой специальности медицинская микробиология с последипломным образованием на уровне ординатуры.

Выделение отдельной специальности клиническая бактериология (микробиология) также представляется нерациональным. Необходимо учитывать, что клиническая бактериология и санитарная микробиология являются лишь разделами дисциплины «медицинская микробиология» (специальности: бактериология (п. 5), вирусология (п. 6)) и преподаются в медицинских ВУЗах в рамках единых рабочих программ. Специальности же «клиническая микробиология и антимикробная резистентность» никогда не существовало и не существует, такую дисциплину в медицинских ВУЗах не преподают. Деление лабораторий микробиологического профиля на «клинические» и «санитарно-бактериологические» искусственно, а выделение несуществующей специальности может нанести существенный ущерб подготовке специалистов по единым программам и существенно ухудшить работу и взаимодействие лабораторий, разделив их по ведомственному принципу на «Роспотребнадзорские» и «Минздравовские».

Эпидемиология и оптимизация мер профилактики передаваемых клещами инфекций в России

Н.В.Рудаков, Н.А.Пеньевская,
С.А.Рудакова, Д.А.Савельев

ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора, г. Омск;

Клещевые трансмиссивные инфекции являются серьезной проблемой в связи с широким распространением на территории России, массовостью заболеваний, значительным этиологическим многообразием, высокой частотой микст-форм, тяжестью течения и исходов, ростом числа антропогенных очагов в пригородах и на территории городов. Постоянный рост числа людей, контактирующих с природными очагами, ставит проблему КТИ в число актуальных для науки и практики.

В России регистрируются и имеют наибольшее эпидемиологическое и медико-социальное значение клещевой энцефалит (КЭ), иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ), клещевые риккетсиозы (КР), в частности сибирский клещевой тиф (СКТ) и другие риккетсиозы группы клещевой пятнистой лихорадки (КПЛ), Крымская геморрагическая лихорадка (КГЛ), гранулоцитарный анаплазмоз человека (ГАЧ), моноцитарный эрлихиоз человека (МЭЧ). Однако спектр клещевых патогенных микроорганизмов и биологических агентов с недостаточно изученной патогенностью значительно шире; значительная часть заболеваний, связанных с присасыванием клещей, не верифицируется. Не оценена реальная роль патогенных для человека клещевых микроорганизмов в инфекционной и постинфекционной патологии.

В связи с этим существенное научное и практическое значение имеют фундаментальные направления исследований по уточнению роли новых клещевых патогенов в инфекционной и постинфекционной патологии, закономерностей существования природных очагов, биологической роли передаваемых клещами микроорганизмов, в том числе их вклада в патологию человека и проблемы биоразнообразия.

Выявление целого ряда ранее неизвестных клещевых патогенов требует новых алгоритмов лабораторной верификации диагнозов на весь спектр КТИ человека с использованием ИФА- и ПЦР-технологий, включая экспресс-исследование снятых с пациентов переносчиков, превентивную терапию инфекций и инвазий в сочетанных очагах, совершенствование методов лабораторной диагностики и лечения больных с КТИ. Указанная задача связана с совершенствованием методов лабораторной диагностики, индикации и идентификации клещевых патогенов, разработкой единых подходов мониторинга природных очагов, а также настоятельной необходимостью расширения номенклатуры диагностических наборов для лабораторной диагностики КТИ и выявления их инфекционных агентов. Приоритетным направлением является разработка и внедрение диагностических наборов для лабораторной диагностики на основе ИФА- и ПЦР-технологий на весь спектр КТИ.

В связи с сочетанностью природных очагов необходим комплексный подход к эпидемиологии, лабораторной диагностике и профилактике КТИ. Основой решения этой про-

блемы является разработка и внедрение дифференцированных подходов к эпидемиологическому районированию очаговых территорий с учетом риск-ориентированного подхода к профилактике КТИ.

Существенной проблемой является обоснование с позиций доказательной медицины современных подходов к лечению и профилактике КТИ, включая разработку и совершенствование профилактических вакцин и препаратов антибиотиков и иммунокорректоров и их применения на основе риск-ориентированного подхода к оценке эпидемиологической опасности территорий. Не решен вопрос о разработке безвредных и эффективных акарицидных препаратов длительного действия, которые могут применяться для обработки территорий и сельскохозяйственных животных. Требуют более активного внедрения современные технологии постэкспозиционного превентивного лечения пострадавших. Основой профилактики КТИ должен быть риск-ориентированный подход, учитывающий не только территории, группы и время риска, но и индивидуальный риск инфицирования пациентов по результатам ПЦР-исследования снятых переносчиков на клещевые патогены.

Случай клещевого риккетсиоза с летальным исходом в Красноярском крае

Н.В.Рудаков^{1,2}, И.Е.Самойленко¹, С.В.Штрек^{1,2},
Л.В.Кумпан^{1,2}, Т.В.Кострыкина³, Л.С.Гурьева⁴,
П.А.Ленц⁴, Я.П.Иголкина⁵, В.А.Пар⁵, Е.В.Жиравская⁵,
С.Ткачев⁵, Н.В.Тикунова⁵

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»
Роспотребнадзора, г. Омск;

²ГБОУ ВПО «Омский государственный медицинский университет», г. Омск;

³Управление Роспотребнадзора по Красноярскому краю,
г. Красноярск;

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Красноярском крае», г. Красноярск;

⁵ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск

Сибирский клещевой тиф (СКТ), вызываемый *Rickettsia sibirica*, является основным клещевым риккетсиозом в России. Кроме *R. sibirica*, в иксодовых клещах в Сибири были обнаружены следующие агенты клещевых риккетсиозов: *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. raoultii* и «*Candidatus R. tarasevichiae*». На юге Западной Сибири в последнее время выявлено несколько случаев риккетсиозов, вызванных *R. heilongjiangensis* и *R. raoultii*. На сегодняшний день клинические случаи, вызванные *R. helvetica* или «*Candidatus R. tarasevichiae*», в России не описаны.

В мае 2017 г. была зарегистрирована инфекция с летальным исходом у четырехлетней девочки с типичными симптомами клещевого риккетсиоза (лихорадка, сыпь, струп в месте укуса клеща, миалгия) и менингеальным синдромом.

Целью исследования было выявление этиологии этой инфекции.

Методы. Образцы крови и головного мозга, взятые у пациента после вскрытия, были исследованы на наличие ши-

рокого спектра клещевых агентов и энтеровирусных вирусов с помощью ПЦР с последующим секвенированием.

Результаты. Четырехлетняя девочка была госпитализирована в Идринскую районную больницу через четыре дня после укуса клеща слева за ухом с жалобами на лихорадку до 39,5°C, головную боль и сыпь. Пациентка жила в деревне на юге Красноярской области. При поступлении: лихорадка (38,6°C), увеличение заднешейных лимфатических узлов и розеолезно-папулезная сыпь. Предварительным диагнозом был клещевой риккетсиоз, тяжелая форма. Назначенное лечение включало цефотаксим (2 × 650 мг). Лабораторные тесты показали лейкопению (2,7 × 10⁹ клеток/литр) и лимфопению (9%). На шестой день болезни цефотаксим был заменен на тетрациклин и бензилпенициллин. Через девять часов у ребенка появились судороги и брадикардия. Спустя три часа девочка умерла, несмотря на проводимую интенсивную терапию.

Данные аутопсии (гепатоспленомегалия, отек мозга) и результаты гистологического обследования (продуктивный васкулит головного мозга, спинного мозга и кожи, полиморфно-клеточные периваскулярные инфильтраты в печени и легких, серозный менингит, миеоидная гиперплазия селезенки и лимфатических узлов, интерстициальный лимфоидный инфильтрат в миокарде) подтвердили клинический диагноз клещевого риккетсиоза.

ДНК *R. sibirica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» была обнаружена как в образцах крови, так и в мозге. *R. sibirica* характеризовалась генами *gltA*, *ompA* и *ompB*, а «*Candidatus R. tarasevichiae*» характеризовалась генами *gltA* и *ompB*.

Выводы. Красноярский край является одним из эндемичных районов для СКТ. Идринский район, в котором произошло присасывание клеща, относится к регионам с высоким уровнем заболеваемости СКТ (80,2 случая на 100 000 человек в 2000–2016 гг.). Иксодофауна этого района представлена двумя видами клещей; из них *Haemaphysalis concinna*, вектор *R. sibirica*, является доминирующим, в то время как *Ixodes persulcatus*, основной вектор «*Candidatus R. tarasevichiae*», встречается реже. В отдельных случаях *R. sibirica* была обнаружена у клещей *I. persulcatus*, а «*Candidatus R. tarasevichiae*» – у *H. concinna* (Rar et al., 2017; Cheng et al., 2016).

Клинические симптомы смешанной инфекции, описанные в этом исследовании, отличаются от типичных СКТ наличием менингеального синдрома и воспаления сосудов головного и спинного мозга. Ранее в Китае был описан фатальный случай риккетсиоза, вызванного «*Candidatus R. tarasevichiae*» (Jia, 2013). В более позднем исследовании выявлен 61 случай инфекции, вызванной *Candidatus R. tarasevichiae*, из которых у 34 пациентов была коинфекция буньявирусом рода *Phlebovirus*, вызывающим лихорадку с синдромом тромбоцитопении. Восемь случаев, вызванных смешанной инфекцией, закончились летально (Liu, 2016).

Случай смешанной инфекции *Rickettsia sibirica* и «*Candidatus R. tarasevichiae*» был описан нами впервые, и этот случай привел к летальному исходу. Мы не выявили в образцах пациента других передаваемых клещами агентов или кишечных вирусов, которые также могут приводить к менингеальному синдрому (Repaud 2015).

Несмотря на высокую распространенность «*Candidatus R. tarasevichiae*» в клещах *I. persulcatus* в разных частях их

ареала (Shpynov 2006, Rar 2017, Igolkina 2015), мы описали первый случай летального риккетсиоза, связанного с «*Candidatus R. tarasevichiae*». Мы предполагаем, что тяжелые клинические проявления развиваются главным образом в случаях смешанной инфекции.

Геновидовой состав возбудителей иксодовых клещевых боррелиозов в природных очагах на юге Западной Сибири

С.А.Рудакова¹, Н.А.Пеньевская¹, Л.С.Карань²

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций»

Роспотребнадзора, г. Омск;

²ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии»

Роспотребнадзора, г. Москва

Территории юга Западной Сибири характеризуются наличием напряженных сочетанных очагов природно-очаговых инфекций, передающихся иксодовыми клещами (ИПК). Первое место по распространенности и общей величине социально-экономических потерь среди всех ИПК занимают иксодовые клещевые боррелиозы (ИКБ). Важнейшей характеристикой данной группы заболеваний является склонность к хроническому течению инфекции с развитием серьезных осложнений со стороны различных органов и систем. Вместе с тем клинические проявления и исходы ИКБ достаточно разнообразны. Одной из причин данного явления может быть неоднородность этиологической структуры возбудителей ИКБ.

С целью определения геновидового состава боррелий, циркулирующих в природных очагах ИПК на юге Западной Сибири, было исследовано бактериологическим (посев на питательную среду BSK-H (SIGMA, США)) и молекулярно-генетическим (ПЦР в режиме реального времени) методами 471 экз. иксодовых клещей, собранных с растительности: 60 экз. *I. persulcatus* (Омский р-н Омской обл.), 60 экз. *I. persulcatus* (Тогучинский р-н Новосибирской обл.), 52 экз. *I. persulcatus* (п. Мирный Новосибирской обл.), 28 экз. *I. persulcatus* и 185 экз. *I. pavlovskiyi* (Академгородок Новосибирской обл.), 86 экз. *I. persulcatus* (Республика Алтай).

Методом ПЦР установлена зараженность боррелиями *Borrelia burgdorferi* s.l.: 8,2% *I. persulcatus* – в Омском районе; 26,3% *I. persulcatus* и 32,4% *I. pavlovskiyi* – в Новосибирской области; 37,5% *I. Persulcatus* – в Республике Алтай. ДНК *Borrelia miyamotoi* была выявлена в *I. persulcatus*, собранных в Омской области (10,0% клещей), в Новосибирской области (15,4% клещей) и в Республики Алтай (17,1%).

На питательной среде BSK-H получены 11 изолятов боррелий, которые были изучены путем секвенирования, установлены нуклеотидные последовательности, определен геновид боррелий, проводится подготовка к депонированию последовательностей в GenBank. Из клещей *I. persulcatus* Омской области выделено 5 штаммов боррелий, из них 4 – *B. garinii*, 1 – *B. afzelii*; из клещей Новосибирской области выделено 5 штаммов боррелий: 3 – из *I. persulcatus* (*B. garinii*) и 2 – из *I. pavlovskiyi* (*B. garinii*); из клещей *I. persulcatus* в Республике Алтай выделен 1 штамм *B. garinii*.

Исследование свойств препарата каталазы методом тандемной MALDI-TOF-масс-спектрометрии с лазерной фрагментацией

И.А.Рябинин, Е.В.Чернец, С.С.Лунина

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

Каталаза является важным молекулярным звеном в системе взаимодействия «многоклеточный хозяин – микроскопический паразит», поскольку выполняет ряд критических функций с обеих сторон системы. Достаточная активность каталазы необходима для поддержания жизнеспособности и фагоцита, и фагоцитированного микроорганизма во время кислородзависимого этапа фагоцитоза. Интересно, что гиперпродукция каталазы связывают у одного из возбудителей аспергиллеза человека – *Aspergillus terreus* – с развитием видовой устойчивости к полиеновым антимикотикам.

Цель исследования – провести аминокислотное секвенирование модельного препарата каталазы для оценки получаемой первичной цепи и выявления сторонних белково-пептидных примесей.

Материалы и методы. Использовали препарат каталазы, выделенный из печени крупного рогатого скота (Реахим, Россия). Масс-спектрометрическое исследование выполнили на инструменте Autoflex speed TOF/TOF (Bruker Daltonik GmbH, Германия) с применением матрицы на основе 1,5-диаминонафталина, в отраженном режиме «top-down-sequencing», фрагментацией «в источнике» (LID, laser-in-source-decay) по методике Fukuyama Y. и соавторов (2006) с изменениями. Аннотирование масс-спектров выполнили в программном обеспечении flexAnalysis, идентификацию полученных аминокислотных последовательностей – в ресурсе rBLAST.

Результаты. Удалось воссоздать 8 различных аминокислотных последовательностей протяженностью до 41 остатка. Для трех цепей обнаружили гомологи в протеоме *Bos taurus* – ими оказались фрагменты предшественника протокадгерина и метилстерол монооксигеназа 1-й изоформы (2). При аннотировании одного из масс-спектров обнаружена пептидная цепь, в которой имеется необычное сочетание серосодержащих и ароматических аминокислот (в коде FASTA): YYACHCGWSMNTKW. Единственный найденный гомолог, как оказалось, является капсомером gp102 бактериофага микобактерий Che9d (порядок *Caudovirales*, семейство *Siphoviridae*). Вероятно, данный бактериофаг контаминировал ткани животного при развитии микобактериальной инфекции.

Заключение. Проведенное исследование подтвердило возможность применения техники MALDI-TDS для выявления потенциальных белково-пептидных примесей препарата сравнительно крупного белка на примере каталазы.

ДНК-аптамеры, связывающие пептидогликан-ассоциированный липопротейн *Legionella pneumophila*

А.К.Рябко, Н.А.Зенинская, М.А.Марьин, Я.О.Мунтян, А.С.Пинчук, М.В.Силкина, Т.А.Иващенко, О.Ю.Манзенюк, В.В.Фирстова, И.Г.Шемякин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Одним из маркеров легионеллезной инфекции является пептидогликан-ассоциированный липопротейн (ПАЛ) – антиген, определяемый в моче у более чем 80% пациентов с легионеллезом. В настоящее время основным инструментом для определения ПАЛ в клиническом материале является иммуноанализ, который позволяет выявить антиген на 2–3-и сутки манифестации заболевания. Разработка диагностических тест-систем с использованием новейших технологических решений, таких как иммуно-аптамерная ПЦР, позволит существенно повысить пределы детекции, что положительно скажется на сроках определения этиологического агента заболевания.

ДНК-аптамеры – это перспективный класс аффинных молекул, одним из преимуществ использования которых в составе тест-систем является возможность амплификации аффинно связанного с мишенью аптамера посредством ПЦР, что позволяет детектировать сигнал даже от единичных молекул-мишеней ненуклеиновой природы.

Целью работы было получение ДНК-аптамеров, связывающих ПАЛ *L. pneumophila*.

ДНК-аптамеры были получены с применением методики, позволяющей избежать коселекции молекул к прочим компонентам системы отбора, а также получить пул аптамеров, максимально обогащенный высокоаффинными олигонуклеотидами. В системе селекции применяли рекомбинантный полипептид, состоящий из GST-тэга, позволяющего иммобилизовать белок на поверхности твердой фазы, и целевой мишени для селекции аптамеров – ПАЛ *L. pneumophila*, разделенных аминокислотной последовательностью специфического субстрата протеазы летального фактора *Bacillus anthracis* для отделения комплекса «мишень-аптамеры» посредством протеолитической элюции. Для элиминации из системы низко- и среднеаффинных специфичных аптамеров применяли компетитор – рекомбинантный белок ПАЛ, не содержащий вспомогательных аминокислотных последовательностей.

Комбинаторную олигонуклеотидную библиотеку инкубировали с полипептидом, иммобилизованным на поверхности глутатион-сефарозы, затем в смесь добавляли компетитор, после чего проводили протеолитическую сепарацию ПАЛ со связанными с ним аптамерами. Эффективность связывания некоторых индивидуальных аптамеров с мишенью оценивали в ПЦР-РВ. Результаты показали, что не менее 30% исследованных аптамеров эффективнее других связываются с целевой мишенью ПАЛ *L. pneumophila*, при этом не проявляя специфической активности в отношении других белков.

Полученные данные позволяют говорить о том, что селективные аптамеры являются перспективными для созда-

ния на их основе тест-системы для определения ПАЛ в клиническом материале.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Фенологические наблюдения за развитием озимой пшеницы при использовании химических фунгицидов и биопрепаратов

Ч.Ю.Саимназарова

Ташкентский государственный аграрный университет, г. Ташкент, Узбекистан

В последние годы, в связи с существенным удорожанием минеральных удобрений, наиболее перспективным методом в решении проблемы повышения продуктивности пшеницы является использование биопрепаратов нового поколения, обладающих полифункциональными свойствами. Нами изучено влияние биопрепаратов комплексного действия Rizokom-2 и Serhosil, созданных в Институте микробиологии АН РУз, на биометрические показатели роста и развития озимой пшеницы сорта Бардош по сравнению с химическими фунгицидами в полевых условиях.

Для предпосевной обработки семян пшеницы использовали химические фунгициды Бахор (Узбекистан) и Celest Top (Италия) и биопрепарат Rizokom-2 (Узбекистан). Для листовой подкормки растений по фазам вегетации использовали биопрепарат Serhosil (Узбекистан).

В результате проведенных полевых опытов нами были получены следующие основные результаты. На фоне NPK, в фазе созревания пшеницы, средняя высота растений увеличивалась на 13,2 см при использовании биопрепаратов Rizokom-2 и Serhosil по сравнению с контролем (традиционный посев). При применении микробиологического удобрения Байкал ЭМ-1 этот показатель превосходил контроль на 4,3 см, при применении фунгицидов Celest Top – на 3,6 см, Бахор – сравнялся с контролем. Средняя длина корней 1 растения увеличивалась на 5 см при использовании биопрепаратов Rizokom-2 и Serhosil по сравнению с контролем (традиционный посев). При применении микробиологического удобрения Байкал ЭМ-1 и фунгицида Celest Top этот показатель превосходил контроль на 1 см, Бахор – сравнялся с контролем. Средний влажный вес растений увеличивался на 30,5 г при использовании биопрепаратов Rizokom-2 и Serhosil по сравнению с контролем (традиционный посев). При применении микробиологического удобрения Байкал ЭМ-1 этот показатель был ниже контроля на 8,7 г, при применении фунгицидов Celest Top – на 8,3 г, Бахор – ниже на 10,09 г. Масса 1000 семян увеличивалась на 20,9 г при использовании биопрепаратов Rizokom-2 и Serhosil по сравнению с контролем (традиционный посев). При применении микробиологического удобрения Байкал ЭМ-1 этот показатель был выше контроля на 4,8 г, при применении фунгицидов Celest Top – на 1,9 г, Бахор – ниже на 3,7 г.

Таким образом, использование биологических препаратов Rizokom-2 и Serhosil оказало наилучший эффект на развитие озимой пшеницы.

Новая микробная биотехнология в биоконтроле болезней пшеницы

Ч.Ю.Саимназарова¹, Г.И.Джуманиязова², С.Б.Каримова²

¹Ташкентский государственный аграрный университет, г. Ташкент, Узбекистан;

²Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В настоящее время для защиты озимой пшеницы от болезней используется большой ассортимент различных химических препаратов. Однако применение их нередко приводит к загрязнению получаемой продукции и ухудшению экологической обстановки в агроценозе пшеницы. В связи с этим вопрос о разработке беспестицидных технологий выращивания сельскохозяйственных культур, в том числе и озимой пшеницы, является весьма актуальным.

В последнее время в системе защиты растений от болезней важную роль стали отводить биологическому методу с использованием микроорганизмов и продуктов их жизнедеятельности, способных подавлять рост и развитие фитопатогенов, индуцировать устойчивость растений.

Нами разработана новая биотехнология для биоконтроля заболеваний пшеницы, суть которой состоит в комплексном использовании двух биопрепаратов: Rizokom-2 (для предпосевной обработки семян пшеницы) и Serhosil (для листовой подкормки растений). На основании проведенных исследований было установлено, что ассоциация из 3 штаммов *p. Bacillus*, входящая в состав биопрепарата Rizokom-2, обладает высокой антагонистической активностью по отношению к 12 изученным фитопатогенам пшеницы (*Fusarium oxysporum* 397, *F. sporotrichioides* 404, *F. fujikuroi* 478, *F. graminearum* 611, *F. solani* 809, *F. graminearum* 819, *Cladosporium herbarum* 403, *Drechslera avenacea* 456, *Drechslera graminearum* 812, *Gliocladium roseum* 485, *Alternaria alternata* 650 и *Bipolaris sorokiniana* 838). Диаметр ингибирования роста фитопатогенов биопрепаратом Rizokom-2 варьировал от 10 до 80 мм (на среде Чапека) и от 40 до 90 мм (на картофельной среде). Предпосевная обработка семян пшеницы биопрепаратом Rizokom-2 оказала наибольшее влияние на биометрические показатели роста и развития проростков пшеницы в лабораторных условиях на искусственно зараженных фитопатогенами почвах по сравнению с контролем и по сравнению с замачиванием семян пшеницы в химических фунгицидах Бахор и Celest Top и микробиологическом удобрении Байкал ЭМ-1. В полевых условиях при комплексном применении биопрепаратов Rizokom-2 и Serhosil не было обнаружено заболеваний пшеницы фузариозной корневой гнилью, черной головней, ржавчиной, альтернариозом, фузариозом и гельминтоспориозом колоса. Урожай пшеницы повысился на 17–20 ц/га.

Поиск и изучение штаммов микроорганизмов, перспективных для создания пробиотического препарата

З.С.Сармурзина¹, К.Д.Закарья¹, Г.Н.Бисенова¹,
М.С.Уразова¹, Д.Н.Гудыно², Б.М.Садыков²,
А.Б.Рысбек¹, А.Б.Абжалелов¹

¹Республиканская коллекция микроорганизмов МОН РК,
г. Астана, Казахстан;

²Майбалыкский рыбохозяйственный питомник, г. Астана,
Казахстан

Возросший экономический потенциал страны, прогнозируемый прирост населения и повысившиеся требования к ассортименту и качеству рыбных товаров определяют необходимость максимального использования всех потенциальных возможностей рыбного хозяйства пресноводных водоемов. Внутренние водоемы Казахстана являются уникальным природным богатством и имеют немаловажное экономическое значение для республики. Учитывая эти факторы и рекомендуемые наукой нормы потребления рыбной продукции (14,6 кг на человека в год), для удовлетворения потребностей населения необходимо довести объем вылова, выращивание товарной рыбы до 272,0 тыс. тонн в год. Развитие мировой морской и пресноводной аквакультуры привело к выявлению большого числа бактериальных болезней. Возникшая в последние годы необходимость развития производства экологически чистой, безопасной и обладающей хорошими вкусовыми качествами рыбопродукции открывает широкую перспективу использования в мировой ихтиопатологической практике препаратов нового поколения, альтернативных химическим антибиотикам. Основу таких препаратов могут составлять безопасные штаммы молочнокислых бактерий.

Целью данного исследования является выделение и изучение молочнокислых штаммов микроорганизмов, перспективных для создания биопрепарата.

Объектом исследований были рыбы семейства карповых, предоставленных ТОО «Майбалыкский рыбохозяйственный питомник» Республики Казахстан. Отбор биологического материала производили из кишечника карповых рыб. Бактериологические исследования проводили по общепринятым методикам. Для посевов использовали питательные среды МРС-бульон (М369-500G) и МРС-агар (М641-500G) (HiMedia, Индия). Предварительную идентификацию проводили с помощью окраски по Грамму, тестов на каталазу, оксидазу и отсутствие роста культур на мясо-пептонном агаре.

В ходе проведенных микробиологических исследований были определены наиболее часто встречающиеся штаммы микроорганизмов, выделенные из кишечника карповых рыб. Установлено, что микрофлора обследованных рыб в основном представлена родами *Lactobacillus sp.* и *Lactococcus sp.* Данные бактерии перспективны для создания биопрепарата пробиотического действия для профилактики и лечения бактериозов промысловых рыб.

Получение суперпродуцента трансальдолазы *Yersinia pestis*

Т.Э.Светоч¹, С.А.Иванов¹, П.Х.Копылов¹,
Е.М.Мазурина², С.В.Дентовская¹, А.П.Анисимов¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
г.п. Оболенск;

²ФГБОУ ВО «Ивановский государственный университет»,
г. Иваново

Методом двумерного электрофореза и иммуноблоттинга антигенного комплекса FV чумного микроба с антимышиной сывороткой и моноклональными антителами E6/H8 обнаружили интенсивный сигнал, источником которого по данным масс-спектрометрии оказался полипептид с молекулярной массой 45 кДа. Первичная последовательность полипептида была гомологична ферменту трансальдолазе (TalB) с молекулярной массой 35–36 кДа (Трухачев А.Л. и др., 2017). Анализ литературы показал, что до настоящего времени не создан штамм-продуцент рекомбинантного белка TalB. Открытую рамку считывания, кодирующую TalB – трансальдолазу (accessionno. GenBank: YPO0463, 954 п.о.), клонировали в составе экспрессирующего вектора pET32b(+) (Novagen) с использованием прямого и обратного праймеров, содержащих сайты для эндонуклеаз рестрикции NdeI и XhoI, соответственно, 5'-AACCGCATATGACCGATAAATTTC-3' и 5'-TTCCTCGAGCAACAAGTCGGAGATCAT-3' в клетках *E. coli* BL21(DE3) для последующей индукции. Клоны-продуценты TalB анализировали методом ДСН-ПААГ в восстанавливающих условиях. Выбранные продуценты культивировали в лабораторном ферментере NewBrunswick объемом 2 л при температуре 37°C в жидкой азрируемой среде LB. Клетки осаждали центрифугированием, лизировали ультразвуком и надосадочную часть пропускали через колонку, упакованную 25 мл TOYOPEARLNi++AF-Chelate-650M с последующей элюцией целевого белка буферными растворами, содержащими имидазол. Препараты TalB диализовали, анализировали ДСН-ПААГ, иммуноблотом и хранили при –80°C.

Впервые получен продуцент белка TalB *Y. pestis* – штамм *E. coli* BL21(DE3)/pET32b-TalB-His6 и целевой белок (40 мг) выделен методом Ni++-хелатной хроматографии. Чистота полученного препарата превышала 96%.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора

Выделение плазмобластов в технологии получения человеческих моноклональных антител, нейтрализующих токсин *Bacillus anthracis*

М.В.Силкина, А.С.Пинчук, М.А.Марьян, Н.А.Зенинская, А.К.Рябко, Я.О.Мунтян, Т.А.Иващенко, В.В.Фирстова, И.Г.Шемьякин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Возбудитель сибирской язвы относится к биологически опасным агентам. Наибольшую опасность представляют собой легочная и кишечная формы сибирской язвы, которые могут возникнуть как в результате хозяйственной профессиональной деятельности человека, так и в связи с угрозами биотерроризма. Антибиотикотерапия на поздних стадиях инфекционного процесса неэффективна. Одним из перспективных направлений при разработке терапевтических препаратов для лечения сибиреязвенной инфекции на поздних стадиях являются моноклональные антитела, способные нейтрализовать действие токсина. Для получения человеческих моноклональных антител необходимо выделить специфический клон плазмобластов, способных синтезировать специфические антитела.

Цель. Определение оптимальных сроков выделения плазмобластов из крови людей после иммунизации живой сибиреязвенной вакциной.

Материалы и методы. У людей, иммунизированных вакциной сибиреязвенной живой сухой на 5, 6, 7, 8-е сутки после вакцинации брали венозную кровь, выделяли В-лимфоциты с помощью набора RosseteSep™ Human B Cell Enrichment Cocktail (Stemcell technologies, Германия). Поверхностные маркеры В-лимфоцитов (5×10^6 клеток/мл) метили моноклональными антителами CD19 BB515, CD20 APC-H7, CD27 APC, CD38 PE-CF594 (eBioscience, США) общепринятым методом. Анализ проводили на проточном цитофлуориметре FACS Aria III (BD, США) с использованием программного обеспечения BD FACSDiva. Путем многократного гейтирования анализировали процентное содержание субпопуляции плазмобластов, имеющих фенотип $CD19^+CD20^loCD38^hiCD27^hi$, выделенных от людей в разные дни после иммунизации, сравнивая с контрольной группой доноров.

Результаты. Результаты исследований показали, что содержание плазмобластов у иммунных доноров превышало значение контрольных доноров на 6, 7, 8-е сутки после вакцинации. Максимальное количество плазмобластов было выявлено на 7-е сутки вакцинального процесса (10,4% у одного донора и 14,1% у второго).

Заключение. На 7-е сутки после иммунизации вакциной сибиреязвенной живой сухой в крови доноров появляется максимальное количество плазмобластов. Данный срок является оптимальным периодом для забора крови у доноров с целью последующего использования в технологии получения токсиннейтрализующих человеческих моноклональных антител.

Работа выполнена в рамках ГК 9Д по Федеральной целевой программе.

Идентификация факторов патогенности в клинике и эпидемиологии *Staphylococcus aureus*

Ю.П.Скрябин, О.В.Коробова, И.П.Мицевич, И.В.Абаев, И.А.Дятлов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Staphylococcus aureus является ведущим возбудителем внутри- и внебольничных инфекций человека, вызывает различные по форме и тяжести заболевания: от легких кожных инфекций до тяжелых форм пневмонии, менингита, эндокардита и др. При инфекциях кожи и мягких тканей наиболее часто выделяются токсинпродуцирующие штаммы *S. aureus*. Среди возбудителей пищевых инфекций токсинпродуцирующие штаммы *S. aureus* занимают третье место. Для этих инфекций определение генов токсинов является обязательным этапом при генотипировании. Дополнительным этапом является определение мобильных генетических элементов, на которых локализируются гены токсинов. Стоит отметить, что различные клональные линии *S. aureus* ассоциируются с различными формами инфекций. Поэтому при расследовании вспышек необходим этап сиквенс-типирования: MLST- и spa-типирования.

При расследовании вспышек пищевых токсикоинфекций необходимо исследовать наличие генов таких факторов патогенности *S. Aureus*, как энтеротоксины, энтеротоксинподобные белки и токсин синдрома токсического шока. При отсутствии перечисленных генов вероятность исполнения этим штаммом роли этиологического агента пищевой инфекции маловероятна. Этиологическим фактором эксфолиативного дерматита являются эксфолиативные токсины А и В. Поиск генов эксфолиативных токсинов А и В должен быть необходимым этапом генотипирования любой вспышки эксфолиативного дерматита. При генотипировании возбудителей вспышек данных инфекций определение клональных линий *S. aureus* является важным этапом исследования. Вспышки эксфолиативного дерматита ассоциированы всего с четырьмя клональными линиями *S. aureus*, вспышки пищевой токсикоинфекции в основном ассоциированы с шестью клональными линиями. Дополнительным этапом исследования является иммунохимическое определение продукции исследуемого токсина. При наличии показаний полногеномный сиквенс возбудителя данной вспышки дает исчерпывающую генетическую информацию об исследуемом штамме. В частности, это позволяет с уверенностью говорить о наличии в геномах возбудителей токсикоинфекций тех или иных мобильных генетических элементов, ассоциированных с этими инфекциями. В результате проведенного расследования появляется возможность идентифицировать доминантный штамм *S. aureus*, который с высокой вероятностью будет являться возбудителем данной вспышки.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Чувствительность к антимикробным препаратам уропатогенных *Escherichia coli* в планктонной форме и в составе биопленок

П.В.Слукин¹, З.М.Ермоленко¹, Е.И.Асташкин¹,
М.Г.Ершова², Е.Д.Полетаева², А.П.Шепелин¹,
Э.А.Светоч¹, Н.К.Фурсова¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск;

²ГУЗ ЯО «Инфекционная клиническая больница №1», г. Ярославль

Цель исследования. Определение чувствительности к антимикробным препаратам (АП) планктонных культур и биопленок уропатогенных *Escherichia coli* (УПЭК) и их принадлежности к O-группам.

Материалы и методы. Штаммы УПЭК ($n = 8$) выделены в 2016–2017 гг. в г. Ярославле от пациентов Инфекционной клинической больницы. Чувствительность к АП планктонных клеток определяли методом микроразведений в бульоне и интерпретировали согласно EUCAST 8.0. Чувствительность к АП биопленок определяли методом аппликации на плотной питательной среде (Детушева и др., 2015). В работе использованы 11 АП, применяемых для лечения заболеваний, вызванных УПЭК, относящихся к 5 функциональным классам: бета-лактамам (ампициллин, AMP; ампициллин/сульбактам, AMS; амоксициллин/клавуланат, AMC; цефотаксим, CTX; цефуроксим, CEF); фторхинолонам (ципрофлоксацин, CIP; левофлоксацин, LEV; норфлоксацин, NOR); аминогликозидам (гентамицин, GEN); фосфомицинам (фосфомицин, FOS) и нитрофуранам (фуразолидон, FD). Принадлежность штаммов к O-группам определяли методом ПЦР со специфичными праймерами на гены *wzx* и *wzy*.

Результаты. Определена принадлежность изучаемых штаммов УПЭК к O-группам O4 ($n = 4$), O25 ($n = 3$) и O75 ($n = 1$). У 6 из 8 штаммов был идентифицирован фенотип множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) к 3 и более функциональным классам АП. Планктонные клетки шести МЛУ-штаммов, относящихся к O4- и O25-группам, были устойчивы ко всем использованным АП, кроме FOS, а три штамма из них – дополнительно к GEN. Планктонные клетки штамма УПЭК O75-группы были устойчивы только к бета-лактамам. Клетки одного штамма O4-группы в планктонном состоянии были чувствительны ко всем тестируемым антибиотикам. В отличие от планктонных культур, биопленки всех изучаемых штаммов УПЭК имели МЛУ и были устойчивы ко всем АП, кроме двух штаммов, которые сохранили чувствительность к CIP и LEV. Уровень устойчивости к FOS для всех штаммов в виде биопленки увеличился более чем в 8–32 раза по сравнению с устойчивостью планктонных клеток; к GEN – более чем в 4 раза; к FD – более чем в 8 раз; к β -лактамам – в 8–16 раз; к NOR – в 8 раз.

Выводы. У шести штаммов УПЭК, принадлежащих к распространенным в мире O-группам O4, O25 и O75, идентифицирована множественная лекарственная устойчивость для планктонных культур. Биопленки, формируемые клетками этих штаммов, были резистентны ко всем антибиотикам,

применяемым для лечения урологических инфекций. Этот факт согласуется с общей тенденцией быстрого распространения эпидемических штаммов УПЭК, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, что является большой проблемой современного здравоохранения.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Влияние ЭМ-ассоциаций на микрофлору деградированных почв

И.Э.Смирнова, А.К.Саданов

ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, г. Алматы, Казахстан

В настоящее время во всем мире отмечается деградация сельскохозяйственных земель, что связано с усилением антропогенной нагрузки на почвы. Для восстановления деградированных почв используются разные способы рекультивации. Одним из наиболее перспективных является биологическое земледелие, основанное на применении ассоциации эффективных микроорганизмов (ЭМ). При внесении ЭМ-ассоциаций в деградированную почву происходит повышение активности биохимических и микробных процессов почвы, что приводит к восстановлению ее плодородия. Целью исследования явилось изучение влияния ЭМ-ассоциаций на восстановление микрофлоры деградированных почв.

Объектом исследования служила ранее созданная ЭМ-ассоциация, в состав которой входили азотфиксирующие, фосфатмобилизующие и целлюлолитические бактерии. Для изучения влияния ЭМ-ассоциации на микрофлору почв были проведены опыты. В деградированную почву, собранную на полях под сахарной свеклой в Жамбылской области Казахстана, вносили клеточную суспензию ЭМ-ассоциации с титром 10^7 кл/мл. В качестве контроля использовали почву без внесения ЭМ-ассоциации.

Установлено, что в деградированных почвах общее количество микроорганизмов (ОМЧ) было крайне низким – 10^5 КОЕ/г почвы, численность бактерий составляла 10^3 КОЕ/г почвы, актиномицетов – 10^2 КОЕ/г почвы, мицелиальных грибов – 10^5 КОЕ/г почвы, дрожжей – единицы. Это свидетельствует о существенном обеднении почвенной микрофлоры и нарушении ее структуры.

Внесение ЭМ-ассоциации значительно активизировало микрофлору почв. Через 30 суток ОМЧ увеличилось до 10^7 КОЕ/г почвы, численность систематических групп также возросла: бактерий – на четыре порядка, актиномицетов – на два порядка, дрожжей – до 10^3 КОЕ/г почвы. В то же время отмечено снижение численности мицелиальных грибов на порядок.

Таким образом, внесение ЭМ-ассоциации приводит к существенному повышению ОМЧ в почве, изменению численности и соотношения основных систематических групп микроорганизмов, что свидетельствует о восстановлении микрофлоры деградированных почв.

Работа выполнена в рамках грантового проекта МОН РК № AP05131526 «Разработка ЭМ-ассоциаций и использование их в комплексной технологии восстановления плодородия деградированных почв юго-востока Казахстана», 2018–2020 гг.

Бактериоциногенные лактобактерии, выделенные из лекарственных растений Узбекистана

Х.А.Сохибназарова, Н.А.Элова, Ш.Н.Имбрагимова, Н.К.Бекмухамедова, Ш.М.Миралимова

¹Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан;

²Центр передовых технологий при Министерстве Инновационного развития Республики Узбекистан

Бактериоцины – антимикробные пептиды, синтезируемые микробными клетками. В настоящее время показано, что бактериоцины обладают как антимикробными, так и антиоксидантными свойствами и имеют высокий потенциал для применения в качестве альтернативы антибиотикам в медицине и пищевой промышленности. Бактериоцины молочнокислых бактерий (МКБ) представляют особый интерес в связи с общепринятой безопасностью как продуцентов, так и их метаболитов.

Целью данной работы было выделение и изучение спектра антимикробного действия бактериоциногенных молочнокислых бактерий, являющихся эндо- и экзофитами лекарственных растений Узбекистана.

Методы исследования. Для выделения МКБ использовали растения *Capsicum frutescens*, *Valeriana officinalis*, *Malva neglecta*, *Menthapiperita*. Бактериоциногенную активность выделенных МКБ определяли методом пятен, как описано у Rodrigues и соавт.

Результаты. Из лекарственных растений выделено 12 видов молочнокислых бактерий, из них 4 вида обладают бактериоциногенной активностью. Из *Capsicum frutescens* выделен бактериоциногенный штамм, идентифицированный как *Lactobacillus casei* П-1, синтезирующий пептид, активный против *Escherichia coli*, *Proteus morgani*, *Listeria monocytogenes*; из *Valeriana officinalis* – штамм *Lactobacillus* с активностью пептида против *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus morgani*, *Staphylococcus aureus*; из *Malva neglecta* – штамм *Lactobacillus*, пептид которого обладает антимикробной активностью против *Escherichia coli*, *Proteus morgani*, *Listeria monocytogenes* и из *Mentha piperita* – штамм *Lactobacillus*, чей бактериоцин активен против *Klebsiella pneumoniae*. В настоящее время отрабатывается методика выделения и очистки бактериоцинов для дальнейшей их характеристики.

Выводы. Выделенные бактериоциногенные молочнокислые бактерии и их антимикробные пептиды перспективны для их дальнейшей очистки и изучения. Они имеют высокий потенциал для применения в качестве антимикробных средств для лечения заболеваний, вызванных чувствительными тест-культурами, в частности – инфекций желудочно-кишечного тракта и дерматологических заболеваний.

Зараженность кровососущих комаров возбудителями туляремии и дирофиляриоза по результатам ПЦР-исследований на территории г. Омска

О.Ю.Старостина¹, Г.В.Берёзкина¹, С.М.Костюченко, В.В.Якименко¹, А.Х.Нурпейсова^{1,2}, С.Ю.Зеликман^{1,2}

¹ФБУН «Омский НИИ природно-очаговых инфекций» Роспотребнадзора, г. Омск;

²ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Омск

Комары – один из основных компонентов комплекса кровососущих насекомых, нападающих на людей и животных. Видовой состав комаров Западной Сибири включает 46 видов, относящихся к 7 родам, которые являются переносчиками возбудителей ряда вирусных, бактериальных и паразитарных болезней человека и животных.

В комарах, собранных в 2016 г. на территории г. Омска и рекреационных зон, определяли наличие ДНК возбудителей дирофиляриоза и туляремии. Всего было собрано 673 комара, из которых сформировали 60 пулов по 5–10 особей в каждом. Кроме того, в исследование были взяты комары из сборов 2010 г. (293 экз., сформировано 35 пулов). ДНК возбудителей дирофиляриоза и туляремии определяли в ПЦР с видоспецифическими праймерами. Индивидуальную зараженность комаров при определении ее в пулах проводили с использованием таблиц, предложенных Тагильцевым А.А. с соавт. (1990) и рассчитанных исходя из распределений редких событий по Пуассону.

ДНК возбудителя *Dirofilaria repens* обнаружена в 28,3 ± 5,8% пулов комаров, собранных в 2016 г., и в 8,6 ± 4,7% пулов из сборов 2010 г. ДНК возбудителя *Francisella tularensis* выявлена соответственно в 18,3 ± 5,0% и в 14,3 ± 5,9% исследованных пулов. Максимальное число зараженных *D. repens* пулов комаров (12 из 18) наблюдалось в партиях переносчиков, собранных в Кировском административном округе на территории частных домовладений, с большим числом собак и расположенной вблизи водоема. В этих сборах содержались комары только рода *Anopheles*. При расчете с использованием таблиц индивидуальная зараженность в данной точке составила 11%. ДНК дирофилярий выявлена также в двух из 14 партий комаров, собранных в 2016 г. в парке отдыха Советского АО, а также в двух из 19 пулов комаров, собранных на левом берегу в пойме р. Иртыш возле жилого массива (в сборах преобладали комары рода *Aedes*). Индивидуальная расчетная зараженность переносчиков составила соответственно 1,5 и 1,1%. ДНК возбудителя туляремии обнаружена в комарах, собранных в пойме на левом берегу Иртыша возле жилого массива (расчетная индивидуальная зараженность 3,7%), в парке Советского АО (расчетная индивидуальная зараженность 2,4%), в Кировском АО на территории частных домовладений (расчетная индивидуальная зараженность 1,2%). Часть исследованных пулов переносчиков содержала одновременно маркеры *D. repens* и *F. tularensis*: ДНК возбудителей туляремии и дирофиляриоза выявлены в 10,5 ± 7,0% пулов комаров, собранных на левом берегу в пойме р. Иртыш возле жилого

массива и в $5,5 \pm 5,4\%$ пулов комаров с территории частных домовладений Кировского АО вблизи водоема. В сборах 2010 г. при индивидуальном исследовании переносчиков маркеры *F. tularensis* присутствовали в 2 комарах ($10,0 \pm 6,7\%$) с территории зоны отдыха Октябрьского АО и в 2 ($5,4 \pm 3,7\%$), собранных в Кировском АО на территории частных домовладений вблизи водоема. На этой же территории ДНК *D. repens* была выявлена в 14 ($37,8 \pm 8,0\%$) из 37 исследованных особей, а в 1 комаре ($2,7 \pm 2,7\%$) присутствовали одновременно маркеры *F. tularensis* и *D. repens*.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о вероятном участии комаров, обитающих в пределах г. Омска, в циркуляции возбудителей дирофиляриоза и туляремии на данной территории. Требуется дальнейшие исследования для оценки риска заражения этими возбудителями городских жителей.

Цитологическое изучение *Pseudallescheria boydii*

А.А. Степанова, Н.В. Васильева

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург

Pseudallescheria boydii (Shear) McGinnis, A.A. Padhye & Ajello – патогенный вид гриба, вызывающий заболевания кожи, диссеминированные и инвазивные инфекции у иммунокомпроментированных пациентов, обычно заканчивающиеся летальным исходом. Изучение ультраструктуры клеток гиф вегетативного мицелия данного вида гриба ранее не проводились.

Цель настоящего исследования – провести сравнительный анализ тонкого строения зрелых клеток гиф *P. boydii* на примере трех штаммов данного вида.

Материал и методы. Культуры трех штаммов (CBS 117410, 117432, 120157) *P. boydii* выращивали на картофельно-декстрозном агаре при 28°C. Для трансмиссионной электронной микроскопии кусочки колоний гриба с разных частей колоний фиксировали через 7 и 20 дней после посева в 3%-м глутаровом альдегиде. Ультратонкие срезы получали на Ультратоме LKB-V и изучали в электронном микроскопе JEM-100 CX II.

Результаты. Клетки гиф содержали по одному ядру эллипсоидной формы ($1,2\text{--}2,0$ мкм) с неровным контуром. В нуклеоплазме наблюдали небольшое количество диффузного хроматина. Уровень вакуолизации низкий. В клетках воздушного мицелия митохондрии многочисленные, полиморфные. Специфической особенностью строения клеток субстратного мицелия было наличие одной гигантской митохондрии – митохондриального ретикулума. Запасные вещества многочисленные, в виде липидных включений, альфа- и бета-гликогена. Липидные включения доминируют. В зрелых клетках вегетативного мицелия встречали редкие, короткие, слегка искривленные цистерны эндоплазматического ретикулума с редкими рибосомами. Трубочки агранулярного ретикулума и одиночные цистерны Гольджи не обнаружены. Секреторные пузырьки встречались редко. Они были прикреплены к клеточным стенкам, мелкие, светлые. Цитозоль умеренной элек-

тронной плотности, с многочисленными свободными рибосомами. Клеточные стенки тонкие ($0,2$ мкм), однослойные. Клетки гиф субстратного мицелия синтезировали обильные скопления внеклеточной слизи разнообразной морфологии.

Выводы. Проведенные исследования показали сходство в строении зрелых клеток гиф вегетативного мицелия трех изученных штаммов *P. boydii*. Они имели ультраструктурный облик высокоактивных. Выявленные особенности тонкого строения могут представлять диагностическое значение при определении данного вида гриба.

Резистентные к антибиотикам *Klebsiella pneumoniae* в микробиоте кишечника здоровых лиц

Л.В. Сужаева, Е.В. Войтенкова,
А.В. Забровская, Л.А. Кафтырева

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

Klebsiella pneumoniae вызывает широкий спектр инфекционных заболеваний, включая пневмонии, инфекции мочевых путей, бактериемии и абсцессы печени. Ранее считали, что *K. pneumoniae* способна вызывать серьезные инфекции прежде всего у лиц с ослабленным иммунитетом, но недавнее появление и распространение гипервирулентных штаммов расширило число людей, восприимчивых к этим инфекциям, в том числе здоровых. Кроме того, штаммы *K. pneumoniae* становятся все более устойчивыми к антибиотикам, что создает особые трудности в лечении. Бактерии рода *Klebsiella* достаточно часто колонизируют слизистую дистальных отделов желудочно-кишечного тракта детей и взрослых, являясь частью микробиоты.

Цель. Выявить частоту встречаемости *K. pneumoniae* среди представителей кишечной микробиоты клинически здоровых взрослых и детей и определить чувствительность штаммов к антимикробным препаратам (АМП).

Результаты. Проанализирован состав микробиоты 180 человек в возрасте от 1 месяца до 65 лет согласно ОСТ 91500.11.0004-2003 «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника». Бактерии рода *Klebsiella* были выявлены в 39,4% (95% ДИ: 32,6–46,7) случаев в количестве, превышающем 10^5 КОЕ/г., при этом в 25,0% (95% ДИ: 19,2–31,8) случаев выделена *K. pneumoniae*. Диско-диффузионным методом изучена чувствительность этих штаммов к 7 группам антибиотиков (защищенные пенициллины, цефалоспорины, хинолоны, аминогликозиды, тетрациклин, хлорамфеникол, нитрофураны). 51,1% (95% ДИ: 37,0–65,0) выделенных штаммов были устойчивы к одному и более АМП. Множественная резистентность (устойчивость к 3 и более классам АМП) обнаружена у 11,0% (95% ДИ: 4,8–23,5) изолятов. Наибольшая резистентность отмечалась к амоксиклаву (31,1% штаммов), наименьшая – к амикацину (4,4% штаммов). Штаммов, устойчивых к карбапенемам, выявлено не было. Устойчивость к остальным группам АМП находилась в пределах от 8,9% (хлорамфеникол) до 22,2% (гентамицин).

Выводы. Исследование показало, что в составе кишечной микробиоты каждого четвертого клинически здорового чело-

века присутствуют штаммы *Klebsiella pneumoniae*, половина из которых устойчива к одному и более антимикробному препарату. При этом более 10% штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от здоровых людей, обладают множественной резистентностью к антибиотикам. Подобные штаммы могут служить резервуаром детерминант резистентности для других энтеробактерий, включая возбудителей острых кишечных инфекций.

Комменсальные штаммы *Escherichia coli* и резистентность к бета-лактамам

Л.В.Сужаева, С.А.Егорова, Л.А.Кафтырева

ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
Роспотребнадзор, г. Санкт-Петербург

В современных условиях по оценке ВОЗ устойчивость возбудителей к антимикробным препаратам (АМП) представляет глобальную проблему, которая должна быть решена безотлагательно. Одним из направлений «сдерживания» антибиотикорезистентности является мониторинг циркуляции резистентных штаммов микроорганизмов, а также генов, детерминирующих устойчивость к АМП.

Исследования последних лет показали высокий уровень устойчивости к АМП *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* – возбудителей нозокомиальных и внебольничных инфекций. Однако штаммы, устойчивые к АМП, могут входить и в состав микробиоты кишечника здоровых лиц.

Диско-диффузионным методом изучена чувствительность к 9 группам АМП 511 комменсальных штаммов *E. coli*, выделенных из испражнений детей в возрасте от 1 месяца до 17 лет, проживающих в Санкт-Петербурге. У штаммов, нечувствительных к бета-лактамам, изучили механизмы резистентности, используя метод ПЦР с электрофоретической детекцией со специфическими праймерами к генам, кодирующим бета-лактамазы. К 1 и более классам АМП были устойчивы 39,3% выделенных штаммов, при этом 16,6% изолятов характеризовались множественной резистентностью (устойчивы к 3 и более классам АМП). Резистентные и полирезистентные штаммы одинаково часто выделяли от детей всех возрастных групп (от 1 месяца до 17 лет). К ампицилину не были чувствительны 29,5% штаммов, при этом 11,2% были нечувствительны и к цефалоспорином. Установлено, что механизм резистентности к ампициллину связан с продукцией бета-лактамаз молекулярных классов TEM, SHV и OXA; к цефалоспорином – CTX-M, TEM, SHV и AmpC. Наиболее распространенными являются гены бета-лактамаз молекулярного класса TEM (22,7% штаммов) и CTX-M (9,6%). У 8,4% штаммов *E. coli* обнаружена одновременная продукция нескольких бета-лактамаз. Штаммы эшерихий, продуцирующие бета-лактамазы, в отличие от штаммов их не продуцирующих, статистически значимо чаще являются резистентными и к другим группам АМП (хинолоны, аминогликозиды, хлорамфеникол, тетрациклин, ко-тримоксазол).

Полученные результаты свидетельствуют, что заселение кишечника устойчивыми штаммами энтеробактерий начинается в раннем детском возрасте. В условиях широкого использования АМП в медицине, ветеринарии, сельском хо-

зяйстве и пищевой промышленности такие штаммы длительно сохраняются в микробиоте детей и взрослых, делая их потенциальными источниками детерминант резистентности для энтеробактерий – возбудителей острых кишечных и гнойно-септических инфекций.

Деконтаминация парами пероксида водорода – надежный и эффективный метод дезинфекции помещений

В.И.Супрун, В.А.Сорокин

ООО «Миасский завод медицинского оборудования»,
г. Миасс

Технология обеззараживания парами пероксида водорода (HPV – Hydrogen Peroxide Vapour) существует два десятилетия и основана на бактерицидных свойствах свободных радикалов, образуемых пероксидом водорода H_2O_2 . По этой технологии HPV получают посредством мгновенного испарения водного раствора H_2O_2 . Процесс эффективен при нормальной температуре и относительной влажности окружающей среды. Равномерное поступление HPV при должной экспозиции обеспечивает покрытие каждой поверхности слоем H_2O_2 примерно в 1 мкм, что обеспечивает надежную бактерицидную эффективность и при этом не оказывает разрушающего действия на покрытие поверхностей и оборудование в обрабатываемом помещении в отличие от обработки парами формальдегида. Микробы сами служат центрами микроконденсации, повышая избирательность и скорость процесса.

Пары пероксида водорода биодеактивируют широкий ряд микроорганизмов: бактерии, включая эндоспоры, вирусы, в том числе бактериофаги, грибы и даже прионы. Биологическая эффективность HPV в целом хорошо проверена на широком ряде микроорганизмов. Эффективность HPV доказана против наиболее устойчивых по Сполдингу (классификация относительной устойчивости различных микроорганизмов к стерилизации и дезинфекции, широко принята в фармацевтической и биофармацевтической индустриях) микроорганизмов – бактериальных эндоспор.

Технология HPV обладает прекрасной материалосовместимостью, масштабируется в любых объемах икратно снижает количество микроорганизмов в обрабатываемом помещении. В отличие от альтернативных видов дезинфекции, которые могут вызвать повреждение оборудования, технология HPV позволяет клиентам оставить сложное электронное и оптическое оборудование (даже компьютеры!) в помещении на время биодеконтаминации. Многократная обработка HPV не вредит чувствительной электронике. HPV не канцерогенен, используется при низкой температуре в паровой фазе и не оставляет остатка: нет нужды вытирать остаток после обработки, что уменьшает общее время простоя и обеспечивает безопасное для персонала использование оборудования и помещения. Последние запатентованные разработки технологии позволяют объединять многочисленные генераторы паров пероксида и аэраторы, делая процесс деконтаминации широко масштабируемым. Эта модульная система управляется с одного контрольного компьютера или смартфона, позволяя деконтаминировать большое количе-

ство мест, таких как операционные залы, чистые помещения, фармацевтические предприятия и другие объекты.

Быстрая, эффективная, доступная и безопасная технология HPV имеет подтвержденный опыт надежной деконтаминации в медицинском, биофармацевтическом и фармацевтическом секторе. В настоящее время разработана и выпускается медицинской промышленностью отечественная аппаратура по технологии HPV, отличительными особенностями которой являются высокая производительность, безопасность, эффективность и экологичность, благодаря чему возможно широкое применение метода HPV-распыления в практике биодеконтаминации.

В России впервые разработан и начат выпуск оборудования для надежной и экономичной дезинфекции (обеззараживания) помещений путем распыления раствора перекиси водорода – Деконтаминатор HPV–AMS. Оборудование предназначено для использования в помещениях медицинского, фармацевтического и пищевого назначения, лабораториях микробиологического, вирусологического и бактериологического профилей, помещениях лечебных организаций: операционных, больничных палатах, боксах и изоляторах. Специалисты прогнозируют высокую востребованность технологии HPV и нового оборудования в различных сферах, где требуется надежная, экономичная и автоматизированная дезинфекция помещений.

Получение высокоочищенного бактериоцина, секретируемого клетками *Enterococcus faecium*, для борьбы с листериозом

В.И.Суровцев, В.М.Борзенков, В.П.Левчук

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Цель исследования. Получение электрофоретически чистого бактериоцина *Enterococcus faecium* с общей активностью 70% от активности в культуральной жидкости.

Материалы и методы. Штамм-продуцент *E. faecium* 1073, питательная среда MRS, тест-культура *Listeria monocytogenes* 776, карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ), изопропанол, CH_3COOH , NaOH . В работе использованы методы ультрафильтрации на полых волокнах, центрифугирования, электрофореза в ПААГ, гидрофобной и ионной хроматографии.

Результаты. Бактериоцины – группа амфифильных рибосомально синтезируемых пептидов (2–7 кДа), секретируемых некоторыми микроорганизмами. Молочнокислые бактерии *E. faecium* продуцируют бактериоцин, лизирующий клетки *L. monocytogenes*. Очистку проводили следующим образом. После ферментации 1,75 л культуральной жидкости концентрировали в 10 раз на фильтрационном аппарате с полыми волокнами, разделяли на фракции: клеток (центрифугирование 5000g, 10 мин), фрагментов клеточных стенок (центрифугирование 10000g, 15 мин, pH 2,7) и супернатанта. К клеткам добавляли 40 мл 50%-го изопропанола в 0,9%-м NaCl , а к фрагментам – 40 мл изопропанола в воде. Бактериоцин с поверхности в результате «гидрофобной»

хроматографии выходил в раствор. Изопропанол и часть воды упаривали на роторном испарителе и объединяли со 170 мл концентрата культуральной жидкости. Концентрировали на ячейке «Amicon» (США) с мембраной PM-10 до 40 мл и дважды диализовали против 0,02М фосфатного буфера, pH 7,3. Затем значение pH доводили до 5,0 и раствор наносили на колонку с КМЦ (1,5 × 10), уравновешенную 0,05М ацетатным буфером, pH 5,0. Раствор низкомолекулярного бактериоцина в слабощелочных условиях образует ассоциаты, которые можно диализовать. Использовали ступенчатый градиент с шагом 0,1М. Электрофоретически чистый продукт получали при концентрации NaCl , равной 0,7М. Выход ~ 70% от содержания в КЖ (28 мг/л, среднее из трех опытов). В опытах *in vitro* показано, что очищенный препарат обладает выраженным бактериоцидным действием против 10 штаммов *L. monocytogenes*.

Выводы. Показано, что очищенный бактериоцин эффективен против клеток различных штаммов *L. monocytogenes*. Методы, использованные в данной работе, применимы для очистки других бактериоцинов.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора.

Исследование межмолекулярных взаимодействий методом поверхностного плазмонного резонанса

В.М.Тедиков, С.Ф.Бикетов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Существенным преимуществом метода поверхностного плазмонного резонанса (ППР) по сравнению, например, с радиоактивными и люминесцентными методами является возможность изучать межмолекулярные взаимодействия без предварительного мечения компонентов реакции. Качественная и количественная оценка взаимодействий в режиме реального времени опирается на явление, открытое еще в 1957 году. Однако ППР используется в биологических исследованиях лишь с начала этого века благодаря появлению фирменных анализаторов.

Как известно, при переходе из одной оптической среды в другую луч света преломляется, отклоняясь в сторону более оптически плотной. При увеличении угла падения достигается значение, когда луч скользит по поверхности раздела сред. И, наконец, при еще большем увеличении угла наступает т.н. полное внутреннее отражение, когда луч отражается назад от границы сред под тем же углом, что упал. В то же время электромагнитная составляющая светового потока все-таки поступает во вторую среду, но лишь на глубину половины длины используемой волны. Именно эти свойства света используются в анализаторах ППР.

В приборе Horiba SPRI Lab+ поляризованный монохроматический пучок света подается на боковую грань шестигранной призмы и освещает рабочую поверхность биосенсора, расположенную на верхнем основании призмы. Используется два типа биосенсоров: с верхним основанием призмы, исходно по-

крытым золотом, и тонкой стеклянной пластинкой, покрытой золотом, которая с помощью иммерсионного масла прикрепляется к стеклянной призме. Толщина напыления золота в обоих случаях составляет 50 нм, а рабочая поверхность для нанесения точек – менее трети площади грани призмы.

Электромагнитная составляющая светового пучка при полном внутреннем отражении проникает через слой золота и поступает в водную среду микрочае́йки. Прохождение через слой золота способствует возбуждению ППР. Плазмоны – это квазичастицы, введенные для характеристики электростатического поля электронов в тонком слое золота, серебра и других металлов. Возмущения этого поля по сравнению с теоретическими расчетами, учитывающими колебания электронов внутри кристаллической решетки, обусловлены, прежде всего, поверхностными электронами. Продуктом квантования этого поля избыточных возмущений и являются плазмоны. В обычных условиях они проникают в обе граничащие с золотой пластиной среды, при резонансе – лишь в направлении светового потока, т.е. в водную среду.

Один из исследуемых компонентов должен быть иммобилизован на поверхности золота, которая функционализируется подходящим для используемых лигандов методом. Последние наносятся точками с диаметром 150–500 мкм металло-керамическими иглами робота печати биочипов. Подготовленный к работе биочип вместе с поддерживающей оправой вставляется в специальное гнездо и поджимается вверх до контакта с пластиковой крышечкой с гексагональной резиновой прокладкой внутри. Так над биосенсором формируется микрочае́йка с объемом 11 мкл, где и разворачиваются реакции, фиксируемые прибором.

Рабочий буфер, пройдя дегазатор, подается перистальтическим насосом в микрочае́йку, и специальная программа определяет параметры для ППР каждой из нанесенных точек. Информация обеспечивается благодаря цепочке фотодиодов, детектирующих отраженный свет, и встроенной цифровой камере и сохраняется в виде файлов с цифровыми значениями углов падения и изображений рабочей поверхности биосенсора. Для введения аналита (вещества, которое должно взаимодействовать с иммобилизованным лигандом) имеется петля с переключающим клапаном. Клапан перекрывает поток рабочего буфера, затем в петлю шприцем вводится исследуемый раствор и клапан вновь переключается в рабочее положение для подачи аналита в микрочае́йку.

Когда вводится аналит и в ячейке начинают формироваться комплексы лиганд-аналит, поступающие в зону реакции плазмоны меняют диэлектрическую проницаемость среды, а значит, и ее оптическую плотность. Система измеряет изменения падающего луча и строит на основании этих данных т.н. сенсограмму, отражающую силу и специфичность взаимодействия. Точность измерения очень высока. Например, отклонение угла всего на одну десятитысячную градуса соответствует связыванию 1 пкг лиганда. Построение сенсограммы длится 12 минут, после чего следует цикл десорбции, во время которого под действием регенерирующего буфера лиганды освобождаются для изучения других взаимодействий.

Прибор позволяет исследовать взаимодействия молекул размером от 240 Да, включая белки, пептиды, ДНК, РНК, ЛПС, дипиды, вирусы, микроорганизмы и клетки эукариот.

Делаются попытки использовать его для диагностики инфекций, изучения процессов формирования и разрушения биопленок и пр.

Нами исследовались взаимодействия мкАТ и АГ листерий и легионелл (любезно предоставлены Ветчининим С.С. и Шевяковым А.Г.) а также противосибиреязвенного гамма-глобулина с убитыми спорами *B. anthracis* СТИ, сибиреязвенным фагом и лизатами клеток *E. coli*, продуцирующими сибиреязвенный протективный антиген. Маточные растворы и суспензии, включая контроли (споры *B. subtilis* v. *niger*, лизат *E. coli* без рекомбинантной плазмиды, противодифтерийный гамма-глобулин) разводились рабочим буфером в 10, 100 и 1000 раз и наносились роботом с иглой 500 мкм на поверхность биочипа. Далее сенсограммы получали по описанной выше процедуре.

Анализ сенсограмм, выполняемый с помощью специальной программы, показал высокую специфичность и чувствительность метода для выбранных компонентов (изменение индекса рефракции составляло от 7 до 20). Наиболее перспективным для дальнейших исследований представляется взаимодействие бактериофага с компонентами гамма-глобулина и убитыми спорами *B. anthracis* СТИ.

Цитотоксичность как показатель вирулентности микроскопических грибов в клеточных культурах культивируемых линий *in vitro*

Д.Л.Терешко, И.В.Новицкая

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Волгоград

Потенциальная патогенность грибов определяется комплексом свойств адаптивного характера, позволяющих им эффективно противостоять защитным механизмам макроорганизма, в связи с чем принципиальное значение приобретает определение токсигенности изолятов. В последние годы для проведения подобных исследований все большее распространение приобретают перевиваемые клеточные линии.

Целью работы являлось изучение *in vitro* цитотоксических свойств условно- и истинно-патогенных микроскопических грибов путем использования культивируемых клеточных линий.

В качестве объектов исследования были выбраны культура клеток рака гортани человека HEP 2 и мышьяная макрофагоподобная клеточная линия Wehi 3. Клетки инкубировали на среде Iscove's MDM с добавлением 10%-й эмбриональной бычьей сыворотки (Биолот) при 37°C в атмосфере 5% CO₂. Пассаж культур проводили каждые 3–5 сут.

В изучении цитотоксичности были использованы микроскопические грибы, полученные из коллекционного центра Волгоградского НИПЧИ (5 штаммов *Histoplasma spp.*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*), а также выделенные от больных с различными хронически-рецидивирующими микозами (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus niger*). Вирулентность культур была подтверждена тестами чувствительности к противогрибковым препаратам.

Культуру перевиваемых клеток смывали бессывороточной средой после предварительной трипсинизации и раска-

пывали в 96-луночные планшеты по 50 мкл с разделением на контрольные и опытные образцы.

Микромицеты культивировали в питательной среде Iscove's MDM в течение недели при 37°C, после чего фильтровали (фильтр Millex-GS 0,45мкм). С начальной концентрацией 0,6–0,7 мг белка/лунку аликвоты титровали двойным шагом в объеме 50 мкл, затем наслаивали на клетки перевиваемых линий. Контролем служили лунки, в которые была добавлена интактная среда.

Выживаемость клеток после добавления фильтратов оценивали в МТТ-тесте на 3, 5 и 7-е сут, в котором метаболически активные клетки с неповрежденными митохондриями были способны восстанавливать тетразолиевый краситель в формазан.

Более удачной для проведения МТТ-теста оказалась культура Wehi 3, где по результатам спектрофотометрии при 550 и 650 нм четко прослеживалась корреляция между показателями выживаемости клеток перевиваемой линии и длительностью инкубации с фильтратами грибных культур.

Наибольший уровень цитотоксичности продемонстрировали возбудители особо опасных микозов в мицелиальной фазе роста, в частности *C. immitis*, а также культуры условно-патогенных микромицетов, выделенные от больных (*C. albicans*, *C. neoformans*, *A. niger*).

Таким образом, МТТ-тест с полным основанием может быть рекомендован к использованию в исследованиях по изучению вирулентности культур микромицетов.

Встречаемость широкого круга бактериальных агентов в гибридах *Ixodes persulcatus*/*Ixodes pavlovskyi* в различных симпатрических очагах

Н.В.Тикунова¹, В.А.Рар¹, Н.Н.Ливанова^{1,2}, Ю.Сабитова¹, Я.Иголкина¹, А.Тикун¹, В.Панов², И.Бабкин¹

¹ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины» СО РАН, г. Новосибирск;

²ФГБУН «Институт систематики и экологии животных» СО РАН, г. Новосибирск

Совместное обитание клещей *Ixodes persulcatus* и *Ixodes pavlovskyi* зарегистрировано в различных регионах Западной Сибири, включая области традиционного распространения клещей *I. pavlovskyi* (Алтай, Кузбасс) и территории их недавнего распространения (Новосибирская и Томская обл.). Обнаружение гибридов *I. persulcatus*/*I. pavlovskyi* в симпатрических очагах показало необходимость исследования их роли в поддержании природных очагов инфекций, переносимых клещами.

Для изучения встречаемости гибридов *I. persulcatus*/*I. pavlovskyi* и степени их инфицированности бактериальными агентами были проанализированы 1013 иксодовых клещей из 2 сайтов Республики Алтай и 920 – из 5 сайтов Новосибирской обл., соответственно традиционные и недавно заселенные местообитания *I. pavlovskyi*. Вид каждого клеща определяли секвенированием фрагмента ITS2 (ядерный локус) и видоспецифической ПЦР гена *cox1* (митохондриальный локус). Выявление и генотипирование бактери-

альных агентов проводили, используя nested-PCR с последующим секвенированием.

Результаты исследования показали, что обилие гибридов было максимальным в местах, где оба родительских вида клещей встречались в близких пропорциях, и достигало 38%. Выявление генотипов, свидетельствующих о возвратном скрещивании, продемонстрировало вероятность фертильности гибридов F1.

Гибриды *I. persulcatus*/*I. pavlovskyi* могут быть инфицированы теми же видами бактериальных агентов, что и родительские виды: *Borrelia afzelii*, *B. bavariensis*, *B. garinii*, *B. miyamotoi*, *Rickettsia helvetica*, *R. raoultii*, *R. sibirica*, «*Can. R. tarasevichiae*», *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia muris*, «*Can. Neoehrlichia mikurensis*». Встречаемость большинства бактериальных агентов в гибридах была промежуточной по сравнению с таковой для родительских видов. Гибриды статистически значимо чаще были инфицированы *B. afzelii* и *B. bavariensis* и статистически значимо реже – *B. garinii*, чем *I. pavlovskyi*; и наоборот, в гибридах статистически значимо реже встречались *B. afzelii* и *B. bavariensis* и статистически значимо чаще – *B. garinii*, чем в *I. persulcatus*. ДНК *B. miyamotoi* обнаруживалась в гибридах из Республики Алтай в 2 раза чаще, чем в гибридах из Новосибирской обл., однако разница была статистически незначительна, как и разница с встречаемостью в родительских видах клещей. «*Ca. R. tarasevichiae*» выявлялись в гибридах статистически значимо чаще, чем в *I. pavlovskyi*, и, соответственно, статистически значимо реже, чем в *I. persulcatus*. Статистических различий во встречаемости других видов риккетсий в гибридах и родительских видах обнаружено не было.

Большинство генетических вариантов бактериальных агентов, обнаруженных в гибридах, ранее выявлялись в родительских видах клещей, а обнаруженные новые генетические варианты совпадали или были близки с новыми генетическими вариантами, идентифицированными в ходе исследования в родительских видах клещей, собранных в тех же регионах, что и гибриды.

Работа выполнена по Государственному заданию, проект 0309-2016-0002.

Иммунопатогенетические особенности хронического продуктивного остеомиелита нижней челюсти по результатам оценки экспрессии рецепторных молекул клеточной активации

С.А.Трофимов, И.П.Балмасова, Е.Н.Николаева, А.Ю.Дробышев, В.Н.Царёв

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

Хронический остеомиелит челюсти – инфекционный воспалительный процесс одонтогенной природы, который за последние годы существенно изменил свою клиническую картину – среди пациентов детского и юношеского возраста возрастает частота так называемых продуктивных форм

хронического остеомиелита. Основным патогенетическим фактором, по-видимому, являются нарушения иммунных процессов, патогенез которых остается недостаточно изученным.

Цель исследования: изучение взаимосвязи параметров иммунного статуса у больных хроническим остеомиелитом нижней челюсти и особенностей клинического течения для выяснения перспектив применения иммуноотропных препаратов.

Материалы и методы. У 34 больных хроническим (продуктивным) остеомиелитом провели комплекс клинических, рентгенологических и иммунологических исследований с использованием моноклональных антител к CD-маркерам иммунокомпетентных клеток на проточном цитометре с двойной флуоресцентной меткой.

Результаты. В результате обследования у 1/3 пациентов выявлены признаки иммунодефицитного состояния и дисбаланс маркеров клеточной активации. В связи с этим 19 пациентов получали иммуноотропную терапию полиоксидонием (парентерально в течение 7 дней), остальные – традиционное лечение. При применении полиоксидония, в отличие от контрольной группы, происходило увеличение количества всех субпопуляций лимфоцитов (CD4⁺, CD8⁺, естественных киллеров) и экспрессии некоторых рецепторов клеточной активации (CD11b, CD25, CD71, CD95).

Заключение. Углубленная оценка параметров системного иммунитета у больных хроническим остеомиелитом с последующим назначением иммуноотропного препарата полиоксидония повышает эффективность комплексного лечения хронического (продуктивного) остеомиелита.

Использование дезинфекционных препаратов различной природы в ветеринарных лабораториях при проведении работ с микроорганизмами II–IV групп патогенности бактериальной и вирусной природы

Е.А.Тюрин, Л.И.Маринин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

В настоящее время вопросы выбора и использования дезинфицирующих средств при работе с патогенными биологическими агентами (ПБА) остаются очень острыми. В соответствии с положениями нормативных документов все работы (диагностические, экспериментальные, коллекционные) с ПБА в лабораториях различных ведомств, в том числе ветеринарного профиля, необходимо проводить согласно требованиям биологической безопасности, соблюдая правила дезинфекционного режима.

Особое значение это приобретает в случае работ, проводимых с диагностической целью с материалами, подозрительными или зараженными возбудителями II–IV групп патогенности бактериальной природы, в ветеринарных лабораториях, что весьма актуально, так как произошла реоргани-

зация ветеринарной службы Московской области и специалисты ГНЦ ПМБ были привлечены для проверки состояния лабораторий и оценки соблюдения требований биологической безопасности в них.

Основными видами ПБА, опасными для человека и животных, с которыми могут контактировать сотрудники ветеринарных лабораторий, являются возбудители сибирской язвы, бруцеллеза и бешенства. Данные возбудители относятся ко II группе патогенности, вызывают тяжелые заболевания у отдельных людей, вплоть до смертельного исхода (бешенство), но не передаются от человека к человеку. Другие возбудители являются чистыми зоонозами и не входят в классификацию ПБА, принятую в России. Однако меры биологической безопасности при проведении работ с ними необходимо соблюдать в полном объеме, так как эти инфекции являются карантинными, а возбудитель сибирской язвы входит в первую группу источников, применение которых возможно в актах биотерроризма. К тому же необходимо помнить, что Московская область является природным очагом бешенства, где ежегодно регистрируется несколько сотен случаев заболеваний диких и домашних животных. Следовательно, одним из требований биологической безопасности, помимо организационных, медико-биологических и инженерных мероприятий, является обязательное постоянное использование различных дезинфицирующих препаратов строго направленного действия, гарантированно обеззараживающих материалы, предметы и оборудование в лаборатории.

В ходе проведенных мероприятий было установлено, что специалисты ветеринарной службы используют различные виды дезинфицирующих средств, зачастую не представляя себе последствия применения тех или иных препаратов. Рабочие растворы препаратов хранят в приспособленной таре, не указывая некоторые позиции (дата приготовления). В некоторых лабораториях отсутствовали инструкции по проверке рабочих растворов.

Большинство лабораторий используют, в основном, следующие дезсредства: 5%-й раствор препарата «Вироцид», 70%-й этиловый спирт, 3–4%-е растворы препарата «Хлорамин Б» (без активаторов), 3–5%-е растворы препарата «Биодез-экстра», 3%-й раствор препарата «Жавель Солид», 3%-й раствор препарата «Аламинол», 1%-й раствор препарата «Велтолен», 4%-й раствор едкого натра, 3–10%-е растворы перекиси водорода с добавлением поверхностно активных веществ (ПАВ) или без них и другие.

Все препараты, применяемые в лабораториях, сертифицированы и имеют право на использование в ветеринарных лабораториях. Однако универсальным дезинфицирующим средством при проведении работ с ПБА II–IV групп бактериальной природы является перекись водорода.

Поэтому в целях усиления требований положений биологической безопасности при проведении дезинфекционных мероприятий, особенно при проведении работ с ПБА II группы, на наш взгляд, необходимо выполнять следующие действия.

Четко разграничивать, для каких работ и с каким видом микроорганизмов (вирусы, вегетативные или споровые формы) будет использован тот или иной дезинфектант.

Необходимо унифицировать набор препаратов, то есть создать некий перечень для всех лабораторий ветеринарной

службы. Это позволит закупать те препараты, которые сертифицированы, и проводить проверку рабочих растворов методами и тестами, для которых разработана соответствующая нормативная документация (рекомендации, инструкции и т.п.).

Использовать препараты, хранящиеся в условиях и таре, предназначенной для этого, а не в приспособленных емкостях, что очень часто выявляется при проведении проверочных мероприятий.

При проведении работ с материалом, подозрительным на наличие возбудителя сибирской язвы, дезинфекционные мероприятия проводить только с использованием 3–6%-х растворов перекиси водорода с добавлением 0,5% ПАВ.

Эти мероприятия позволят улучшить дезинфекционный режим в лабораториях, предотвратить возможный выход активного материала, в частности возбудителя сибирской язвы, в окружающую среду и совершенствовать требования биологической безопасности.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг.

Изучение микроорганизмов – деструкторов моно- и полициклических ароматических углеводов

**Э.Р.Файзулина, С.А.Айткельдиева,
О.Н.Ауэзова, Л.Г.Татаркина**

*ТОО «НПЦ микробиологии и вирусологии», г. Алматы,
Казахстан*

В настоящее время все более актуальной становится проблема восстановления окружающей среды от отрицательных последствий, вызванных техногенными загрязнениями. В сточных водах и газовых выбросах нефте-, газо- и коксохимических производств содержатся труднорастворимые моно- и полициклические ароматические углеводороды. Они являются основными ароматическими компонентами многих нефтепродуктов и встречаются как загрязняющие вещества в почве и грунтовых водах, что создает серьезную угрозу для здоровья и благосостояния населения, поскольку они обладают токсическими, мутагенными и канцерогенными свойствами. В связи с серьезной опасностью для окружающей среды моно- и полициклические ароматические углеводороды стали в последнее время объектом всесторонних исследований. Актуальным направлением является микробиологическая деградация этих соединений, что обусловливается перспективностью использования микроорганизмов для очистки окружающей среды от техногенных загрязнений. Биологические способы очистки природной среды наиболее безопасны, эффективны и менее затратны по сравнению с методами химической и физической очистки.

В результате скрининга 65 культур углеводородокисляющих микроорганизмов было выявлено 10 наиболее активных штаммов, способных за достаточно короткий промежуток времени деградировать ароматические углеводороды. Проведены исследования по изучению их роста в минеральной среде с о-ксилолом, нафталином и флуореном в качестве единственного источника углерода и энергии. Результаты

исследования показали, что уже через 24 ч культивирования в среде практически не оставалось о-ксилола, при этом биомасса исследуемых штаммов увеличивалась в 2–3 раза. Через этот же период времени количество нафталина снижалось наполовину, а биомасса активных культур возрастала в среднем в 2 раза. При росте на флуорене его убыль отмечалась на 5 сутки культивирования, биомасса при этом увеличивалась в 2–4 раза.

На основе активных штаммов углеводородокисляющих микроорганизмов будут созданы ассоциации, способные эффективно утилизировать моно- и полициклические ароматические углеводороды в почвенных и водных экосистемах.

Оценка эффективности аэрозольного метода дезинфекции воздуха и поверхностей для применения в лечебно-профилактических организациях

**М.В.Фурсов, Н.С.Грищенко, Т.И.Рудницкая,
В.В.Кузин, В.Д.Потапов**

*ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора,
г.п. Оболенск*

Одним из базовых элементов стратегии в области развития здравоохранения является предоставление качественной медицинской помощи населению и создание безопасной медицинской среды. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), являются важнейшими составляющими этой проблемы в силу широкого их распространения и негативных последствий для здоровья пациентов, персонала и экономики государства. По этой причине технологии, позволяющие быстро и эффективно уничтожать микроорганизмы в воздухе, становятся остро востребованными не только в медицине, но и в других областях жизнедеятельности человека.

Цель исследования: оценка эффективности аэрозольного метода дезактивации основных возбудителей ИСМП на поверхностях различных тест-объектов (металл, пластик, окрашенное дерево, метлахская плитка, стекло).

Материалы и методы. Оценка эффективности средства Green Dez в отношении штаммов *Staphylococcus aureus* FDA 209-P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 0586, *Streptococcus pyogenes* БЛ 2014-38, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 17650, *Escherichia coli* ATCC 25922 проводили в соответствии с методикой, описанной в руководстве «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности» (п. 5.2) и методическими рекомендациями ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора «Порядок работы с аэрозолями микроорганизмов с целью проверки эффективности дезинфицирующих средств». В качестве тест-объектов использовали кусочки металла, пластика, окрашенного дерева, метлахской плитки, стекла (100 см²), на которые наносили суспензию микроорганизмов. Обеззараживание проводили способами аэрозолирования (распылением при помощи установки для аэрозольной дезинфекции воздуха и поверхностей «Мобильный

гигиенический центр» (МГЦ), Россия), протирания салфеткой и орошения с применением распылителя «Автомакс АО-2» (Россия) в режиме генеральной уборки в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» и МР 3.5.1.0103-15 «Методические рекомендации по применению метода аэрозольной дезинфекции в медицинских организациях», в которых определены правила проведения дезинфекционных мероприятий в медицинских организациях аэрозольным методом и сформулированы требования к выбору технологического оборудования. Установка МГЦ представляет собой полностью автоматизированный генератор высокодисперсных аэрозолей (от 3,5 до 100 мкм) жидких дезинфицирующих средств различных групп действующих веществ с регулируемой дисперсности, скоростью обработки до 420 мл/мин, максимальным объемом обрабатываемого помещения – 800 м³, снабженный пультом удаленного доступа для мониторинга процесса обработки.

Результаты. В предварительных экспериментах суспензионным методом обнаружена высокая эффективность малых концентраций ДС GreenDez в отношении *S. aureus* FDA 209-P, *S. epidermidis* ATCC 0586, *S. pyogenes* БЛ 2014-38, *P. aeruginosa* ATCC 17650, *E. coli* ATCC 25922. В растворах с концентрациями 0,01; 0,03; 0,05; 0,075; 0,12; 0,15% зафиксирован абсолютный бактерицидный эффект. Установлено, что полная инактивация испытуемых штаммов в воздухе и на поверхностях тестируемых объектов достигается при обработке их аэрозолем GreenDez в концентрации 0,15% по действующему веществу и времени экспозиции 30 мин. Эффективность обеззараживания была одинаковой для тест-объектов, установленных как в зонах свободного доступа аэрозоля, так и в труднодоступных местах (за вытяжным шкафом, под столом).

Выводы. На основании приведенных экспериментальных данных можно сделать вывод о высокой дезинфицирующей способности аэрозоля средства «GreenDez» при инактивации испытуемых штаммов путем обработки как поверхностей, так и воздушной среды помещений.

Генетические линии клинических штаммов грамотрицательных бактерий

Н.К.Фурсова, Е.И.Асташкин, А.И.Лев,
Г.Н.Федюкина, Э.А.Светоч

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболонск

В последние два десятилетия произошло резкое увеличение доли и абсолютного числа бактериальных патогенов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью к антибактериальным препаратам. Пациенты с инфекциями, вызванными лекарственно-устойчивыми бактериями, как правило, имеют худший прогноз лечения и исхода заболевания, лечение их требует больших затрат по сравнению с пациентами, инфицированными аналогичными нерезистентными бактериями. Устойчивость к противомикробным пре-

паратам имеет место во всех регионах мира. Новые механизмы резистентности, возникая в одной части мира, распространяются по всему миру.

Всемирная организация здравоохранения опубликовала перечень патогенов, которые представляют собой наибольшую проблему для здравоохранения во всем мире. В этот перечень включены в том числе представители грамотрицательных бактерий, которые являются актуальными госпитальными патогенами – *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*. На примере этих видов бактерий четко прослеживается тенденция распространения в лечебных учреждениях разных регионов мира определенных эпидемиологически значимых генетических линий возбудителей госпитальных инфекций.

Для *K. pneumoniae* выявлен факт распространения генетических линий, относящихся к двум эволюционным ветвям клебсиелл – классическим *K. pneumoniae*, сКр (сиквенс-типы ST11, ST147, ST218, ST395 и др.) и гипервирулентным *K. pneumoniae*, hvКр (сиквенс-типы ST23, ST86).

Для *A. baumannii* эволюционный успех доминантных клональных линий связывают с их способностью накапливать генетические детерминанты антибиотикорезистентности и вирулентности (клональные комплексы CC1/CC109, CC2/CC45, CC3/CC110). Геномные и генетические исследования продемонстрировали важную роль мобильных генетических элементов в этих процессах.

В эволюции геномов *P. aeruginosa* большую роль сыграли многочисленные бактериофаги псевдомонад и накопление в геномах разнообразных интегронов. На примере *P. aeruginosa* описаны не только лизогенный и литический пути развития фаговой инфекции, но и третий путь – носительство эписомы без интеграции в хромосому хозяйской клетки. В отличие от лизогении, эписома не реплицируется постоянно и может асимметрично сегрегировать между дочерними клетками. К наиболее известным генетическим линиям *P. aeruginosa* в настоящее время относятся сиквенс-типы ST235, ST270, ST234 и др.

В заключение необходимо подчеркнуть, что молекулярно-генетические исследования госпитальных патогенов, особенно анализ их полных геномов, внесли существенный вклад в понимание роли эпидемически значимых генетических линий клинических штаммов грамотрицательных бактерий.

Исследование выполнено в рамках отраслевой НИР Роспотребнадзора и Проекта РНФ № 15-15-00058-П.

Солеустойчивость штаммов бактерий *Bacillus thuringiensis* при культивировании на разных питательных средах

И.М.Халилов, Г.Х.Кадырова, З.С.Шакиров

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

В настоящее время группа бактерий *Bacillus thuringiensis* используется в качестве биоинсектицидного препарата против насекомых-вредителей. Однако мало изучено применение *B. thuringiensis* до посевной обработки почвы (в профилактических целях) и семян растений. При этом использова-

ние инсектицидных бактерий *B. thuringiensis* до посевной обработки зависит от выживаемости бактерий в экстремальных условиях (засоление, пестициды).

В данной работе проводится анализ солеустойчивости энтомопатогенных штаммов *B. thuringiensis* в разных питательных средах.

Степень выживаемости местных штаммов *B. thuringiensis* при различных концентрациях NaCl в течение 3 сут культивирования составляет для штамма *Bt1* – 600 мМ (3,48%), а *Bt26*, *Bt91*, *Bt94* и *Bt18фо* – 1М (5,8%). Однако при 800 мМ NaCl наблюдается снижение титра клеток бактерий *B. thuringiensis* по отношению к контролю от 50% до 60%.

Следует отметить, что при наиболее высоких концентрациях хлорида натрия (900 мМ) штаммы *Bt26* и *Bt94* дают обильный рост и биомассу ($3,3 \times 10^7$ и $3,1 \times 10^7$ КОЕ/мл).

Далее, штаммы *B. thuringiensis Bt1*, *Bt18фо*, *Bt26*, *Bt91* и *Bt94* выращивали в течение 3 сут при концентрации NaCl 500 мМ на среде с добавлением картофельного экстракта (20%), послеспиртовой барды (25%), сухого молока (1%) и пептона (1%). Полученные результаты показывают, что титр клеток штамма *Bt1* на пептонной среде составляет $6,5 \times 10^7$ КОЕ/мл, на картофельной среде – $5,3 \times 10^7$ КОЕ/мл, на среде с добавлением сухого молока – $6,6 \times 10^7$ КОЕ/мл.

Среднестатистические показатели количества клеток штаммов бактерий *B. thuringiensis* на картофельной среде меньше на 19%, а на основе сухого молока больше на 2% по отношению к стандартной пептонной среде.

Таким образом, при производстве инсектицидных препаратов на основе местных штаммов *B. thuringiensis* в производственных условиях целесообразно использование питательной среды с применением сухого молока.

Скрининг питательных сред для выращивания *Bacillus thuringiensis*, активных в отношении гусениц непарного шелкопряда (*Lymantria dispar*)

И.М.Халилов, Г.Х.Кадырова, З.С.Шакиров

Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, г. Ташкент, Узбекистан

Bacillus thuringiensis (*Bt*) широко используется в качестве инсектицидного препарата против непарного шелкопряда. Однако из-за высокой стоимости питательных сред, необходимых для культивирования бактерий данной группы, крупномасштабное производство биопрепаратов на их основе является дорогостоящим. В настоящем исследовании мы попытались разработать экономически эффективную среду на основе местного и доступного сырья.

Штаммы бактерий *B. thuringiensis*, выращенные на картофельной среде, обладают различной степенью инсектицидной активности по отношению к гусеницам непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.). Инсектицидная активность исследуемых культур составляет от 70,0% (*Bth26*) до 93,3% (*Bth91*). Среди испытанных бактерий штамм *Bt91* показывает наибольшую инсектицидную активность (93,3%) в течение 14 суток наблюдения. Среднестатистические данные энтомоцидной активности штаммов бактерий, выращенных

на картофельной среде, в течение 7 суток составляют 51%, а на 14 сутки – 81,6%.

Энтомоцидная активность бактерий *B. thuringiensis*, выращенных на среде, содержащей послеспиртовую зерновую барду, показала, что наибольшей инсектицидной активностью обладают штаммы бактерий *Bt91* (96,6%) и *Bt94* (100%). Средняя энтомоцидная активность всех испытуемых бактерий *B. thuringiensis* в течение 7 суток выращивания составляет 48,71%, в течение 14 суток – 87,53%. Следует отметить, что инсектицидная активность в отношении гусениц непарного шелкопряда значительно выше у штамма №94, выращенного на среде, содержащий барду, чем на среде с картофельным экстрактом.

Активность штаммов бактерий *B. thuringiensis*, выращенных на питательной среде на основе сухого обезжиренного молока, была более высокой по сравнению с вышеупомянутыми питательными средами. Так, штамм *Bt26*, выращенный на среде на основе сухого молока, показал самый высокий титр роста – $5,7 \times 10^8$ КОЕ/мл. Среднестатистическая энтомоцидная активность штаммов бактерий, выращенных на сухом молоке, через 7 дней была 59,55%, после 14 дней достигала 93,3%. На основе полученных данных можно заключить, что питательные среды на основе сухого молока и барды являются дешевыми, эффективными и доступными в производстве препаратов на основе бактерий *B. thuringiensis*.

Возможность использования отечественных питательных сред при выделении микроорганизмов рода *Comamonas*

М.В.Храмов¹, И.П.Мицевич¹,
Л.А.Кафтырева², К.В.Детушев¹

¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и битехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск;

²ФБУН «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора, г. Москва

Представители семейства *Comamonadaceae* рода *Comamonas* (ранее относились к роду *Pseudomonas*) относятся к группе неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ). Типичные представители: *C. aquatica*, *C. badia*, *C. denitrificans*, *C. kerstersii*, *C. testosteroni*. Obligatные аэробы, брожение не осуществляют, хорошо растут на средах с органическими кислотами, аминокислотами или пептоном. Микроорганизмы рода *Comamonas* считаются маловирулентными, встречаются в пробах из внешней среды, в настоящее время часто выделяются при обследовании медицинских учреждений, в пробах пищевых продуктов и из объектов внешней среды. Способны выживать в объектах внешней среды (воде, почве, на растениях), в том числе на медицинском оборудовании, что позволяет отнести их к условно-патогенным микроорганизмам (УПМ). В последние годы появились публикации об этиологической значимости представителей рода *Comamonas* при различных патологиях: катетер-ассоциированные инфекции (бактеремии); пери-

тониты; аппендициты; гнойно-септические инфекции (в ассоциации с другими бактериями); менингиты, являющиеся причиной детской смертности. Этиологическая роль рода *Comamonas* недооценена, поскольку идентификация возбудителя затруднена и возможна только современными методами с применением дифференциально-диагностических питательных сред.

В работе использовались *C. kerstersii* (7 штаммов, выделенные при обследовании испражнений представителей населения Гвинейской республики, 3 штамма от жителей Санкт-Петербурга) и один штамм *C. Aquatica*, выделенный из сточной канавы г. Киндия (Гвинея).

Все культуры перед исследованиями были идентифицированы с применением методов лазерной десорбционной ионизации и времени летной масс-спектрометрии (MALDI-TOF) на масс-спектрометре MALDI – TOF MALDI – Biotyper на базе масс-спектрометра Microflex BRUKER Daltonik GmbH «BRUKER» (Германия) с использованием автоматической программы BRUKER TAXONOMY.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение эффективности практического использования бактериологических питательных сред производства ФБУН ГНЦ ПМБ для выделения микроорганизмов рода *Comamonas*. В зарубежных источниках для выделения данных микроорганизмов рекомендуют использовать колумбийский агар с кровью, шоколадный агар и анаэробный агар с кровью при культивировании 24–48 часов в аэробных и анаэробных условиях при температуре 36°C. При выделении штаммов из фекалий и объектов окружающей среды мы использовали дифференциально-диагностические питательные среды: ТТХ-агар с тергитолом 7, Иерсиниозную среду (ИПС), среду ГРМ №1 с кровью и без при культивировании при температуре 36°C в аэробных условиях 18–24 ч. При сравнительных исследованиях анализировали традиционные питательные среды, используемые для выделения как неферментирующих микроорганизмов, таких как рода *Pseudomonas*, возбудителей внутрибольничных инфекций, бактерий семейства *Enterobacteriaceae*: ГРМ-агар №1 и ГРМ-агар №1 с 7%-й бараньей кровью, SS-агар, агар Плоскирева ГРМ; XLD-агар, среда Левина ГРМ; агар Эндо-ГРМ; Сорбитол *E. coli* O157:H7-агар; Мак Конки – ГРМ-агар; агар Моссея; лактозный ТТХ-агар с тергитолом 7; БФЛС- ГРМ-агар; Сабуро мальтозоагар, цетримидный агар и среда для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза (ИПС-агар).

При выполнении данной работы из культур, выращенных на «Питательном агаре для культивирования микроорганизмов» (ГРМ-агар №1) при температуре 30°C в течение 24 часов готовили микробную взвесь в концентрации 0,5 единиц (что соответствует 1–2 × 10⁸ микробных клеток/мл) с использованием денситрометра Densi La Metr (Чехия). Далее культуру раститровывали общепринятым методом до концентраций 10⁵, 10⁴, 10³ мк.кл/мл. Культуру высевали на питательные среды по 100 мкл. Инкубацию проводили в течение 18–24 часов при 36°C. Учитывали морфологию колоний, характер и скорость роста, чувствительность в КОЕ/мл.

Из полученных результатов по оценке качества питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ при проведении микробиологических исследований и различных экспертных исследований можно констатировать, что их использование позволяет с

успехом и в короткие сроки выявлять микроорганизмы рода *Comamonas*. Сравнивая рост на импортных питательных средах с ростом на отечественных питательных средах, можно сделать вывод о том, что данные микроорганизмы одинаково хорошо растут как на колумбийском агаре с кровью или шоколадном агаре, так и на среде ГРМ №1 с кровью и без крови и на среде агар Левина ГРМ, и приравнять их по чувствительности к 95–100% от оптической плотности. Дифференциация представителей рода *Comamonas* с некоторой потерей чувствительности (от 28 до 44%) лучше всего проявляется на средах ТТХ-агар с тергитолом 7, иерсиниозной среде и БФЛС-агаре.

Генетические аспекты антибиотикорезистентности биопленкоформирующих штаммов клинических изолятов патогенов

В.Н.Царёв, Е.В.Ипполитов, А.А.Арутюнян, А.А.Лабазанов

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

Значительный вклад в формирование резистентности к антибактериальным препаратам вносят адаптационные механизмы микробных популяций, связанные с их персистенцией и формированием микробных биопленок, однако решение вопроса находится в начальной фазе.

Цель исследования: сравнительный анализ частоты выявления генетических маркеров резистентности к антибиотикам, формирующейся у биопленко-формирующих штаммов.

Материалы и методы. Исследовали 66 штаммов, способных формировать биопленку *in vitro*, в том числе 30 штаммов резидентной микробиоты и 36 – облигатно-анаэробных микроорганизмов, выделенных при пародонтите. Определение генетических маркеров резистентности проводили с помощью мультиплексной ПЦР, используя наборы реагентов ООО НПФ «НПФ «Генлаб»» и ООО НПФ «Литех» (Москва). Результаты обработаны статистически по методу Манна–Уитни.

Результаты. В результате проведения ПЦР у клинических изолятов были выявлены генетические маркеры резистентности к β-лактамам антибиотикам (CTX-M и MecA), включая карбапенемы (VIM и NDM), а также к гликопептидам (VanA и VanB), макролидам (Erm), тетрациклинам (Tet) и фторхинолонам (плазмиды). Наиболее часто выявляли ген CTX-M-2: у *S. sanguis* (2 штамма), *S. salivarius* (1 штамм), *S. epidermidis* (2 штамма), *E. faecalis* (1 штамм), *K. pneumoniae* (1 штамм), *V. parvula* (1 штамм), что составило 26,6%. Среди пародонтопатогенных видов ген CTX-M-2 выявлен у *T. forsythia* (1 штамм), *P. gingivalis* (1 штамм), *P. intermedia* (1 штамм), *P. micra* (1 штамм), *S. intermedius* (2 штамма), т.е. с частотой 16,7% (различия в 1,6 раза). Другой ген, контролирующей резистентность к цефалоспорином, – Mec-1 – выявляли реже: у *S. sanguis* (2 штамма) и *S. aureus* (1 штамм), т.е. с частотой 10%, а у пародонтопатогенных видов – *T. forsythia* (1 штамм), *P. gingivalis* (1 штамм) с частотой 5,5% (различия почти в 2 раза). Ген VIM был выявлен у 1-го штамма *P. aeruginosa* (частота для резидентов – 3,3%) и 1-го штамма

P. micra (частота для пародонтопатогенов – 2,8%). Ген, кодирующий резистентность к карбапенемам 2-го типа, – *NDM* – выявлен у 1-го штамма *K. pneumonia* (частота для резидентов – 3,3%) и ни в одном случае у пародонтопатогенов. Ген *OXA-48* не выявлен. Резистентность к гликопептидным антибиотикам (ванкомицину, тейкопланину), кодируемая генами *VanA* и *VanB*, выявлена в единичных случаях. Среди выделенных изолятов с множественной резистентностью к антибиотикам были: *K. pneumonia* – к 5, *S. aureus*, *S. sanguinis*, *P. gingivalis* – к 4, *E. faecalis*, *S. intermedius* – к 3 препаратам. Частота выявления штаммов с множественной устойчивостью среди резидентных видов составила 13,3% (4 штамма), а пародонтопатогенных – 5,5% (2 штамма).

Заключение. Полученные данные о частоте выявления маркеров резистентности позволяют сделать заключение о целесообразности использования ряда препаратов в комплексном лечении анаэробной неклостридиальной инфекции – современные макролиды, тетрациклины, фторхинолоны IV поколения.

Продукция компании Merck для решения микробиологических задач

О.Р.Цветкова

ООО «Мерк»

Merck – одна из ведущих научно-технологических компаний в области здравоохранения, лайф сайнс и высокотехнологичных материалов, главной целью которой является упрощение, ускорение и безопасность исследований и биотехнологического производства.

Life Science – подразделение компании Merck – объединяет в себе продукты и услуги мирового класса, инновационные возможности и исключительный талант компаний Merck Millipore и Sigma-Aldrich. Теперь в нашем портфолио более 300 000 продуктов, среди которых оборудование и материалы для клеточного анализа, стерилизующей фильтрации, клеточные линии ECACC и сопутствующие буферы, реагенты, питательные среды и посуда для подготовки и подсчета клеток, культивирования и детекции, анализа белков, первичные и вторичные антитела.

Не менее широкой аудитории известна продукция компании Merck для решения микробиологических задач, включающая:

- питательные среды: сухие гранулированные, готовые во флаконах, на чашках, кассетах, в пробирках, ампулах (общего назначения, хромогенные, селективные);
- контрольные штаммы микроорганизмов Vitroids™ & LENTICULE® discs;
- экспресс-тесты для определения патогенных микроорганизмов Singlepath. Тесты ReadyCult, представляющие собой наиболее удобную серию тестов на присутствие (отсутствие) колиформных бактерий и *E. coli* (ReadyCult Coliforms) или энтерококков (ReadyCult Enterococcus);
- оборудование для пробоподготовки образцов: автоматические дилуеры DiluCult/DiluCult2 и гомогенизатор ESH;
- биоиндикатор Stericon plus для контроля эффективности паровой стерилизации;

- гребенка-коллектор EZ-Fit – простая оценка микробиологической чистоты образцов с оптимальным микробиологическим восстановлением;
- насос EZ-Stream, мембраны EZ-Pak, диспенсер мембран EZ-Pak;
- оборудование для мониторинга окружающей среды: пробоотборники воздуха семейства MAS 100 для простого и эффективного мониторинга микроорганизмов в воздухе и сжатых газов;
- компактные портативные системы получения чистой и сверхчистой воды.

Все продукты компании Merck проходят строжайшие испытания в центральной лаборатории контроля качества, аккредитованной в соответствии с требованиями ISO 17025 по оценке функциональности микробиологических питательных сред в соответствии с DIN EN ISO 11133:2014 и оценке соответствия отдельным стандартам, таким как ISO 9308-1:2014.

Наша линейка продуктов и технологических решений, сбалансированная география и значительные производственные и исследовательские возможности позволяют нам превосходить и удовлетворять потребности клиентов, так как все, что мы делаем, начинается с нашей общей задачи – решать самые серьезные проблемы в жизни и науке в сотрудничестве с глобальным научным сообществом.

Анализ организации проведения микробиологического мониторинга в лабораториях различного уровня защиты при выполнении диагностических, экспериментальных и коллекционных работ с ПБА

Л.В.Чекан, Е.А.Тюрин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Мониторинг санитарно-эпидемиологического состояния микробиологической лаборатории при проведении работ с ПБА должен оперативно выявлять пути контаминации ПБА, обеспечивая при этом возможность принятия превентивных мер, предупреждающих загрязнение рабочих поверхностей и окружающей среды. Микробиологический мониторинг – один из наиболее важных видов лабораторного контроля в процессе бактериологических исследований, предоставляющий информацию об эпидемиологическом состоянии лабораторного помещения и работы сотрудников. Он позволяет потенциально предотвратить внутрилабораторное заражение, выход ПБА за пределы лабораторного помещения, а также предупредить возможность контаминации в будущем за счет выявления неблагоприятных тенденций. Мониторинг должен осуществляться на основании программы проведения производственного контроля в соответствии с нормативными документами.

Цель работы: провести анализ мероприятий по осуществлению микробиологического мониторинга помещений в «заразной» зоне лабораторий потенциально опасного биологического объекта (ПОБО).

Результаты анализа. Программа микробиологического мониторинга должна включать экстренное устранение любой обнаруженной проблемы по нарушению требований биологической безопасности. Контроль состояния окружающей среды микробиологическими методами не может обеспечить этого ввиду наличия временного промежутка, требуемого для инкубации выявляемых микроорганизмов. Тем не менее оценка микробиологического статуса «заразной» зоны является ценной информацией эффективного контроля состояния производственной среды. Проведение систематического контроля напоминает сотрудникам, непосредственно работающим с ПБА, и обслуживающему персоналу о важности соблюдения требований биологической безопасности. Но для разработки эффективной программы контроля за состоянием внутренней и окружающей среды необходимо обратить внимание на следующие моменты.

Прежде всего необходимо разработать письменный план действий, включающий в себя следующие моменты:

- указание времени и места забора проб;
- определение концентрации рабочих дезинфицирующих растворов;
- определение рабочих культур и методов их выделения;
- наличие и/или отсутствие ПДК для контроля общей обсемененности воздуха «заразной зоны»;
- наличие документально зафиксированной аттестации оборудования и инженерных систем биологической безопасности, ориентированных на выявление новых потенциальных «критических точек» в дополнение к уже установленным.

Так, при оценке проб из воздуха и отборе мазков с поверхностей следует при использовании дифференциальных питательных сред для осаждения микроорганизмов определить их максимальные допустимые фоновые количества и располагать документированной процедурой, описывающей действия в ситуациях, когда эти установленные пределы превышаются. Анализ результатов должен выявить причину превышения обсемененности воздуха «заразной» зоны с последующим принятием мер по ее устранению.

В каждой лаборатории должны быть разработаны и утверждены методики, применяемые при работе и обслуживании работ с ПБА. Они должны быть адаптированы к данному виду работ и помещениям, где проводятся эти работы, включая: стабильность питательных сред; максимальное количество циклов автоклавирования; эффективность нейтрализующих средств (подтверждение их способности инактивировать дезинфектант в концентрации, используемой для обработки производственного оборудования); действующую инструкцию по обеззараживанию оборудования и поверхностей; защитную одежду с описанием режимов обеззараживания. Также необходимо представить описание эталонной морфологии определенных микроорганизмов. Должны учитываться результаты микробиологического мониторинга мест общего пользования. Необходимо располагать процедурами, выполняемыми при аварийных ситуациях: планом ликвидации аварий и графиком ежегодных тренингов по их ликвидации.

Необходимо разработать стандартные операционные технологические процедуры, включая: цель операции; частоту оценки; состав питательной среды; выбор контрольных

штаммов; инкубацию; документацию по оформлению работ и результатов бактериологического анализа.

Весь мониторинг можно разделить на базовый и частный.

Целью базового микробиологического мониторинга является отслеживание результатов контаминации воздуха, поверхностей и персонала.

Мониторинг по выделению рабочих культур в микробиологической лаборатории отслеживает:

- культивирование/подготовку микробиологических культур-изолятов (выделенные из окружающей среды лаборатории часто бывают угнетены, поэтому для восстановления микроорганизмов требуются пересевы субкультуры с целью получения чистой культуры и производства достаточного количества материала для выполнения идентификации);
- идентификацию – все изоляты, полученные из рабочих зон должны быть идентифицированы на уровне вида, если степень обсеменения ими превышает предельно допустимый уровень.

Отдельным разделом мониторинга является контроль за состоянием воздушной среды рабочей зоны лаборатории. Он может быть активным и пассивным. Активный (аспирационный) метод выполняется с помощью приборов пробоотборников с жидкой или плотной питательной средой. После инкубации устанавливается их количество и пересчитывается на 1 м³ воздуха.

Пассивный (седиментационный) метод заключается в выдерживании открытых чашек Петри с плотной агаровой культивационной средой в течение определенного времени. После инкубации посевов подсчитывается количество колоний. Рекомендуемое время экспозиции – 4 часа, при этом необходимо проверить ростовые свойства чашек после установленного времени открытия. Преимущество: минимальное вмешательство в критические рабочие точки. Недостаток: количество исследованного воздуха неизвестно.

Точки отбора проб должны быть обозначены в «критических местах»: рабочая поверхность БМБ; термальные комнаты; холодные комнаты-хранилища; места интенсивного передвижения персонала или материалов, в том числе шлюзы, автоклавные, блоки для содержания лабораторных животных (сами помещения, клетки с зараженными животными, места складирования и обеззараживания отходов); санитарные пропускники и т.д.

Мониторинг отбора проб с поверхностей и персонала выполняется методом смыва *стерильным тампоном* для количественного и/или качественного анализа. Контролируемая поверхность протирается увлажненным стерильным тампоном. Из смыва делается посев (0,1 мл) на поверхность агара и инкубируется. *Преимущество:* после отбора пробы исследованную поверхность не нужно дезинфицировать. Расчет количества микроорганизмов ведется на единицу площади. *Недостаток:* захват меньшего количества микроорганизмов.

Для установления общего количества микроорганизмов и грибов можно использовать агаровые *контактные чашки или пластины*. Необходимо проверять ростовые свойства используемых сред. Если используется только один вид агаровой среды, необходимо проверить способность захватить широкий спектр микроорганизмов, включая грибы. Несмотря на то, что производители предоставляют среды для отпечатков, нейтрализующие дезинфекционные средства, необхо-

димо доказать, что отпечатывание дезинфицированной поверхности не окажет влияние на рост микроорганизмов. На практике это означает проверку ростовых свойств на чашках, на которых проводились отпечатки с дезинфицированной поверхности. Рекомендуется брать пробы с критических точек отбора как у персонала, так и с поверхностей в помещениях.

Точки отбора проб у персонала:

- отпечатки перчаток (5 пальцев – обе руки);
- отпечатки с защитной одежды (маска, предплечья, грудь, локоть).

Точки отбора проб с оборудования и в помещении:

- более критические места – оборудование, которое используется для работ с ПБА (наполняющие иглы, дозаторы, пипетманы, емкость для проб, направляющие пазы для резиновых пробок, места, где емкости с ПБА находятся открытыми, приборы – качалки, термостаты, дезинтеграторы и измельчители и т.д.), и поверхности, где находится это оборудование и где проводятся манипуляции с ПБА);
- менее критические места – двери и окна шлюза, панели управления, пол, стены, оборудование и т.д. (необходимо выявить оборудование, которое может быть контаминировано, и точки, где под действием электростатики могут находиться частицы с зарядом, несущие на своей поверхности микроорганизмы, – стекла окон и т.д.)

Отпечатки с критических точек и одежды персонала берутся непосредственно после окончания манипуляций с ПБА. *Преимущество:* высокий захват микроорганизмов. *Недостаток:* после отбора проб необходимо исследованную поверхность продезинфицировать и убрать остатки среды.

Мониторинг используемых дезинфекционных средств применяется для оценки рабочих и маточных концентраций растворов, выявления несанкционированного использования незарегистрированных и несертифицированных препаратов, а также для оценки знаний сотрудников по применению дезсредств.

Дезсредства, используемые для деконтаминации лабораторного оборудования, лабораторных помещений и инженерного оборудования и систем биологической безопасности, должны иметь сертификаты на данное дезинфицирующее средство; протокол контроля сроков годности препарата; наличие экспресс-полосок (экспресс-тесты) для контроля рабочих растворов, если таковые имеются, с соответствующими установленными сроками годности; акты утилизации растворов препаратов, непригодных к использованию. Если для используемого дезинфицирующего средства предусмотрены инактивирующие средства, необходимо контролировать порядок применения их для данного вида дезинфектанта.

Все перечисленные виды микробиологического мониторинга важны в совокупности для безопасности исследователей и окружающей среды.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг.

Использование анионных и неионных моющих средств в качестве добавок к рабочим растворам перекиси водорода при проведении работ с микроорганизмами

Л.В.Чекан, Е.А.Тюрин

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

В настоящее время вопросы по выбору и использованию дезинфицирующих средств при работе с патогенными биологическими агентами (ПБА) остаются очень актуальными. В соответствии с положениями нормативных документов все работы (диагностические, экспериментальные, коллекционные) с ПБА необходимо проводить в соответствии с требованиями биобезопасности и соблюдением правил режима дезинфекции. Универсальным дезинфицирующим средством при проведении работ с ПБА I–IV групп бактериальной природы является перекись водорода. Для эффективного обеззараживания к рабочему раствору дезинфектанта (3,0–6,0%) рекомендовано добавлять поверхностно активные вещества (0,5% ПАВ) – различные моющие средства. В санитарно-эпидемиологических правилах в качестве ПАВ рекомендовано использовать моющие средства: «Прогресс», «Новость», «Лотос», «Астра» и др. Однако производимые на сегодняшний день моющие средства имеют более сложный состав, включающий анионные и неионные ПАВ, добавки солей, цеолиты, отбеливатели, энзимы, отдушки и цветочные добавки. Мониторинг применения рабочих растворов перекиси водорода в подразделениях ФБУН ГНЦ ПМБ при проведении работ с ПБА I–IV групп показал, что использование некоторых современных ПАВ влияет на концентрацию рабочих растворов перекиси водорода, снижая ее, что является критическим моментом нарушении биологической безопасности.

Цель работы. Целью работы являлась оценка влияния современных ПАВ, добавляемых в рабочие растворы перекиси водорода, применяемых в коллекционной работе с ПБА, с учетом температурного и временного факторов.

Материалы и методы. Использовали концентрации рабочих растворов (3,0%), приготовленных из маточного раствора перекиси водорода медицинской исходной концентрации 37,8% (по сертификату изготовителя) путем разведения его водопроводной водой до рабочей концентрации. Концентрацию рабочего раствора определяли колориметрическим перманганатным методом по ГОСТ 177 88 и выражали в процентах. Также использовали индикаторные колориметрические полоски «Дезиконт Перекись Водорода» производства фирмы «ВИНАР», согласно инструкции изготовителя на соответствие по прилагаемой цветовой шкале.

В качестве поверхностно активной добавки использовали коммерческие моющие средства: сухие препараты порошков «Пемос» и «Сульфенол НП 1», а также жидкий препарат «Детергент 7X». В качестве контрольных образцов использовали рабочие растворы перекиси водорода в тех же концентрациях, но без добавления ПАВ.

Из свежеприготовленных опытных и контрольных рабочих растворов перекиси водорода отбирали образцы в объеме

100,0 мл. Отобранные образцы помещали в термостаты «ТС-80» при +18°C, +24°C и +30°C, что позволяло моделировать возможные колебания температурных условий. Спустя 2, 4 и 18 часов определяли конечную концентрацию опытных и контрольных образцов дезинфектантов указанными выше методами.

Для получения статистически достоверных результатов все эксперименты были проведены в пяти повторностях. Статистический анализ осуществлялся с помощью программы MS Excel.

Результаты. Результаты исследований показали, что во всех исходных опытных и контрольных образцах концентрации рабочих растворов перекиси водорода соответствовали нормативным данным. Концентрации рабочих растворов перекиси водорода и в контрольных образцах спустя 2 часа при температуре воздуха +18°C и +24°C, а также спустя 4 часа при +18°C не изменились.

Снижение концентрации в рабочих растворах перекиси водорода отмечалось при использовании моющего средства «Пемос». Так, при температуре +24°C значительное снижение отмечали уже через 4 часа (2,6% от начальной 3,0%), а при +30°C – через 2 часа (2,5% от начальной 3,0%). При 18-часовой экспозиции во всех опытных образцах отмечалось резкое снижение концентрации рабочих растворов перекиси водорода (1,1–1,7% от начальной 3,0%). Вероятно, это связано с тем, что в состав средства «Пемос» входят энзимы и химический отбеливатель. Однако для того, чтобы точно установить причины данного явления, необходимы специальные исследования в специализированной лаборатории. Вместе с тем видно, что средство «Пемос» и, соответственно, препараты, подобные ему по составу, не рекомендуется использовать в качестве ПАВ для приготовления рабочих растворов перекиси водорода.

При проведении исследований по применению средства «Сульфенол НП 1» было установлено, что концентрации рабочих растворов перекиси водорода также снижались, но не так резко, как при добавлении препарата «Пемос». Так, при температурах +18°C и +24°C при экспозиции 2 часа концентрация раствора дезинфектанта практически оставалась на исходном уровне (2,9–3,0% от начальной 3,0%). Снижение концентрации раствора дезинфектанта отмечали при 4- и 18-часовой экспозициях при температуре воздуха +30°C (2,7% от начальной 3,0%), что позволяет использовать моющее средство «Сульфенол НП 1» в качестве ПАВ, но только при температурном диапазоне от +18°C до +24°C и в течение не более 4 часов при дальнейшем проведении перепроверки концентрации рабочего раствора, используемого для работы с ПБА.

При использовании препарата «Детергент 7Х» было установлено, что концентрации рабочих растворов перекиси водорода практически не изменялись в течение 18 часов (2,9–3,0% от начальной 3,0%). Незначительные отклонения в рамках статистической погрешности от исходной концентрации наблюдали в отдельных сериях экспериментов.

Выводы:

1. Препарат «Пемос» снижает концентрации рабочих растворов перекиси водорода, особенно при повышении температуры. Данный препарат и аналогичные ему моющие средства не рекомендуется применять в качестве ПАВ для при-

готовления рабочих растворов перекисных соединений в микробиологических лабораториях.

2. Препарат «Сульфенол НП 1» умеренно снижает концентрации рабочих растворов перекиси водорода. Применение таких препаратов возможно при комнатных температурах (+18°C – +24°C) в течение не более 4 часов.

3. Препарат «Детергент 7Х» не оказывает отрицательного влияния на динамику снижения концентрации рабочих растворов перекиси водорода и может быть рекомендован для использования в качестве ПАВ.

Работа выполнена в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора на 2016–2020 гг.

Антимикробные свойства пептида молочнокислой бактерии, выделенной из традиционного продукта

С.М.Шайхин, М.С.Уразова, Г.К.Абитаева, Л.Р.Жапарова, Ж.Б.Текебаева, З.С.Сармурзина, К.Д.Закарья, А.Б.Абжалелов

РГП на ПХВ «Республиканская коллекция микроорганизмов», г. Астана, Казахстан

Бактериоцины, или антимикробные пептиды (АМП), представляют собой небольшие пептиды, которые нарушают целостность мембран бактериальных клеток. Сейчас АМП рассматриваются как альтернативный инструмент для борьбы с патогенными бактериями. Молочнокислые бактерии являются одним из основных источников биосинтеза бактериоцинов и АМП.

Пробиотики – это непатогенные микроорганизмы, которые оказывают положительное влияние на здоровье своего хозяина. Различные микроорганизмы, главным образом молочнокислые бактерии, оценивают по их пробиотическому потенциалу и применяют в различных видах пищевых продуктов и терапевтических препаратов.

Большинство прикладных исследований сосредоточено на бактериоцинах из грамположительных пробиотических микроорганизмов, главным образом молочнокислых бактерий. Использование АМП все шире распространяется в продовольственном и медицинском секторах экономики. Несмотря на долгую историю ферментированных продуктов в Центральной Азии и, в частности, в Казахстане, научным исследованиям их качества и безопасности здесь уделено меньше внимания по сравнению с высокоразвитыми странами, такими как Япония, США и ряд европейских стран. Многие продукты на рынках Казахстана производятся кустарным способом на небольших предприятиях.

Целью настоящего исследования было изучение пробиотических свойств, связанных с антимикробной активностью молочнокислой бактерии, штамма *Lactobacillus sakei* B-RKM 0559, выделенного из домашнего казахского традиционного мясного продукта «казы» из конины. Штамм-продуцент и его АМП являются ингибиторами роста патогенных бактерий и могут быть использованы в пищевой, медицинской промышленности и в сельском хозяйстве.

Методы. Штаммы *Escherichia coli* 157 B-RKM 0040, *Staphylococcus aureus* 209P B-RKM 0057, *Serratia marcescens*

221 F B-RKM 0059, *Listeria monocytogenes* B 0600 КДК, *Lactobacillus sakei* B-RKM 0559 были взяты из музея РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» КН МОН РК.

Очистка АМП из штамма *Lactobacillus sakei* B-RKM 0559 выполнялась стандартно и включала сульфат-аммонийное фракционирование, гель-фильтрацию на смоле Biogel P-6 (Bio-Rad, США) и хроматографию на SP-сефарозе и MonoS TM 5/50 GL (GE Healthcare) с помощью системы АКТА pure 25 (GE Healthcare Life Sciences). Колонки уравнивали буфером А (20 мМ фосфата натрия, рН 6,0, 0,1 М NaCl, 0,1 мМ ЭДТА, 0,1 мМ меркаптоэтанол, 1 мМ PMSF). Активность АМП оценивали общепринятым методом диффузии в агаре. Электрофорез Tricine-SDS-PAGE использовали для определения молекулярной массы АМП. Фракции со стадии гель-фильтрации объединяли, разбавляли в 2 раза буфером А и наносили со скоростью 1 мл/мин на колонку MonoS 5/50 GL, подключенную к системе Acta FPLC, Amersham Biosciences. После полного нанесения образца колонку промывали буфером А. Затем через колонку пропускали буфер А с нарастающим градиентом концентрации от 0 до 1,0 М NaCl. Скорость элюции буфера 1 мл/мин, коллектор фракций включен в режиме сбора 1 мл/фракцию.

Результаты и обсуждение. Гель-фильтрация 70% сульфат-аммонийной фракции, полученной из бесклеточного супернатанта 26-часовой культуральной жидкости штамма *L. sakei* B-RKM 0559 показала наличие антимицробной (АМ, бактериоциновой) активности в свободном объеме элюции. Этот агрегационный эффект может быть связан с гидрофобным характером поверхности молекулы исследуемого АМП. В пользу такого предположения свидетельствует отсутствие АМ-активности к индикаторной культуре в рабочей области элюции пептидов (1000–5000 Да), хотя это тот диапазон, в котором находится большинство известных бактериоцинов – сакацинов (sakacin). Для выяснения молекулярной массы АМП, ответственного за АМ-активность, был проведен электрофорез полипептидов во фракции, формирующей пик максимальной оптической плотности A280 и пик максимальной АМ-активности в свободном объеме. Было использовано окрашивание серебром разделенных в ПАА-геле пептидов как наиболее чувствительный метод обнаружения полипептидов в геле. Результат электрофореза показал, что во фракции В12, т.е. в пике максимальной АМ-активности, находится полипептид с молекулярной массой 10 000 Да и практически отсутствуют сакацины, имеющие меньшие размеры. По-видимому, измеряемая нами АМ-активность обусловлена именно пептидом с приблизительно молекулярной массой 10000 Да, так как похожие по размеру бактериоцины и бактериоцин-подобные пептиды были найдены у многих родов и видов бактерий. Недавно из штамма *L. sakei* из ферментированного мясного продукта был выделен АМП с молекулярной массой 10000 Д.

Исследуемый АМП имеет суммарный положительный заряд при рН 6, поскольку он прочно связывается с SP-сефарозой и MonoS и элюируется из колонок при высоких концентрациях солей (0,65 М и 0,85 М соответственно). По результатам связывания АМП с MonoS из всех 10-кратных концентратов фракций элюции только фракция В8 показала АМ-активность с диаметром зоны ингибирования роста индикаторной культуры *S. aureus* ≥ 7 мм и именно в

ней находился пептид с молекулярной массой 10000Д. 10-кратные концентраты остальных фракций, в том числе В7 и В9, не давали зон ингибирования в методе определения АМ-активности – диффузии в агар. Устойчивость ионных взаимодействий между АМП и колонками указывает на высокую изоэлектрическую точку АМП, которая характерна для АМП большинства молочнокислых бактерий. Хроматографические фракции с максимальной активностью АМП содержали полипептид с молекулярной массой около 10000 Да в соответствии с Tricine-SDS-PAGE, что находится в хорошем согласии с данными литературы. Исследуемый АМП имеет сходство по молекулярной массе с бактериоцинами из других источников.

АМП чувствителен к протеолитическим ферментам. Это делает его безопасным в отношении загрязнения окружающей среды, наблюдаемого на примере антибиотиков. Также он термостабилен (80°C, 30 мин) и остается активным в широком диапазоне рН. Эти свойства пептида позволяют длительно функционировать в изменчивых условиях технологических процессов ферментации и хранения продуктов пищевой промышленности. Пептид активен как против грамположительных *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, так и грамотрицательных бактерий-патогенов *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, являющихся объектами исследования в силу их опасности для здоровья человека.

Заключение. Совокупность свойств нового АМП, изученных здесь, позволяет сделать вывод о том, что АМП имеет молекулярную массу около 10 000 Да и удовлетворяет критериям биотехнологии для пищевой и медицинской промышленности.

Белок внешней мембраны SurA и его роль в патогенности *Yersinia pestis*

Р.З.Шайхутдинова, Т.Э.Светоч, С.А.Иванов, Т.И.Комбарова, С.В.Дентовская

ФБУН «Государственный научный Центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Наружная мембрана грамотрицательных бактерий содержит целый ряд белков, поддерживающих структурную целостность клеточной оболочки бактерий. Белок внешней мембраны SurA (Survival protein A) впервые идентифицировали как фактор, играющий важную роль в выживании клеток *Escherichia coli* в стационарной фазе роста. Показано, что белок SurA может обладать как пептидил-пролил изомеразной активностью, так и выполнять функции шаперона.

Для изучения роли этого белка в патогенности *Yersinia pestis* мы получили путем аллельного обмена с использованием суицидного вектора pCVD442 нокаутный мутант *Y. pestis* 231 Δ surA::kan, дефектный по синтезу SurA. Вирулентность мутанта определяли по величине LD₅₀ по сравнению с исходным штаммом *Y. pestis* 231 при подкожном заражении беспородных мышей и крыс. Выживаемость мышей, инфицированных штаммом *Y. pestis* 231 Δ surA::kan в дозе 10⁶ КОЕ, достигла 100%, в то же время все мыши после заражения исходным штаммом *Y. pestis* 231 в дозе

10^2 КОЕ пали к 7-му дню наблюдения. Все крысы в течение срока наблюдения (21 сут) после введения штамма 231 Δ surA::kan в дозе 10^7 КОЕ не проявляли признаков заболевания. После заражения исходным штаммом *Y. pestis* 231 в дозе 10^4 КОЕ все крысы пали к 5-му дню наблюдения.

Наружная мембрана функционирует как эффективный проницаемый барьер для многих классов молекул, включая агенты с повреждающим действием: детергенты и антибиотики. Мы оценили устойчивость полученного штамма к полимиксину В и гидрофобному агенту додецилсульфату натрия. Мутанты Δ surA::kan были в 100 раз чувствительнее к бактерицидному действию полимиксина В (минимальная ингибирующая концентрация МИК = 0,5 мкг/мл), чем исходный штамм (МИК = 50 мкг/мл). Штамм *Y. pestis* 231 Δ surA::kan, в отличие от родительского *Y. pestis* 231, был не способен расти на среде, содержащей додецилсульфат натрия. Таким образом, нами установлено, что утрата белка SurA ведет к аттенуации вирулентного штамма возбудителя чумы для мышиной и крысиной модели инфекции – SurA можно рассматривать как молекулярную мишень для анти-микробных агентов.

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Опыт применения магнитных частиц в прототипе оптического биосенсора для обнаружения белковых антигенов

А.Г.Шевяков

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Магнитные частицы успешно применяются в различных диагностических тест-системах как для извлечения антигена из сложной смеси, так и в качестве маркера при его выявлении. В нашем исследовании была предпринята попытка максимально использовать все преимущества магнитных частиц для конструирования прототипа биосенсора на основе моноклональных антител (мкАТ) к белку р60 патогенных листерий.

Основой для сенсорной поверхности было покровное стекло, обработанное глицидилоксипропилтриэтоксисилоном, на которое наносили мкАТ. Гидрофобная эпокси-группа, по которой образуется ковалентная связь, обеспечивает преимущественное связывание через Fc-фрагмент антител. Сенсорные зоны диаметром 500 мкм наносили с помощью полимерного наконечника. Оставшуюся поверхность инактивировали 1%-м раствором альбумина. По краям стекла наклеивали полимерную пленку, оставляя свободными небольшие участки с противоположных концов. Сверху на пленку приклеивали покровное стекло. В итоге между стеклами получалась проточная камера, через которую можно пропускать исследуемый раствор. Нами была изучена возможность использования магнитных частиц трех диаметров: 100 нм, 400 нм и 1 мкм. Все магнитные частицы модифицированы карбоксильными группами. Для конъюгации мкАТ использовали карбодимидный метод. Полученные иммуно-

магнитные частицы (ИМЧ) инкубировали с раствором антигена, отмывали буфером на магнитном штативе, ресуспендировали в минимальном объеме и вводили в камеру прототипа биосенсора. Частицы «протягивали» магнитом по поверхности стекла и выводили к противоположному краю. После чего вымывали буферным раствором. При наличии в исследуемом образце антигена он связывался с ИМЧ, а полученный иммунный комплекс связывался со вторыми антителами на стекле. Для визуального обнаружения использовали темнопольную микроскопию. При просвечивающей микроскопии обнаружить частицы сложно. В темном поле отчетливо видно светящееся пятно, образованное рассеянным от поверхности частиц светом. Наилучшие результаты продемонстрировали частицы размером 100 нм. Сенсорная зона равномерно заполнена частицами и четко выделяется на окружающем фоне. Частицы диаметром 400 нм образуют менее гомогенную сенсорную зону, а частицы диаметром 1 мкм почти полностью смываются при промывке камеры буферным раствором.

Таким образом, нами сконструирован прототип диагностической тест-системы, позволяющий проводить мультиплексный анализ, автоматизировать процесс и использующий доступные методы фиксации полученного результата.

Панкреатический гидролизат рыбной кормовой муки – полноценная белковая основа питательных сред

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Рыбная мука – это один из ценнейших источников полноценного белка (содержание протеина не менее 50%) и сбалансированности незаменимых аминокислот. Количество аминокислот в натуральной рыбной муке зависит только от содержания сырого протеина, а их соотношение (аминокислотный профиль) варьирует в узких пределах, и заметных различий по этому показателю между рыбной мукой различного происхождения не наблюдается.

Использование для производства рыбной муки недоброкачественного сырья (трудноперевариваемых частей рыбы – костей, голов, плавников) приводит к снижению биологической ценности протеина. Количество жира, содержащегося в рыбной муке, также определяет ее качество.

Получение рыбной муки с высокими показателями качества требует больших затрат, поэтому на современном рынке помимо рыбной муки представлен целый ряд товаров на ее основе.

Исходя из вышеизложенного, остро встает вопрос разностороннего входного контроля сырья при производстве питательных сред, т.к. большая часть ассортимента сухих питательных сред, выпускаемых ФБУН ГНЦ ПМБ, производится на основе панкреатического гидролизата рыбной кормовой муки

Цель исследования – сравнительная характеристика основных показателей двух партий рыбной муки, изучение

питательной ценности панкреатических гидролизатов рыбной муки (сырого протеина и аминокислотного состава).

Материалы и методы. Всесторонне исследованы две партии рыбной муки ООО «ЭМРОУЗ» (г. Астрахань) и дана органолептическая оценка по цвету, запаху, консистенции отобранных образцов, проведен двухступенчатый микроскопический анализ, который заключается в обработке образца растворителем (тетрахлорэтиленом или хлороформом) для удаления жировой ткани, разделении образца на тяжелую и легкую фракции методом фильтрации, высушивании и изучении под микроскопом при различных увеличениях.

Определение сырого протеина методом Кьельдаля оценивает суммарное содержание белкового и небелкового общего азота, которое пересчитывается на протеин умножением его на коэффициент 6,25, поэтому количественное содержание истинного белка в составе сырого протеина дополнительно определяли по Барнштейну (истинный белок). Для качественной натуральной рыбной муки разница между общим и белковым азотом (небелковый азот) должна составлять 4–8% от общего количества азота. Увеличение этого показателя свыше 8% может свидетельствовать о наличии неорганических азотистых соединений, а если он меньше 4%, то возможен вариант фальсификации мясной или перьевой мукой.

Кроме того, образцы оценивались по содержанию влаги, массовых долей жира и поваренной соли, кислотному (характеризует степень гидролиза жира и наличие свободных жирных кислот, ди- и моноглицеридов) и перекисному числу (характеризует степень окисления, при котором образуются первичные (гидроперекиси и пероксиды) и вторичные (альдегиды и оксикислоты) продукты окисления).

Проведен статистический анализ биохимических показателей рыбной муки, произведенной в разных странах с 2002 по 2017 год.

Определен аминокислотный состав ферментативных гидролизатов рыбной муки и других белковых гидролизатов.

Результаты и обсуждение. В результате анализа биохимических показателей рыбной муки, произведенной в разных странах с 2002 по 2017 гг., отмечена тенденция уменьшения содержания общего азота, а следовательно, протеина в рыбной муке, а также увеличение липидов.

При исследовании образцов рыбной муки были отмечены более высокие показатели кислотного и перекисного чисел от максимальных (рекомендуемых) значений – не более 20 мг КОН на 1 г жира, а перекисное число – не более 0,1% J2. Кроме того, в рыбной муке одной из партий ООО «ЭМРОУЗ» разница между сырым протеином и протеином по Барнштейну составляла менее 4%, что свидетельствует о ее более низком качестве.

Тенденция уменьшения содержания общего азота в рыбной муке, а следовательно, и аминного азота, прослеживается в процессе изучения накопления аминного азота в течение процессов гидролиза, проводимых с 2003 по 2017 год при неизменном режиме.

Количественный аминокислотный анализ различных белковых основ был проведен на жидкостном хроматографе модель L-8800 фирмы «Hitachi» (Япония).

Содержание незаменимых аминокислот в панкреатических гидролизатах рыбной муки сопоставимо с мясными

пептонами, уступая им лишь по содержанию глицина и аланина.

Вывод. Сравнительный анализ биохимических показателей рыбной муки при входном контроле сырья на производстве, проводимый в течение нескольких лет, а также анализ аминокислотного состава панкреатических гидролизатов рыбной муки в сравнении с другими белковыми основами питательных сред доказывают необходимость расширенного биохимического и биологического анализа сырья и выбора добросовестных поставщиков.

Исходя из вышеизложенного, только всесторонний контроль сырья позволяет на протяжении десятилетий использовать панкреатический гидролизат рыбной муки в качестве полноценного источника азотистого питания для роста микроорганизмов при конструировании питательных сред различного назначения, применяемых в клинической и санитарной бактериологии.

Использование питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ для выявления *Pseudomonas aeruginosa*

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболensk

Pseudomonas spp. широко распространены в окружающей среде (почве и воде). Псевдомонадами часто контаминированы продукты питания (овощи и фрукты). Несмотря на то, что от здоровых людей псевдомонады выделяются достаточно редко, нередки случаи внутрибольничного заражения псевдомонадами. С современных позиций основной задачей здравоохранения во всем мире является обеспечение качества медицинской помощи и создание безопасной больницы среды. В настоящее время внутрибольничные инфекции являются одной из основных причин заболеваемости и смертности в силу глобального характера распространения возбудителя, его негативных последствий для здоровья пациентов и экономики государства.

Одной из наиболее частых этиологических форм внутрибольничных инфекций является *Pseudomonas aeruginosa*.

Ведущим методом при выявлении псевдомонад является бактериологический метод с последующей бактериоскопией, антибиотикограммой, серологическими исследованиями выделенной культуры.

Диагностика синегнойной инфекции без использования питательных сред не представляется возможной, а их качество напрямую определяет точность и информативность микробиологического анализа.

Цель исследования – анализ основных дифференцирующих признаков, характерных для псевдомонад на различных питательных средах ФБУН ГНЦ ПМБ.

Материалы и методы. После инкубации посевов на питательных средах ФБУН ГНЦ ПМБ, предназначенных для выделения и культивирования псевдомонад при различных температурах, визуально определяли наличие роста через

24 и 48 ч с характерными для псевдомонад культурально-морфологическими свойствами. В работе использовали музейные штаммы: *P. aeruginosa* 27/99, *P. aeruginosa* 453, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *P. aeruginosa* 27853.

Результаты и обсуждение. На питательной среде № 8-ГРМ, предназначенной для выращивания псевдомонад, отмечается характерное образование пленки, содержащей желто-зеленый пигмент флуоресцин, и помутнение верхней части среды в пробирке. При старении культуры наблюдается образование мути с последующим выпадением слизистого осадка.

Питательная среда № 9-ГРМ, предназначенная для выявления пигмента пиоцианина, обеспечивает рост тест-штаммов с окрашиванием среды вокруг колоний в синезеленый цвет.

Рост *P. aeruginosa* на высокоселективной питательной среде Цетримидный агар наблюдается в виде колоний желто-зеленого цвета.

На питательной среде №13-ГРМ (трехсахарный агар с солями железа – для выявления сероводорода и определения ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы) подтверждается низкая сахаролитическая активность псевдомонад – рост культуры без изменения цвета среды с образованием пигмента в виде серого налета на поверхности.

При культивировании на Лактозном ТТХ-агаре с тергитолом 7 отмечается характерное образование красно-коричневых колоний с выпуклым центром, слегка неровным краем и синей зоной вокруг колоний вследствие восстановления псевдомонадами трифенилтетразолия хлорида.

На агаре Эндо-ГРМ *P. aeruginosa* прорастает в виде бледных белых расплывчатых колоний в М-форме, со слегка выделенным центром.

Образование пигментов – характерный и имеющий важное диагностическое значение признак (встречается у 70–80% клинических изолятов). *Pseudomonas aeruginosa* продуцирует водорастворимый феназиновый пигмент пиоцианин, окрашивающий питательную среду ГРМ-агар в синезеленый цвет.

На агаре Мюллера–Хинтон II, предназначенном для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, зоны задержки роста псевдомонад вокруг дисков с антибактериальными препаратами соответствуют требованиям клинических рекомендаций по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам 2014 г и Европейского комитета EUCAST.

Вывод. Таким образом, применение методов лабораторной диагностики с использованием питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ позволит своевременно выявлять возбудитель из объектов внешней среды и клинического материала, своевременно и эффективно назначать антибактериальную терапию, проводить профилактические мероприятия.

Влияние агаровых питательных сред на эффективность плазмидной криотрансформации туляремийного микроба

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

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, г.п. Оболенск

Использование генетических методов для изучения возбудителя туляремии – бактерий *Francisella tularensis* – позволило за последние десятилетия сформировать представление о молекулярных механизмах взаимодействия микроба с макроорганизмом и его иммунной системой. Одним из методических приемов изучения генетики *F. tularensis* является трансформационный перенос плазмид в бактериальные клетки. Как правило, для такого переноса используют методы электропорации и криотрансформации. В обоих случаях в процессе перемещения ДНК из внеклеточного пространства внутрь клетки происходит транзитное нарушение целостности клеточной стенки. Такое нарушение может влиять на жизнеспособность бактериальных клеток и, следовательно, на эффективность трансформации. Поэтому использование высокочувствительных агаровых питательных сред для выращивания трансформантов после криотрансформации (электропорации) является одним из ключевых факторов эффективности метода. В настоящей работе было проведено сравнение чувствительности плотной питательной среды ФТА (содержащей в 1 л готовой среды 10 г высушенной крови крупного рогатого скота, 10 г глюкозы, 0,5 г цистеина, 0,025 г тиамина хлорида, 6,3 г агара, 300 мл агара Хоттингера, pH 7,2), используемой в лаборатории микробиологии туляремии ФБУН ГНЦ ПМБ, с коммерческим FT-агаром (ФБУН ГНЦ ПМБ, г.п. Оболенск, Московская обл.) в экспериментах по криотрансформации *F. tularensis* плазмидной ДНК рРМС1, несущей ген устойчивости к хлорамфениколу. Оказалось, что на FT-агаре с добавлением хлорамфеникола вырастает всего на 20% меньше колоний трансформантов, чем на среде ФТА. Такое снижение эффективности отразилось также и на времени появления сформированных колоний: в случае ФТА колонии появлялись через 48 ч, тогда как на FT-агаре колонии такого же размера формировались через 72 ч. Выявленные закономерности не зависели от штаммов-реципиентов (вакцинный штамм 15 НИИЭГ, его авирулентное производное 15R, неспособное выживать в нормальной кроличьей сыворотке, а также референс-штамм 503). Таким образом, обе среды можно использовать для генетических работ с туляремийным микробом, однако для экспериментов с «ослабленными» экспериментальными штаммами предпочтительна среда ФТА.

Возможный способ длительного сохранения прихотливых микроорганизмов

В.А.Шмыленко, А.П.Бондаренко

ФБУН «Хабаровский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора, г. Хабаровск

Длительное хранение бактерий необходимо для поддержания жизнедеятельности микробных клеток и чистоты культур, предупреждения изменений их свойств и мутаций, т. е. сохранения микроорганизма в состоянии, максимально близком к исходно выделенному штамму. Разработка новых методических приемов для консервации микроорганизмов будет способствовать полноценному лабораторному хранению рабочих и коллекционных штаммов, используемых для различных исследовательских и практических задач.

Цель исследования – разработать способ длительного хранения прихотливых микроорганизмов на примере *S. pneumoniae* и *H. influenzae*.

При разработке способа проведены патентный поиск и исследования по трем направлениям:

1. Выбор среды сохранения прихотливых микроорганизмов. Эффективное долговременное хранение прихотливых микроорганизмов возможно только при использовании качественной, богатой по составу питательных веществ и стандартизированной среды.

2. Определение температуры криоконсервации. Криоконсервация является наиболее перспективным методом долгосрочного хранения микроорганизмов. При консервации в режиме от минус 70 до минус 196°C титр жизнеспособных клеток сохраняется на исходном уровне. Нами определена температура консервации минус 80°.

3. Выбор криопротектора. Криопротекторы – вещества, способные предотвращать развитие повреждений биологических агентов при охлаждении, замораживании и последующем отогреве. В качестве криопротектора был выбран глицерин с конечной концентрацией 30%, так как он обеспечивает внутриклеточную и внеклеточную защиту микроорганизмов от повреждающих факторов.

В результате проведенного поиска нами разработан способ длительного хранения прихотливых микроорганизмов, который основан на применении в качестве среды сохранения готовой среды Signal blood culture system medium фирмы Oxoid (Великобритания, каталожный номер BCO 102M), первоначально предназначенной для диагностики инфекции кровотока, с добавлением глицерина (30%) и дальнейшим хранением проб при $t_0 = -80^{\circ}\text{C}$. Способ обеспечивает гарантированную выживаемость прихотливых микроорганизмов в течение длительного времени. В 2018 г. получено положительное решение на заявленную разработку (заявка на патент № 2017119140 «Способ длительного хранения прихотливых микроорганизмов»).

Систематика возбудителей бактериальных природно-очаговых инфекций, основанная на применении формального анализа строя

С.Н.Шпынов

ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф.Гамалеи» МЗ РФ, г. Москва

«Теория о природной очаговости инфекционных и паразитарных болезней является одним из наиболее значительных общебиологических обобщений прошлого века» [Коренберг, 2010]. Наличие определенного возбудителя – это единственный специфический отличительный биоценотический компонент природного очага любой конкретной инфекции [Коренберг, 1979, 1983, 2010]. Ключевую позицию в «системе координат» природного очага инфекции занимает ее возбудитель – этиологический агент, определяющий значимость с позиции медицины.

Систематика прокариот базируется на анализе гена 16S рРНК [Woese et al., 1990] и в большей степени отражает «эволюцию» репликативной системы. Разработка формального анализа строя (FOA) [Гуменюк и др., 2013] позволила представить систематику представителей семейства *Rickettsiaceae* [Shpynov et al., 2018], основанную на математическом анализе полноразмерных геномов и базирующуюся на экологических, эпидемиологических и этиологических принципах.

Применение характеристик FOA (<http://foarlab.org>) средней удаленности и регулярности в графическом виде позволило получить систематику бактерий-возбудителей природно-очаговых инфекций (ПОИ). Проведен анализ 124 геномов штаммов возбудителей ПОИ, представленных родами *Rickettsia*, *Orientia*, *Yersinia*, *Francisella*, *Coxiella* (*Proteobacteria*; *Bacteria*), а также *Borrelia* и *Leptospira* (*Spirochaetes*), загруженных из GenBank: www.ncbi.nlm.nih.gov/genome.

Представители родов *Rickettsia*, *Orientia* (*Alphaproteobacteria*; *Proteobacteria*) и *Borrelia* являются облигатными трансмиссивными патогенами и передаются человеку через присасывание клещей посредством трансмиссивного механизма передачи. В отличие от них представители родов *Yersinia*, *Francisella*, *Coxiella* (*Gamma**proteobacteria*; *Proteobacteria*) и *Leptospira* могут передаваться различными механизмами, включая аэрогенный, контактный, алиментарный и трансмиссивный.

Полученная систематика (схема) не конфликтует с предположением о происхождении ортологических генов у представителей класса *Alphaproteobacteria* и появлении их в дальнейшем у двух ветвей прокариот, одна из которых разделилась на два кластера – *Betaproteobacteria* и *Gamma**proteobacteria*, другая – на представителей отделов *Euryarchaeota* (*Archaea*), *Cyanobacteria*, *Deinococcus-Thermus* и виды из отдела *Spirochaetes* [Du et al., 2013].

Применение ресурсов FOA может иметь прогностическое значение при анализе нуклеотидных последовательностей геномов *de novo*, полученных из природных очагов и ассоциированных с потенциальными возбудителями ПОИ.

Опыт молекулярно-генетической детекции фрагментов гена колибактина *Escherichia coli* при воспалительных заболеваниях кишечника

Г.К.Юмагужина, А.Р.Мавзютов

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

Одной из тревожных проблем во всем мире становятся воспалительные заболевания кишечника. Они часто предшествуют опухолевой патологии кишки. В этой связи крайне интересными представляются данные о роли в развитии данных процессов *Escherichia coli*, способных к продукции колибактина. Последний способен индуцировать разрывы в двухцепочечной молекуле ДНК (Nougayrede J.P., 2006).

Цель исследования. Молекулярно-генетическая оценка частоты встречаемости фрагментов гена колибактина *Escherichia coli* при воспалительных заболеваниях кишечника.

Материалы и методы. Исследовано 54 образца кала и 50 биоптатов, полученных от пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Геномную ДНК из материала выделяли с применением набора «ДНК-сорб Б» (Интерлаб-сервис, Россия). Полимеразную цепную реакцию проводили в качественном варианте с электрофоретической детекцией.

Результаты и обсуждение. В соответствии с целью исследования нами было проведено микробиологическое обследование 54 больных, находившихся на стационарном лечении в одном из проктологических отделений города, с последующей молекулярно-генетической детекцией искомым генов. В ходе проведенных исследований в 100% случаев были получены отрицательные результаты ПЦР. До 90% человеческой популяции колонизировано *E. coli*, концентрация которых в кишечнике может достигать 10⁹ КОЕ/г фекалий. Ко 2-му году жизни популяция *E. coli* стабилизируется и составляет 10⁷–10⁸ КОЕ/г в толстой кишке и в меньшей степени подвздошной кишке (10³–10⁵ КОЕ). Показано, что наряду с комменсалами существуют патогенные варианты *E. coli*, с которыми, по некоторым данным, связывают ежегодно до 2 миллионов летальных инфекций. При этом один из белков *E. coli* – колибактин – может рассматриваться как дифференцировочный признак между комменсалами и патогенами. Генетический анализ консервативной части генома *E. coli* позволил выявить пять основных филогенетических групп, обозначенных как А, В1, В2, D и E. Группа А включает в основном непатогенные штаммы, группа В2 отличается наличием гена колибактина и объединяет как условно-патогенные, так и патогенные штаммы. Полученные ранее данные свидетельствуют, что кластер генов rks, включающих ген колибактина, встречается преимущественно среди штаммов *E. coli* филогенетической группы В2 с частотой не более 30% случаев (Secher T. et al., 2016), что, в известной степени, объясняет результаты данного исследования и сохраняет перспективу его продолжения.

MALDI-TOF MS и полимеразная цепная реакция в идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий

И.А.Янтурина, Г.Ф.Хасанова, А.Р.Мавзютов

ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Уфа

Одной из проблем практического здравоохранения в последние годы становятся так называемые неферментирующие грамотрицательные бактерии, среди которых особый интерес представляют *Pseudomonas* spp., часто встречающиеся при гнойно-воспалительных процессах различной локализации, включая генерализованные, такие как сепсис. Биохимическая идентификация этих микроорганизмов не всегда обеспечивает получение надежных и воспроизводимых результатов.

Цель исследования. Сравнительная оценка информативности времяпролетной масс-спектрометрии и полимеразной цепной реакции для идентификации клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa* и *Pseudomonas mendocina*.

Материалы и методы. Выделенные чистые культуры *P. aeruginosa* и *P. mendocina* исследовали на масс-спектрометре (BioMerieux, Франция). Для ПЦР выделяли ДНК стандартным набором (ЗАО «Вектор-Бест», Россия) и использовали подобранные нами праймеры, гомологичные генам островков патогенности указанных микроорганизмов. В качестве внутреннего контроля использовали штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Результаты и обсуждение. В ходе масс-спектрометрического исследования клинических штаммов нами было идентифицировано 37 штаммов *P. aeruginosa* и 6 штаммов *P. mendocina*. Все штаммы, определенные как *P. aeruginosa* и *P. mendocina*, были дополнительно исследованы с помощью коммерческих тест-систем на микробиологическом анализаторе Vitec II Compact фирмы (BioMerieux, Франция). При этом было показано полное совпадение полученных данных. В ходе постановки ПЦР, ориентированной на детекцию генов островков патогенности применительно к *P. aeruginosa* с подобранными нами праймерами, положительный результат был получен в 32 случаях (85,6%) и в 5 случаях (83,3%) были идентифицированы *P. mendocina*. Для выявления специфичности подобранные праймеры были проверены на музейных культурах других возбудителей, где они показали отрицательный результат.

Выводы. Полученные данные свидетельствуют, что этиологически значимыми в ходе проведенных нами исследований являлись лишь 85,6% клинических штаммов *P. aeruginosa* и 83,3% – *P. mendocina*.

О результатах изучения антибиотикочувствительности сальмонелл, выделенных из пищевых продуктов и внешней среды на территории Ростовской области

А.М.Рябова, И.Б.Явруян, Т.С.Гюрджиян, Т.В.Омельченко

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Ростовской области», г. Ростов-на-Дону

Сальмонеллез встречается во всех регионах мира. Антибиотикорезистентность бактерий является одной из причин увеличения числа заболеваний сальмонеллезом.

Изучена чувствительность к антимикробным препаратам 75 штаммов сальмонелл, выделенных на территории Ростовской области в 2015–2018 гг., в том числе: из тушек и полуфабрикатов из мяса птицы – 19 штаммов, из мяса и полуфабрикатов из свинины и говядины – 12 штаммов, из рыбы – 1 штамм, из воды поверхностных водоемов – 36 штаммов, из сточных вод – 6 штаммов, из почвы – 1 штамм.

Чувствительность к антимикробным препаратам шести групп (пенициллинам, цефалоспорином, карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам, тетрациклином) изучали диско-диффузионным методом согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2015 г. и 2018 г. Посев производился на агар Мюллер–Хинтон (Био-Рад, Франция), использовались диски, импрегнированные антибиотиками (Био-Рад, Франция), учет производился на анализаторе антибиотикограмм Адажио (Био-Рад, Франция).

По результатам исследований ни один штамм не обладал чувствительностью ко всем шести группам антибиотиков. Только 8 штаммов (10,67%) были резистентны к одной группе антибиотиков (пенициллинам). Эти штаммы были выделены из воды поверхностных водоемов в 2015 г. (7 штаммов) и в 2016 г. (1 штамм). 67 штаммов (89,33%) характеризовались устойчивостью к двум и более группам антибиотиков. Все штаммы были чувствительны к ингибиторозащищенным пенициллинам и карбапенемам.

К пенициллинам резистентны 44%, чувствительны 56% штаммов. К цефалоспорином II поколения резистентны 73,33%, умеренно-резистентны 2,67% штаммов, III поколения резистентны 5,33%, умеренно-резистентны 13,33% штаммов, IV поколения резистентны 4%, умеренно-резистентны 13,33% штаммов. У 13,33 % штаммов выявлена продукция ESBL. К фторхинолонам резистентны 36 %, умеренно-резистентны 12 % штаммов. К тетрациклином резистентны 14,67%, умеренно-резистентны 2,67% штаммов. К аминогликозидам II поколения резистентны 78,67%, умеренно-резистентны 9,33 % штаммов, III поколения резистентны 68%, умеренно-резистентны 10,67% штаммов. Обращает на себя внимание, что сальмонеллы, выделенные из пищевого сырья в 93,75% случаев резистентны к аминогликозидам II поколения и в 90,63% случаев – к аминогликозидам III поколения, что косвенным образом свидетельствует о широком применении антибиотиков этой группы в отечественном птицеводстве и животноводстве.

Также в 2018 г была изучена чувствительность 7 штаммов, выделенных из мяса птицы и полуфабрикатов из свинины и говядины к хлорамфениколу (2 штамма резистентны – 28,57%) и триметоприм-сульфаметоксазолу (1 штамм резистентен, 1 – умеренно-резистентен).

Проведенные исследования показали, что штаммы сальмонелл, выделенных в 2015–2018 гг в Ростовской области из внешней среды и продуктов питания в 100% случаев обладают резистентностью хотя бы к одной группе антибиотиков, а в 89,33% – к двум и более группам.

Результаты оценки уровней инфицирования *Ixodes persulcatus* возбудителями анаплазмозов, эрлихиозов и клещевых боррелиозов в равнинной части Западной Сибири

А.Г.Василенко, В.В.Якименко, А.К.Танцев

ФБУН «Омский НИИ природноочаговых инфекций»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, г. Омск

Исследовали таежных клещей, собранных с растительности при проведении учетов численности переносчиков, с использованием ОТ ПЦР в режиме реального времени с индикацией результатов по конечной точке. Членистоногие собраны в мае 2010 г. в периоды сезонного пика численности с территории подтаежной зоны Муромцевского района Омской области и лесостепной зоны Венгеровского района Новосибирской области; в мае 2012 г. – с территории лесной зоны Яркового, Вагайского и Упоровского районов Тюменской области. ДНК *Anaplasma phagocytophilum* обнаружена у 2,9 ± 1,1%, 0%, 10,3 ± 1,0%, 10,7 ± 1,2%, 6,3 ± 6,1%; *Ehrlichia muris* – 31,9 ± 5,6%, 21,0 ± 4,3%, 29,0 ± 2,9%, 17,0 ± 4,8%, 18,8 ± 9,8%; *Borrelia burgdorferi sensu lato* – 81,2 ± 4,7%, 47,4 ± 5,6%, 77,6 ± 4,0%, 47,5 ± 7,8%, 56,5 ± 12,4%; *B. miyamotoi* – 21,7 ± 5,0%, 19,0 ± 4,0%, 12,0 ± 3,1%, 16,3 ± 4,8%, 18,7 ± 9,7% (соответственно – Яровский, Упоровский, Вагайский, Муромцевский и Венгеровский районы). Результаты показывают достоверно более высокий уровень инфицированности *B. burgdorferi sensu lato* таежного клеща в Зауралье (Яровский район) по сравнению с остальной исследованной территорией при достаточно однородной выявляемости по всем исследованным территориям региона ДНК *B. miyamotoi*. Равномерным распределением по территории региона характеризуется *E. muris*, тогда как доля выявления ДНК *A. phagocytophilum* минимальна в Зауралье, а в Упоровском районе Тюменской области (пойменные леса р. Тобол) в период проведения учетов переносчиков не зарегистрирована. Регистрируемые уровни выявляемости ДНК возбудителей по-видимому не связаны с уровнем численности переносчика (усредненные по исследованным территориям – 3,6, 23,4, 10,1, 63,7 и 4,3 особей/км учетного маршрута – соответственно – Яровский, Упоровский, Вагайский, Муромцевский и Венгеровский районы), но могут определяться фазой популяционного цикла (рост или спад численности).

О создании «Национального научно-практического общества бактериологов»

Общественная некоммерческая организация «Ассоциация» (далее Ассоциация) создана в целях развития и совершенствования бактериологических исследований, направленных на улучшение диагностики инфекционных болезней в сфере здравоохранения, ветеринарии и пищевой промышленности, и зарегистрирована 17.04.2018 Минюстом РФ по Московской области. Учредителями ассоциации являются ФБУН ГНЦ ПМБ (г. Оболensk) и ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной (г. Нижний Новгород).

В соответствии с Уставом Ассоциации утверждена структура и органы управления, сформирован основной орган управления «Совет Ассоциации». Президентом Ассоциации избран директор ФБУН ГНЦ ПМБ академик РАН, д.м.н., профессор Дятлов И.А., Вице-президентом Ассоциации избран директор ФБУН НИИЭМ им. академика И.Н.Блохиной д.м.н., профессор, Заслуженный врач РФ Ефимов Е.И., Исполнительным директором Ассоциации избран заместитель директора ФБУН ГНЦ ПМБ по научно-производственной работе д.б.н. Шепелин А.П.

В соответствии с Уставом членами Ассоциации могут быть как физические, так и юридические лица. При приеме Кандидата в члены Ассоциации пишется письменное заявление Исполнительному директору Ассоциации. Новый член принимается в Ассоциацию в течение 3 (трех) месяцев с момента представления соответствующего заявления по решению Общего собрания членов Ассоциации. Новые члены (некоторые типы юридических лиц) Ассоциации вносят вступительный и ежегодный взносы. Физические лица от взносов освобождены. Кандидат в члены Ассоциации приобретает права и несет обязанности члена Ассоциации с даты принятия решения о приеме Общим собранием членов Ассоциации.

Целью деятельности Ассоциации, в соответствии с ее Уставом, является объединение юридических и физических лиц для осуществления следующих основных видов деятельности:

- разработка и реализация различных программ и проектов, направленных на изучение, обобщение и распространение передового отечественного и зарубежного опыта в сфере бактериологических исследований;
- участие, организация и проведение научных съездов, конгрессов, конференций, симпозиумов, семинаров, выставок с целью популяризации достижений науки и практики в области классических методов бактериологических исследований и внедрения их в практику здравоохранения;



- содействие членам Ассоциации в осуществлении функций, обеспечивающих достижение управленческих, социальных, научно-практических целей, а также представление законных интересов, содействие защите профессиональных, авторских и смежных прав членов Ассоциации;
 - осуществление издательской деятельности в установленном законодательством порядке, включая выпуск и реализацию информационной литературы, периодических и научно-методических изданий, видеоматериалов, другой продукции по вопросам уставной деятельности Ассоциации.
- Подробнее информацию о деятельности Ассоциации можно узнать на сайте ФБУН ГНЦ ПМБ (obolensk.org) и сайте Ассоциации (assobakt.ru).

УТВЕРЖДЕН
Протоколом № 1
Общего собрания учредителей
от 14 декабря 2017 г.

УСТАВ Ассоциации «Национальное научно-практическое общество бактериологов»

Московская обл. – 2017 г.

1. Общие положения

1.1. Ассоциация «Национальное научно-практическое общество бактериологов» (далее – Ассоциация) создана в соответствии с Гражданским кодексом Российской Федерации, Федеральным законом «О некоммерческих организациях» и иными правовыми актами Российской Федерации.

1.2. Полное наименование Ассоциации на русском языке: **Ассоциация «Национальное научно-практическое общество бактериологов».**

1.3. Сокращенное наименование Ассоциации на русском языке: **ННПОБ.**

1.4. Полное наименование Ассоциации на английском языке: **Association «National scientific-practical society of bacteriologists».**

1.5. Сокращенное наименование Ассоциации на английском языке: **NSPSB.**

1.6. Место нахождения Ассоциации: РФ, 142279, Московская область, Серпуховский район, г.п. Оболенск, ул. Строителей, д. 1, пом. 2.

2. Правовое положение Ассоциации

2.1. Правовое положение Ассоциации определяется Гражданским кодексом Российской Федерации, Федеральным законом «О некоммерческих организациях», иными нормативными правовыми актами Российской Федерации, а также настоящим Уставом.

2.2. Ассоциация является юридическим лицом с момента ее государственной регистрации.

2.3. Ассоциация является некоммерческой корпоративной организацией, не преследует в качестве основной цели своей деятельности извлечение прибыли и не распределяет полученную прибыль между членами Ассоциации.

2.4. Ассоциация имеет в собственности обособленное имущество, учитываемое на ее самостоятельном балансе, может от своего имени приобретать и осуществлять имущественные и неимущественные права, нести обязанности, быть истцом и ответчиком в суде.

2.5. Ассоциация вправе в установленном порядке открывать счета в банках на территории Российской Федерации и за пределами ее территории.

2.6. Ассоциация несет ответственность по своим обязательствам всем принадлежащим ей имуществом. Ассоциация не отвечает по обязательствам своих членов. Члены Ассоциации несут субсидиарную ответственность по обязательствам Ассоциации в размере уплаченного вступительного взноса.

2.7. Ассоциация имеет круглую печать, содержащую ее полное наименование на русском языке. Ассоциация вправе иметь штампы и бланки со своим наименованием.

2.8. Для достижения целей, предусмотренных настоящим Уставом, Ассоциация вправе принимать участие в других юридических лицах в соответствии с законодательством Российской Федерации, а также создавать иные юридические лица, вступать в ассоциации и союзы.

2.9. Ассоциация не вправе вмешиваться в хозяйственную деятельность членов Ассоциации.

2.10. Ассоциация создана без ограничения срока деятельности.

3. Цель, предмет и виды деятельности Ассоциации

3.1. Основной целью деятельности Ассоциации является объединение юридических и физических лиц, заинтересованных в развитии и совершенствовании бактериологических исследований, направленных на улучшение диагностики инфекционных болезней в сфере здравоохранения, ветеринарии, пищевой промышленности, а также представление и защита общих интересов членов Ассоциации.

3.2. Предметом деятельности Ассоциации является достижение ее цели путем осуществления, в соответствии с действующим законодательством, следующих видов деятельности:

- разработка и реализация различных программ и проектов, направленных на изучение, обобщение и распространение передового отечественного и зарубежного опыта в сфере бактериологических исследований;

- участие, организация и проведение научных съездов, конгрессов, конференций, симпозиумов, семинаров, выступавших с целью популяризации достижений науки и практики в области классических методов бактериологических исследований и внедрения их в практику здравоохранения;

- содействие членам Ассоциации в осуществлении функций, обеспечивающих достижение управленческих, социальных, научно-практических целей, а также представление законных интересов, содействие защите профессиональных, авторских и смежных прав членов Ассоциации;

- организация информационного обмена между членами Ассоциации;

- осуществление справочно-консультативной деятельности, обобщение полученных данных и создание банка данных в соответствии с уставной целью Ассоциации;

- создание основ и форм взаимодействия членов Ассоциации, позволяющих им использовать возможности друг друга для более успешного ведения ими профессиональной деятельности;

- участие в разработке и дальнейшем внедрении современных методов микробиологической диагностики (культуральных и серологических методов исследований, методов молекулярной микробиологии);

- координация и объединение усилий научных и практических учреждений и их специалистов, направленных на совершенствование методов выявления возбудителей инфекционных заболеваний;

- содействие проведению научных исследований в области бактериологии и антибиотикорезистентности инфекционных патогенов;

- популяризация достижений науки и практики в области питательных сред и смежных дисциплин, ускорение их внедрения в практику;

- создание условий для наиболее эффективной реализации творческого потенциала членов Ассоциации в интересах развития теории и практики в области практической бактериологии;

- осуществление профессиональных и научных связей со специалистами и обществами других медицинских, биологических и ветеринарных специальностей, развитие международных научных связей;

- содействие разработке предложений и рекомендаций на основе отечественного и зарубежного опыта по эффективным методам и средствам диагностики инфекционных заболеваний микробиологическими методами, внесение их на рассмотрение органов здравоохранения и госсанэпидслужбы для использования в медицинской практике в установленном законом порядке;

- содействие научной, исследовательской, издательской, пропагандистской деятельности среди широкой медицинской, биологической и ветеринарной общественности;

- участие в разработке научно обоснованной системы подготовки специалистов по профилю Ассоциации;

- участие в разработке и экспертизе программ и планов до- и последиplomной подготовки специалистов;

- содействие повышению квалификации как членов Ассоциации, так и всех специалистов, занимающихся бактериологическими исследованиями, расширению и углубле-

нию их специальных знаний, проведению научно-практических семинаров и обучающих курсов;

- содействие разработке, реализации и развитию эффективной защиты интересов производителей и поставщиков медицинских изделий, являющихся членами Ассоциации;

- участие в порядке, предусмотренном действующим законодательством, в выработке решений органов государственной власти, местного самоуправления по разработке и реализации программ, связанных с уставной деятельностью Ассоциации;

- учреждение средств массовой информации, организация просветительской, информационной, экспертно-консультационной деятельности по вопросам уставной деятельности Ассоциации;

- осуществление издательской деятельности в установленном законодательством порядке, включая выпуск и реализацию информационной литературы, периодических и научно-методических изданий, видеоматериалов, другой продукции по вопросам уставной деятельности Ассоциации.

3.3. Для достижения установленной цели Ассоциация имеет право:

- осуществлять в полном объеме полномочия, предусмотренные действующим законодательством Российской Федерации;

- оказывать поддержку физическим и юридическим лицам, чьи направления деятельности не противоречат цели Ассоциации;

- взаимодействовать и развивать сотрудничество с коммерческими и некоммерческими организациями, в том числе зарубежными и международными;

- заключать гражданско-правовые сделки, не противоречащие Уставу Ассоциации и действующему законодательству;

- способствовать распространению информации, организовывать форумы, семинары, выставки и иные мероприятия, связанные с уставными целями и задачами Ассоциации;

- осуществлять деятельность по обработке данных, созданию и использованию баз данных и информационных ресурсов;

- развивать материально-техническую базу, привлекать финансовые средства для развития и повышения эффективности деятельности Ассоциации;

- свободно распространять информацию о своей деятельности;

- учреждать средства массовой информации;

- представлять и защищать свои права, законные интересы в органах государственной власти и органах местного самоуправления;

- использовать финансовые средства Ассоциации на цели, ради которых создана Ассоциация;

- нанимать специалистов для содействия реализации цели и предмета деятельности Ассоциации;

- командировать специалистов для участия в мероприятиях, связанных с обменом опытом, переподготовкой и повышением квалификации, в том числе за рубежом;

- самостоятельно разрабатывать и утверждать планы и программы своей деятельности;

- заключать соглашения, соответствующие цели и предмету Ассоциации;

• учреждать премии, стипендии, гранты и иные виды поощрений.

4. Членство в Ассоциации, права и обязанности членов Ассоциации

4.1. Членами Ассоциации являются ее Учредители, а также иные полностью дееспособные граждане – граждане Российской Федерации, иностранные граждане и лица без гражданства, законно находящиеся в Российской Федерации, и (или) юридические лица, которые разделяют цели деятельности Ассоциации и признают ее Устав, вошедшие в Ассоциацию после ее создания в порядке и на условиях, предусмотренных настоящим Уставом.

4.2. Членство в Ассоциации является добровольным.

4.3. Порядок приема Кандидата в члены Ассоциации:

4.3.1. Кандидат в члены Ассоциации подает письменное заявление Исполнительному директору Ассоциации.

4.3.2. Новый член принимается в Ассоциацию в течение 3 (трех) месяцев с момента представления соответствующего заявления по решению Общего собрания членов Ассоциации.

4.3.3. Решение Общего собрания членов Ассоциации о приеме Кандидата в члены Ассоциации либо об отказе в приеме его в члены Ассоциации доводится до сведения Кандидата не позднее 1 (одного) месяца с даты его принятия;

4.3.4. Новый член Ассоциации обязан внести вступительный и ежегодный взносы в течение 10 (десяти) рабочих дней с момента принятия решения о приеме его в члены Ассоциации. В случае неуплаты предусмотренных взносов член Ассоциации может быть исключен из состава членов Ассоциации.

4.3.5. Кандидат в члены Ассоциации приобретает права и несет обязанности члена Ассоциации с даты принятия Общим собранием членов Ассоциации решения о приеме его в члены Ассоциации.

4.4. Члены Ассоциации имеют право:

1) в порядке, установленном законом и настоящим Уставом, участвовать в управлении делами Ассоциации;

2) в случаях и в порядке, которые предусмотрены законом и настоящим Уставом, получать информацию о деятельности Ассоциации, знакомиться с ее бухгалтерской и иной документацией;

3) в порядке, установленном законом, обжаловать решения органов Ассоциации, влекущие за собой гражданско-правовые последствия;

4) требовать, действуя от имени Ассоциации (пункт 1 статьи 182 ГК РФ), возмещения причиненных Ассоциации убытков (статья 53.1 ГК РФ);

5) оспаривать, действуя от имени Ассоциации (пункт 1 статьи 182 ГК РФ), совершенные ею сделки по основаниям, предусмотренным статьей 174 ГК РФ, и требовать применения последствий их недействительности, а также применения последствий недействительности ничтожных сделок Ассоциации;

6) безвозмездно, если иное не предусмотрено законом, пользоваться оказываемыми Ассоциацией услугами на равных началах с другими его членами;

7) по своему усмотрению выйти из Ассоциации, в этом случае член Ассоциации несет субсидиарную ответствен-

ность по обязательствам Ассоциации в течение двух лет с момента выхода;

8) осуществлять иные права, предусмотренные законом и настоящим Уставом, в порядке, установленном уставом Ассоциации.

4.5. Члены Ассоциации обязаны:

1) участвовать в образовании имущества Ассоциации в порядке, в размере, способом и в сроки, которые предусмотрены настоящим Уставом в соответствии действующим законодательством;

2) не разглашать конфиденциальную информацию о деятельности Ассоциации;

3) участвовать в принятии решений, если его участие в соответствии с действующим законодательством и (или) настоящим Уставом необходимо для принятия таких решений;

4) не совершать действия, заведомо направленные на причинение вреда Ассоциации, членом которого он является;

5) не совершать действия (бездействие), которые существенно затрудняют или делают невозможным достижение целей, ради которых создана Ассоциация;

6) уплачивать предусмотренные настоящим Уставом членские взносы;

7) по решению Общего собрания членов Ассоциации внести дополнительные имущественные взносы.

4.6. Члены Ассоциации несут субсидиарную ответственность по обязательствам Ассоциации в размере уплаченного вступительного взноса.

4.7. Член Ассоциации может быть исключен из Ассоциации по решению Общего собрания членов Ассоциации в следующих случаях:

- нарушение членом Ассоциации порядка и сроков уплаты членских взносов;

- невыполнение членом Ассоциации требований настоящего Устава;

- невыполнение решений органов управления Ассоциации, принятых в соответствии с их компетенцией;

- несоответствие члена Ассоциации требованиям, предъявляемым к членам Ассоциации.

4.8. Решение об исключении члена из Ассоциации, принятое Общим собранием членов Ассоциации, доводится до исключенного члена Ассоциации в течение 30 дней с даты его принятия.

4.9. Член Ассоциации считается исключенным и перестает пользоваться правами и нести обязанности в соответствии с настоящим Уставом непосредственно после принятия Общим собранием членов Ассоциации решения о его исключении из Ассоциации.

4.10. Член Ассоциации вправе по своему усмотрению выйти из Ассоциации. Для добровольного выхода из Ассоциации член Ассоциации направляет уведомление о выходе из Ассоциации заказным письмом с уведомлением о вручении в адрес Ассоциации.

С момента выхода члена из Ассоциации прекращаются все права и обязанности члена Ассоциации, предусмотренные настоящим Уставом.

4.11. Члену Ассоциации, вышедшему или исключенному из Ассоциации, не возвращаются уплаченные им до принятия решения об исключении из Ассоциации или до момента

выхода из Ассоциации вступительный и членские взносы, а также иные вклады в имущество Ассоциации.

4.12. В случае реорганизации члена Ассоциации (юридического лица) в форме слияния, присоединения или преобразования все права и обязанности члена Ассоциации переходят к его правопреемнику. При этом дополнительное решение о приеме в члены Ассоциации не требуется и не подлежит уплате вступительный взнос.

4.13. В случае реорганизации члена Ассоциации в форме разделения или выделения все права и обязанности члена Ассоциации переходят к одному из его правопреемников в соответствии с передаточным актом. При этом дополнительное решение о приеме в члены Ассоциации правопреемника, к которому перешли права и обязанности члена Ассоциации, не требуется и не подлежит уплате вступительный взнос.

Иные правопреемники члена Ассоциации, к которым в соответствии с передаточным актом не перешли права и обязанности члена Ассоциации, вправе вступить в члены Ассоциации на общих основаниях в порядке, предусмотренном настоящим Уставом.

4.14. В случае ликвидации члена Ассоциации его членство в Ассоциации прекращается.

5. Органы управления и надзора Ассоциации

5.1. Органами управления Ассоциации являются:

- Общее собрание членов – высший коллегиальный орган управления;
- Совет – коллегиальный орган управления;
- Президент – единоличный орган управления и исполнения;
- Вице-президент – единоличный орган управления и исполнения;
- Исполнительный директор – единоличный исполнительный орган.

5.2. Органом надзора Ассоциации является Ревизионная комиссия.

6. Общее собрание членов Ассоциации

6.1. Высшим органом управления Ассоциации является Общее собрание членов Ассоциации.

Основной функцией Общего собрания членов Ассоциации является обеспечение соблюдения Ассоциацией целей, в интересах которых Ассоциация создана.

6.2. К компетенции Общего собрания членов Ассоциации относится решение следующих вопросов:

6.2.1. Определение приоритетных направлений деятельности Ассоциации, принципов образования и использования ее имущества;

6.2.2. Утверждение и изменение Устава Ассоциации;

6.2.3. Определение порядка приема в члены Ассоциации и исключения из числа членов Ассоциации;

6.2.4. Избрание членов Совета Ассоциации и досрочное прекращение их полномочий, а также определение количественного состава Совета Ассоциации;

6.2.5. Избрание Президента, Вице-президента, Исполнительного директора Ассоциации по представлению кандидатур Советом Ассоциации и досрочное прекращение их полномочий;

6.2.6. Избрание членов Ревизионной комиссии Ассоциации и досрочное прекращение их полномочий, а также определение количественного состава Ревизионной комиссии Ассоциации;

6.2.7. Образование других органов Ассоциации и досрочное прекращение их полномочий;

6.2.8. Принятие решений о создании Ассоциацией других юридических лиц;

6.2.9. Принятие решений об участии Ассоциации в других юридических лицах, о создании филиалов и об открытии представительств Ассоциации;

6.2.10. Принятие решений о реорганизации или ликвидации Ассоциации, о назначении ликвидационной комиссии (ликвидатора) и об утверждении ликвидационного баланса;

6.2.11. Принятие решений об утверждении аудиторской организации или индивидуального аудитора Ассоциации;

6.2.12. Принятие решения о порядке определения размера и способа уплаты членских взносов, дополнительных имущественных и иных взносах в имущество Ассоциации и о размере их субсидиарной ответственности по обязательствам Ассоциации;

6.2.13. Принятие решения о приеме в Ассоциацию новых членов и об исключении членов Ассоциации;

6.2.14. Утверждение Положения о членстве в Ассоциации;

6.2.15. Решение иных вопросов, отнесенных Федеральным законом и настоящим Уставом к компетенции Общего собрания членов Ассоциации.

6.3. Вопросы, отнесенные к компетенции Общего собрания членов Ассоциации, не могут быть переданы на решение иных органов Ассоциации.

6.4. Вопросы, указанные в п. 6.2.1–6.2.14 настоящего Устава, относятся к исключительной компетенции Общего собрания и принимаются квалифицированным большинством в две трети голосов от числа членов Ассоциации, присутствующих на Общем собрании членов Ассоциации. Решения Общего собрания членов Ассоциации по остальным вопросам его компетенции принимаются простым большинством голосов членов Ассоциации, присутствующих на Общем собрании членов Ассоциации, если для принятия решения настоящим Уставом не предусмотрено иное.

6.5. На Общем собрании членов Ассоциации каждый член Ассоциации обладает одним голосом.

6.6. Созыв и подготовку проведения Общего собрания членов Ассоциации осуществляет Совет Ассоциации.

6.7. При проведении Общего собрания членов Ассоциации принявшими участие в собрании считаются присутствующие на собрании члены Ассоциации.

6.8. Общее собрание членов Ассоциации правомочно (имеет кворум), если на нем присутствуют более половины членов Ассоциации.

6.9. Очередное Общее собрание членов Ассоциации проводится 1 (один) раз в год.

6.10. Внеочередное Общее собрание членов Ассоциации проводится по решению Совета, Президента, Исполнительного директора или по требованию членов Ассоциации, составляющих не менее чем 10 процентов от общего числа членов Ассоциации.

6.11. Для организации и ведения Общего собрания членов Ассоциации на собрании избираются Председатель и

Секретарь общего собрания из числа членов – физических лиц или представителей членов – юридических лиц, присутствующих на собрании. Протоколы Общих собраний подписываются Председателем и Секретарем общего собрания членов. Ответственность за хранение Протоколов Общих собраний членов Ассоциации возлагается на Исполнительного директора.

7. Совет Ассоциации

7.1. Количественный состав Совета Ассоциации определяется Общим собранием членов Ассоциации и должен быть не менее 5 (пяти) членов – физических лиц. Лица, избранные в Совет Ассоциации, могут переизбираться неограниченное число раз.

7.2. Члены Совета Ассоциации избираются Общим собранием членов Ассоциации сроком на 5 (пять) лет.

7.3. Полномочия члена Совета Ассоциации могут быть прекращены досрочно по решению Общего собрания членов Ассоциации либо в результате подачи членом Совета Президенту письменного заявления о его выходе из состава Совета Ассоциации.

7.4. Очередное заседание Совета Ассоциации проводится 1 (один) раз в год.

7.4. Созыв и подготовку заседаний Совета Ассоциации организует Президент или Вице-президент Ассоциации.

7.5. Внеочередное заседание Совета Ассоциации проводится по решению Президента, Вице-президента, Исполнительного директора или по требованию членов Совета Ассоциации, составляющих не менее 1/3 от общего числа членов Совета.

7.5. Для ведения заседания Совета Ассоциации избираются Председатель и Секретарь из числа членов Совета. На заседании Совета Секретарем ведется протокол, который подписывают Председатель и Секретарь.

7.6. К компетенции Совета Ассоциации относятся решение следующих вопросов:

- представление Общему собранию членов Ассоциации кандидатур для назначения на должность Президента, Вице-президента и Исполнительного директора;
- утверждение годового отчета и бухгалтерской (финансовой) отчетности Ассоциации;
- утверждение финансового плана Ассоциации и внесение в него изменений;
- принятие решений о создании комитетов, комиссий и иных рабочих групп Ассоциации;
- принятие решения о созыве Общего собрания членов Ассоциации;
- принятие решения о проведении Ревизионной комиссией внеочередной ревизии финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации;
- одобрение сделок, предусмотренных статьей 27 Федерального закона «О некоммерческих организациях»;
- решение иных вопросов, не входящих в компетенцию других органов Ассоциации.

7.7. Заседания Совета Ассоциации проводятся по мере необходимости, но не реже одного раза в год. Заседания Совета созываются Президентом, Исполнительным директором Ассоциации по их собственной инициативе или по требованию не менее трех членов Совета, Ревизионной

комиссии или членов Ассоциации, составляющих не менее чем 10 процентов от общего числа членов Ассоциации.

7.8. Кворум для проведения заседания Совета Ассоциации составляет не менее половины от общего числа членов Совета Ассоциации.

7.9. При решении вопросов на заседании Совета каждый член Совета Ассоциации обладает одним голосом.

7.10. Решения Совета Ассоциации по вопросам его компетенции принимаются большинством голосов членов Совета Ассоциации, присутствующих на заседании.

7.11. Лица, осуществляющие полномочия единоличных исполнительных органов Ассоциации, не могут составлять более одной четверти состава Совета и не могут являться его председателем.

8. Исполнительные органы Ассоциации

8.1. В Ассоциации действуют несколько исполнительных органов: Президент и Исполнительный директор, которые подотчетны Общему собранию членов Ассоциации.

8.2. Президент и Исполнительный директор избираются Общим собранием членов по представлению Совета Ассоциации на срок 5 (пять) лет.

8.3. Президент Ассоциации:

- без доверенности действует от имени Ассоциации и представляет интересы Ассоциации в отношениях с государственными, общественными и иными организациями;
- организует выполнение решений, принятых Общим собранием членов Ассоциации и Советом Ассоциации;
- выдает доверенности и совершает иные юридические действия от имени Ассоциации;
- подписывает трудовые договоры с работниками Ассоциации;
- осуществляет в отношении работников Ассоциации права и обязанности работодателя;
- применяет к работникам Ассоциации меры дисциплинарного взыскания и поощрения в соответствии с законодательством Российской Федерации;
- обеспечивает доведение до членов Ассоциации решений, принятых Общим собранием членов Ассоциации;
- осуществляет подготовку и представляет на рассмотрение Общего собрания членов Ассоциации годовой отчет, отчет о выполнении решений Общего собрания членов Ассоциации, проект финансового плана;
- формирует текущий и перспективный план деятельности Ассоциации и выносит их на утверждение Совета Ассоциации;
- обеспечивает безопасность Ассоциации, в том числе защиту интересов Ассоциации от противоправных действий физических и юридических лиц, защиту сведений, составляющих коммерческую тайну, а также решение вопросов по информационной безопасности;
- решает иные вопросы руководства текущей деятельностью Ассоциации, за исключением вопросов, отнесенных к компетенции иных органов Ассоциации.

8.4. Вице-президент Ассоциации избирается Общим собранием членов по представлению Совета Ассоциации на срок 5 (пять) лет. Вице-президент Ассоциации:

- оказывает помощь в проведении заседаний Совета, замещает Председателя Совета при его отсутствии;

- обеспечивает доведение до членов Ассоциации решений, принятых на Общем собрании и Совете Ассоциации;
- способствует выполнению решений, принятых Общим собранием членов Ассоциации и Советом Ассоциации;
- участвует в формировании текущего и перспективного плана деятельности Ассоциации;
- решает иные вопросы руководства текущей деятельностью Ассоциации, за исключением вопросов, отнесенных к компетенции иных органов Ассоциации.

8.5. Исполнительный директор Ассоциации:

- без доверенности действует от имени Ассоциации, представляя ее интересы в органах государственной власти и управления, в отношениях с юридическими лицами и гражданами, как на территории Российской Федерации, так и за ее пределами, вправе назначать своих заместителей и делегировать им часть своих полномочий;
- обеспечивает ведение бухгалтерского учета и подачу отчетности, требуемой законодательством РФ;
- ведет список членов Ассоциации;
- пользуется правом распоряжения имуществом и денежными средствами, заключает договоры, в том числе трудовые, выдает доверенности, открывает в банках расчетный и другие счета, издает приказы и распоряжения, дает указания, обязательные для исполнения всеми сотрудниками, по вопросам, относящимся к его компетенции.

8.6. Также в компетенцию Исполнительного директора входит:

- материально-техническое обеспечение деятельности Ассоциации в пределах собственных средств;
- привлечение для осуществления уставной деятельности дополнительных источников финансовых и материальных средств;
- представление Совету Ассоциации ежегодного отчета о поступлении и расходовании средств;
- утверждение штатного расписания и должностных обязанностей;
- решение кадровых и других вопросов, не относящихся к компетенции иных органов Ассоциации.

8.7. Президент, Вице-президент и Исполнительный директор при осуществлении своих прав и исполнении обязанностей должны действовать в интересах Ассоциации, осуществлять свои права и исполнять обязанности в отношении Ассоциации добросовестно и разумно.

8.8. Президент, Вице-президент и Исполнительный директор несут ответственность перед Ассоциацией за убытки, причиненные их виновными действиями (бездействием) в случаях, предусмотренных законодательством Российской Федерации и трудовыми договорами, заключаемыми с ними.

9. Ревизионная комиссия Ассоциации

9.1. Для осуществления контроля за финансово-хозяйственной деятельностью Ассоциации Общим собранием членов избирается Ревизионная комиссия в составе не менее 3 (трех) членов сроком на 5 (пять) лет. Для организации работы Ревизионной комиссии избирается ее Председатель.

9.2. Полномочия члена Ревизионной комиссии Ассоциации могут быть прекращены досрочно по решению Общего

собрания членов Ассоциации либо в результате подачи членом Ревизионной комиссии Председателю Ревизионной комиссии письменного заявления о его выходе из состава Ревизионной комиссии.

9.3. Заседания Ревизионной комиссии Ассоциации проводятся по мере необходимости, но не реже одного раза в год. Заседания Ревизионной комиссии созываются Председателем Ревизионной комиссии, Президентом, Исполнительным директором Ассоциации по их собственной инициативе или по требованию не менее трех членов Совета или членов Ассоциации, составляющих не менее чем 10 процентов от общего числа членов Ассоциации.

9.4. Кворум для проведения заседания Ревизионной комиссии Ассоциации составляет не менее половины от общего числа членов Ревизионной комиссии Ассоциации.

9.5. При решении вопросов на заседании Ревизионной комиссии каждый член Ревизионной комиссии Ассоциации обладает одним голосом.

9.6. Решения Ревизионной комиссии Ассоциации по вопросам ее компетенции принимаются большинством голосов членов Ревизионной комиссии, присутствующих на заседании.

9.7. Ревизионная комиссия:

- контролирует финансовую и предпринимательскую деятельность исполнительного органа;
- осуществляет ревизию расходования денежных средств и материальных ценностей;
- проверяет сроки и правильность прохождения дел, работу с предложениями и заявлениями в исполнительном органе;
- осуществляет контроль над подготовкой отчетов об исполнении сметы доходов и расходов.

9.8. Ревизия финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации проводится не реже одного раза в год.

9.9. Председатель и Секретарь Ревизионной комиссии избираются по решению Ревизионной комиссии сроком на 5 (пять) лет. Председатель Ревизионной комиссии организует проведение заседаний Ревизионной комиссии, руководит ее деятельностью и координирует ее. В компетенцию Секретаря Ревизионной комиссии входит оказание помощи Председателю в проведении заседаний Ревизионной комиссии. На заседании Ревизионной комиссии ведется протокол, который подписывают Председатель и Секретарь.

9.10. Членами Ревизионной комиссии не могут быть Президент, Вице-президент, Исполнительный директор, а также члены Совета Ассоциации.

9.11. Ревизионная комиссия осуществляет ревизию финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации и представляет отчет Совету и Общему собранию членов Ассоциации.

9.12. Решением Общего собрания членов, Совета Ассоциации может быть назначено проведение внеочередной ревизии финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации за период, указанный в данном решении. Совет Ассоциации обязан принять решение о проведении внеочередной ревизии финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации при наличии письменного требования членов Ассоциации, составляющих не менее чем 10 процентов от общего числа членов Ассоциации.

9.13. О результатах ревизии финансово-хозяйственной деятельности Ассоциации Ревизионная комиссия составляет отчет. Отчет о результатах проведенной внеочередной ревизии представляется Общему собранию членов, Совету Ассоциации.

10. Источники формирования имущества Ассоциации

10.1. Источниками формирования имущества Ассоциации в денежных и иных формах являются:

- вступительный (единовременный) и текущие (регулярные) взносы членов Ассоциации;
- добровольные имущественные взносы и пожертвования;
- дивиденды (доходы, проценты), получаемые по акциям, облигациям, другим ценным бумагам и вкладам;
- доходы, получаемые от собственности Ассоциации;
- другие поступления, не противоречащие законодательству Российской Федерации.

10.2. Регулярные поступления от членов производятся один раз в год в размере и в сроки, установленные Общим собранием членов Ассоциации.

10.3. Ассоциация может осуществлять предпринимательскую деятельность лишь постольку, поскольку это служит достижению целей, ради которых она создана, и соответствует указанным целям, при условии, что такая деятельность указана в настоящем Уставе. Ассоциация вправе осуществлять следующую предпринимательскую деятельность: приносящее прибыль производство товаров и услуг, отвечающих целям создания Ассоциации, приобретение и реализация ценных бумаг, имущественных и неимущественных прав, участие в хозяйственных обществах и участие в товариществах на вере в качестве вкладчика.

11. Филиалы и представительства Ассоциации

11.1. Ассоциация может создавать филиалы и открывать представительства на территории Российской Федерации.

11.2. Филиалы и представительства Ассоциации не являются юридическими лицами, действуют от имени Ассоциации и на основании утвержденных Ассоциацией положений.

11.3. Филиалы и представительства Ассоциации осуществляют деятельность от имени Ассоциации.

11.4. Филиалы и представительства Ассоциации наделяются имуществом, которое учитывается как на их отдельных балансах, так и на балансе Ассоциации.

11.5. Руководители филиала и представительства Ассоциации действуют на основании доверенностей, выданных Ассоциацией.

11.6. Ассоциация несет ответственность за деятельность своих филиалов и представительств.

12. Учет и отчетность Ассоциации

12.1. Бухгалтерский, оперативный и статистический учет и отчетность в Ассоциации ведутся по нормам, действующим в РФ. Организация документооборота в Ассоциации, в его филиалах и представительствах устанавливается Общим собранием Ассоциации.

12.2. Ответственность за состояние учета, своевременное представление бухгалтерской и иной отчетности возлагается на Исполнительного директора Ассоциации.

12.3. Годовой отчет и баланс составляются Исполнительным директором и с заключением Ревизионной комиссии представляются на утверждение Совета Ассоциации.

12.4. Должностные лица несут установленную законодательством ответственность за достоверность содержащихся в годовом отчете и балансе сведений.

13. Хранение документов Ассоциации.

Предоставление информации Ассоциацией

13.1. Ассоциация обязана хранить следующие документы:

- 1) Устав Ассоциации;
- 2) документы, подтверждающие права Ассоциации на имущество, находящееся на его балансе;
- 3) документы, утверждаемые органами управления Ассоциации;
- 4) положения о филиалах и представительствах Ассоциации;
- 5) годовые финансовые отчеты Ассоциации;
- 6) документы бухгалтерского учета;
- 7) документы финансовой отчетности, предоставляемые в соответствующие государственные органы;
- 8) протоколы Общих собраний членов Ассоциации;
- 9) иные документы, предусмотренные законодательством Российской Федерации, настоящим Уставом и внутренними документами Ассоциации.

13.2. Ассоциация хранит документы, предусмотренные пунктом 13.1 настоящего раздела Устава, по месту нахождения Ассоциации.

13.3. При реорганизации Ассоциации все документы передаются в установленном порядке правопреемнику.

13.4. Ассоциация обеспечивает членам Ассоциации доступ к следующим документам:

- Устав Ассоциации, внутренние положения, утвержденные Общим собранием членов Ассоциации;
- протоколы Общих собраний членов Ассоциации;
- заключения Ревизионной комиссии, аудиторской организации или индивидуального аудитора Ассоциации.

13.5. По требованию члена Ассоциации Ассоциация обязана предоставить ему за плату копии документов, предусмотренных пунктом 13.4 настоящего Устава, и иных документов Ассоциации, предусмотренных законодательством Российской Федерации. Размер платы устанавливается Исполнительным директором Ассоциации и не может превышать стоимости расходов на изготовление копий документов и оплаты расходов, связанных с направлением документов по почте.

14. Порядок внесения изменений в Устав Ассоциации

14.1. Изменения, вносимые в Устав Ассоциации, утверждаются в соответствии п. 6.4 настоящего Устава и подлежат государственной регистрации.

14.2. Изменения, вносимые в Устав Ассоциации, вступают в силу с момента их государственной регистрации.

15. Реорганизация и ликвидация Ассоциации

15.1. Ассоциация может быть реорганизована в порядке, предусмотренном законодательством Российской Федерации.

15.2. Реорганизация Ассоциации может быть осуществлена в форме слияния, присоединения, разделения, выделения и преобразования. Ассоциация может быть преобразована в общественную организацию, автономную некоммерческую организацию или фонд.

15.3. Ассоциация считается реорганизованной, за исключением случаев реорганизации в форме присоединения, с момента государственной регистрации вновь возникшей организации (организаций).

15.4. Ассоциация может быть ликвидирована по решению Общего собрания членов Ассоциации либо по решению суда на основании и в порядке, предусмотренном законодательством Российской Федерации и настоящим Уставом.

15.5. Ликвидация Ассоциации производится ликвидационной комиссией (ликвидатором), образуемой органом, принявшим решение о ликвидации Ассоциации. С момента назначения ликвидационной комиссии (ликвидатора) к ней переходят полномочия по управлению делами Ассоциации.

Ликвидационная комиссия (ликвидатор) от имени ликвидируемой Ассоциации выступает в суде.

15.6. При ликвидации Ассоциации расчеты с кредиторами осуществляются в соответствии с законодательством Российской Федерации.

При ликвидации Ассоциации оставшееся после удовлетворения требований кредиторов имущество не подлежит распределению между членами Ассоциации и направляется на цели, в интересах которых Ассоциация была создана.

15.7. Все документы Ассоциации (управленческие, финансово-хозяйственные, по личному составу и др.) передаются в установленном порядке организации-правопреемнику, а при его отсутствии – на государственное хранение в архив.

15.8. Ликвидация Ассоциации считается завершенной, а Ассоциация – прекратившей существование с момента внесения об этом записи в единый государственный реестр юридических лиц.

Содержание

Роль генотипирования <i>Staphylococcus aureus</i> при расследовании вспышек стафилококковых инфекций И.В.Абаев, Ю.П.Скрябин, И.А.Дятлов	5
Бактерицидное действие энтероцина E28 на <i>Listeria monocytogenes</i> в водопроводной воде А.А.Абаимова, М.Г.Теймуразов, Э.А.Светоч, В.В.Перелыгин, В.Д.Похиленко	5
Влияние pH среды культивирования на антимикробную активность экстрактов эндофитных грибов растений Узбекистана Л.И.Абдульмянова, Ф.А.Цхай, Г.А.Расулова, Т.Г.Гулямова	6
Термотолерантные микроорганизмы-нефтедеструкторы для биоремедиации загрязненных почв С.А.Айткельдиева, Э.Р.Файзулина, О.Н.Ауэзова, Л.Г.Татаркина, Г.А.Спанкулова	6
ПЦР-анализ в режиме реального времени как перспективный метод лабораторной диагностики риккетсиозов Э.Э.Алиева, Е.И.Бондаренко, М.Т.Гафарова, К.Д.Мальи, Е.А.Вербенец	7
Пробиотики, их влияние на микробиом кишечника А.В.Андреева, О.Н.Николаева, О.М.Алтынбеков, Г.М.Султангазин	7
Разнообразие и биотехнологический потенциал спорообразующих бактерий, выделенных из атмосферных аэрозолей Западной Сибири И.С.Андреева, А.С.Сафатов, Л.И.Пучкова, Е.К.Емельянова, Г.А.Бурак, В.А.Терновой	8
Современные проблемы оценки эпидемической значимости и управления уровнем биологической безопасности территорий, неблагополучных по бруцеллезу животных П.К.Аракелян, А.Н.Трегубов, Е.Н.Ильин, Н.В.Христенко, А.С.Димова, Т.А.Янченко, Н.В.Рудаков	8
Генотипические особенности штаммов <i>Legionella pneumophila</i>, выделенных в 2014–2015 годах Е.И.Асташкин, И.П.Мицевич, Н.Н.Карцев, Б.В.Ерусланов, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова	9
Экологически безопасные биопрепараты микробного происхождения для улучшения качества продукции и снижения заболеваемости сельскохозяйственных культур З.Р.Ахмедова	9
Гидролитические ферменты грибов, лизирующие клеточные стенки фитопатогенов З.Р.Ахмедова, З.Т.Хамраева, Т.Э.Шонахунов, М.А.Яхяева, И.Т.Гулямова	10
Микробиологические способы приготовления биологических кормов путем биотрансформации растительных отходов сельского хозяйства З.Р.Ахмедова, Т.Э.Шонахунов, Н.Т.Рашидова, Д.О.Рахманов	11
Гидролитически и антибиотически активные вещества микроорганизмов для трансформации отходов сельского хозяйства и кормопроизводства З.Р.Ахмедова, Т.Э.Шонахунов, Т.С.Хусанов, З.Т.Хамраева, М.А.Яхяева, И.Т.Гулямова	11
Влияние солеустойчивых ризобактерий хлопчатника на образование пролина в проростках хлопчатника на засоленных почвах А.Е.Бабина, Г.И.Джуманиязова, С.И.Закирьева, Х.С.Нарбаева	12
Разработка диагностических тест-систем для идентификации <i>Clostridium difficile</i> и их токсинов В.А.Баннов, Б.В.Ерусланов, И.П.Мицевич, Э.А.Светоч	12
Оценка профиля резистентности к антимикробным препаратам штаммов <i>Pseudomonas aeruginosa</i> – возбудителей наружных отитов Л.Т.Баязитова, О.Ф.Тюпкина, Т.А.Чазова, М.В.Целищева, Е.М.Покровская	13
Апробация иммунохроматографической тест-системы для выявления капсульного антигена чумного микроба в объектах окружающей среды и пробах от мелких млекопитающих С.А.Белькова, С.В.Балахонов, О.Д.Захлебная, С.Ф.Бикетов	14
Изучение уровня трансвариальной передачи <i>Candidatus R. tarasevichiae</i> в лабораторных линиях клещей <i>Ixodes persulcatus</i> О.А.Боброва, И.Е.Самойленко, В.В.Якименко, С.В.Штрек, В.А.Пар, Я.П.Иголкина	14
Выделение <i>Yersinia ruckeri</i> от человека Е.А.Богумильчик, Г.И.Кокорина, Е.В.Зуева, Т.Б.Поутонен, Е.В.Миорова, Е.А.Воскресенская	15
Применение алгоритмов метагеномного анализа для изучения сложных биологических образцов А.Г.Богун, А.А.Кисличкина, А.А.Сизова, Ю.П.Скрябин, Н.В.Майская, В.А.Фёдорова, И.А.Дятлов	15
Эффективность фаготерапии экспериментальной синегнойной инфекции у мышей А.И.Борзилов, О.В.Коробова, Т.И.Комбарова, В.П.Мякинина, В.В.Верёвкин, В.М.Красильникова, Н.В.Воложанцев	16
Проблемы обучения специалистов испытательного лабораторного центра института по отдельным видам исследований Н.В.Бренёва, С.А.Белькова, Н.Г.Гефан, Ж.А.Коновалова	17
Эффективный метод консервирования пивной дробины для кормления сельскохозяйственных животных на основе использования молочнокислых бактерий М.Т.Велямов, Ж.С.Алимкулов, М.Н.Абдибаева, Л.А.Курасова, Ш.М.Велямов, Т.М.Сарманкулов, М.Каюпова	17
Некоторые аспекты использования электрооптического анализа в микробиологии А.Г.Волошин, П.В.Слукин, С.Г.Игнатов, Н.К.Фурсова	19
Иммунорфометрическая характеристика биологических эффектов липополисахаридов <i>Pseudomonas aeruginosa</i> в эксперименте А.Р.Габдрахманова, А.Р.Мавзютов, Р.Р.Гарафутдинов, О.И.Машков, Р.Ш.Сафин	19
База данных «Заболеваемость туляремией на территории Российской Федерации» И.Г.Говорунов, Т.Ю.Кудрявцева	20
Проблемы мониторинга заболеваемости туляремией на территории Российской Федерации И.Г.Говорунов, Т.Ю.Кудрявцева	20
Изменения микрофлоры пародонта при применении ниосомального геля «Регенерин» в стоматологической практике Е.А.Гоптарева, И.А.Базиков	21
Изучение антимикробной активности модифицированных атомами серебра ниосом с фитоэкстрактами к пародонтопатогенам Е.А.Гоптарева, И.А.Базиков	21
К вопросу использования средств диагностики для индикации бешенства в полевом материале Е.А.Градобоева, Е.М.Полещук, А.А.Погода, Г.Н.Сидоров, И.В.Дериглазов	22

Антимикробные свойства пептида молочнокислой бактерии, выделенной из традиционного продукта С.М.Шайхин, М.С.Уразова, Г.К.Абитаева, Л.Р.Жапарова, Ж.Б.Текебаева, З.С.Сармурзина, К.Д.Закарья, А.Б.Абжалелов	80	Возможный способ длительного сохранения прихотливых микроорганизмов В.А.Шмыленко, А.П.Бондаренко	85
Белок внешней мембраны SurA и его роль в патогенности <i>Yersinia pestis</i> Р.З.Шайхутдинова, Т.Э.Светоч, С.А.Иванов, Т.И.Комбарова, С.В.Дентовская	81	Систематика возбудителей бактериальных природно-очаговых инфекций, основанная на применении формального анализа строя С.Н.Шпынов	85
Опыт применения магнитных частиц в прототипе оптического биосенсора для обнаружения белковых антигенов А.Г.Шевяков	82	Опыт молекулярно-генетической детекции фрагментов гена колибактина <i>Escherichia coli</i> при воспалительных заболеваниях кишечника Г.К.Юмагужина, А.Р.Мавзютов	86
Панкреатический гидролизат рыбной кормовой муки – полноценная белковая основа питательных сред А.П.Шепелин, Л.П.Шолохова, И.И.Марчихина, О.В.Полосенко	82	MALDI-TOF MS и полимеразная цепная реакция в идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий И.А.Янтурина, Г.Ф.Хасанова, А.Р.Мавзютов.	86
Использование питательных сред ФБУН ГНЦ ПМБ для выявления <i>Pseudomonas aeruginosa</i> А.П.Шепелин, А.Б.Сергеева, О.В.Полосенко, И.И.Марчихина	83	О результатах изучения антибиотикочувствительности сальмонелл, выделенных из пищевых продуктов и внешней среды на территории Ростовской области А.М.Рябова, И.Б.Явруян, Т.С.Гюрджиян, Т.В.Омельченко.	87
Влияние агаровых питательных сред на эффективность плазмидной криотрансформации туляремийного микроба Н.А.Шишкова, В.М.Павлов, Г.М.Вахрамеева, А.Н.Мокриевич.	84	Результаты оценки уровней инфицирования <i>Ixodes persulcatus</i> возбудителями анаплазмозов, эрлихиозов и клещевых боррелиозов в равнинной части Западной Сибири А.Г.Василенко, В.В.Якименко, А.К.Танцев	87

Contents

Role of <i>Staphylococcus aureus</i> genotyping in investigating staphylococcal infection outbreaks I.V.Abaev, Yu.P.Skryabin, I.A.Dyatlov	5
Bactericidal action of E28 enterocin on <i>Listeria monocytogenes</i> in running water A.A.Abaimova, M.G.Teimurazov, E.A.Svetoch, V.V.Perelygin, V.D.Pokhilenko	5
Influence of pH of the culture medium on antimicrobial activity of extracts of endophytic fungi of plants of Uzbekistan L.I.Abdul'myanova, F.A.Tskhai, G.A.Rasulova, T.G.Gulyamova	6
Thermotolerant microorganisms are oil destructors for bioremediation of contaminated soils S.A.Aitkel'dieva, E.R.Faizulina, O.N.Auezova, L.G.Tatarikina, G.A.Spankulova	6
Real-time PCR as a promising procedure of laboratory diagnostics of rickettsioses E.E.Alieva, E.I.Bondarenko, M.T.Gafarova, K.D.Malyi, E.A.Verbenets	7
Probiotics, their influence on intestinal microbiom A.V.Andreeva, O.N.Nikolaeva, O.M.Altynbekov, G.M.Sultangazin	7
The diversity and biotechnological potential of spore-forming bacteria isolated from atmospheric aerosols in Western Siberia I.S.Andreeva, A.S.Safatov, L.I.Puchkova, E.K.Emel'yanova, G.A.Buryak, V.A.Ternovoi	8
Modern problems of evaluation of epidemic significance and management of the level of biological safety of territories unfavorable for brucellosis in animals P.K.Arakelyan, A.N.Tregubov, E.N.II'in, N.V.Khristenko, A.S.Dimova, T.A.Yanchenko, N.V.Rudakov	8
Genotypic specific features of <i>Legionella pneumophila</i> strains isolated between 2014 and 2015 E.I.Astashkin, I.P.Mitsevich, N.N.Kartsev, B.V.Eruslanov, E.A.Svetoch, N.K.Fursova	9
Environmentally friendly bioformulations of the microbial origin for improving the quality of products and decreasing agricultural plant diseases Z.R.Akhmedova	9
Fungal hydrolytic enzymes lysing phytopathogen cell walls Z.R.Akhmedova, Z.T.Khamraeva, T.E.Shonakhunov, M.A.Yakhyaeva, I.T.Gulyamova	10
Microbiological production methods of biological fodder through biotransformation of agricultural plant waste Z.R.Akhmedova, T.E.Shonakhunov, N.T.Rashidova, D.O.Rakhmanov	11
Hydrolytically and antibiologically active microbial substances to transform agricultural waste as well as for fodder production Z.R.Akhmedova, T.E.Shonakhunov, T.S.Khusanov, Z.T.Khamraeva, M.A.Yakhyaeva, I.T.Gulyamova	11
Influence of salt-resistant rhizobacteria of cotton on the formation of proline in cotton seedlings on saline soils A.E.Babina, G.I.Dzhumaniyazova, S.I.Zakir'yeva, Kh.S.Narbaeva	12
Designing diagnostic test-systems for identification of <i>Clostridium difficile</i> and their toxins V.A.Bannov, B.V.Eruslanov, I.P.Mitsevich, E.A.Svetoch	12
Assessment of the profile of antimicrobials resistance in <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains causing external otitis L.T.Bayazitova, O.F.Tyupkina, T.A.Chazova, M.V.Tselishcheva, E.M.Pokrovskaya	13
Pilot testing the immunochromatographic test-system to identify plague microbe capsular antigen in environmental objects and in small mammal specimens S.A.Bel'kova, S.V.Balakhonov, O.D.Zakhlebnaya, S.F.Biketov	14
Assessing the extent of transovarial transfer of <i>Candidatus R. tarasevichiae</i> in laboratory lines of <i>Ixodes persulcatus</i> ticks O.A.Bobrova, I.E.Samoilenko, V.V.Yakimenko, S.V.Shtrek, V.A.Rar, Ya.P.Igolikina	14
Isolation of <i>Yersinia ruckeri</i> from humans E.A.Bogumil'chik, G.I.Kokorina, E.V.Zueva, T.B.Poutonen, E.V.Mironova, E.A.Voskresenskaya	15
Application of metagenomic analysis algorithms to study complex biological samples A.G.Bogun, A.A.Kislichkina, A.A.Sizova, Yu.P.Skryabin, N.V.Maiskaya, V.A.Fedorova, I.A.Dyatlov	15
Efficiency of phage therapy for experimental pyocyanic infection in mice A.I.Borzilov, O.V.Korobova, T.I.Kombarova, V.P.Myakinina, V.V.Verevkin, V.M.Krasil'nikova, N.V.Volozhantsev	16
Problems of training specialists of the institute's TLC in some research N.V.Breneva, S.A.Bel'kova, N.G.Gefan, Zh.A.Konovalova	17
The effective method of preservation of brewer's grains based on acid lactic bacteria to feed farm animals M.T.Velyamov, Zh.S.Alimkulov, M.N.Abdibaeva, L.A.Kurasova, Sh.M.Velyamov, T.M.Sarmankulov, M.Kayupova	17
Some aspects of applying the electrooptical analysis in microbiology A.G.Voloshin, P.V.Slugin, S.G.Ignatov, N.K.Fursova	19
Immunomorphometric characterization of biological effects of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LPS in an experiment A.R.Gabdrakhmanova, A.R.Mavzyutov, R.R.Garafutdinov, O.I.Mashkov, R.Sh.Safin	19
Database on «Incidence of tularemia in the Russian Federation» I.G.Govorunov, T.Yu.Kudryavtseva	20
Problems of monitoring incidence of tularemia in the Russian Federation I.G.Govorunov, T.Yu.Kudryavtseva	20
Changes in the periodontal microflora after the application of nisosomal gel «Regenerin» in dental practice E.A.Goptareva, I.A.Bazikov	21
The study of the antimicrobial activity of niosomes modified with silver atoms with phytoextracts against periodontopathogens E.A.Goptareva, I.A.Bazikov	21
On the question of use of diagnostic tools to indicate rabies in field material E.A.Gradoboeva, E.M.Poleshchuk, A.A.Pogoda, G.N.Sidorov, I.V.Deriglazov	22
The occurrence of pathogens of tick-borne infections in the Baikal area (according to data on the number of people addressed relating to sucked ticks) G.A.Danchinova, M.A.Khasnatinov, A.V.Lyapunov, E.L.Manzarova, N.A.Lyapunova, I.S.Solovarov, I.V.Petrova	22
Comparative genomic analysis of bacteriophages VSe11 and VSe102 of <i>Salmonella</i>-lysing serovars Enteritidis, Typhimurium and Infantis E.A.Denisenko, V.P.Myakinina, A.A.Kislichkina, V.V.Verevkin, V.M.Krasil'nikova, N.V.Volozhantsev	23

Study of antibacterial activity of cetylpyridinium chloride for bacterial biofilms causing infections of the upper respiratory tract E.V.Detusheva, N.K.Fursova	23	Antimicrobial efficacy of combined use of ophthalmic niosomal gel and electromagnetic therapy in the treatment of chemical burns of the cornea N.I.Kalinkina, I.A.Bazikov	33
Neutrophil immunoregulatory functions I.I.Dolgushin, E.A.Mezentseva, A.Yu.Savvochkina, E.A.Kuznetsova	24	Characterization of <i>E. coli</i> O157:H7 strain isolated from a patient with acute gastroenteritis N.N.Kartsev, I.P.Mitsevich, E.A.Alekseeva, V.Yu.Yakovleva	34
Micromycetes – contaminants of air and surfaces in facilities of S.Petersburg E.V.Dorshakova, I.E.Pavlova, T.S.Bogomolova	24	Microbiocenosis of intestinal contents of fish affected by <i>Opisthorchis felineus</i> larvae L.V.Kataeva, M.I.Belyaeva, T.F.Stepanova, O.V.Posoyuznykh, D.V.Nekrasova, O.N.Kolotova	34
The laboratory analysis of animal bones and bone fragments for the anthrax pathogen Z.F.Dugarzhapova, E.V.Kravets, V.E.Takaishvili, S.V.Balakhonov	25	Microbiological monitoring of circulating bacteria of the genus <i>Acinetobacter</i> in the intensive care units L.V.Kataeva, O.N.Kolotova, N.F.Karpukhina, A.A.Vakarina, T.F.Stepanova	35
Designing a liposomal drug form on the basis of <i>Bacillus mojavensis</i> anti-fungal metabolites I.A.Dunaitsev, A.N.Somov, I.O.Lev, S.K.Zhigletsova, M.V.Klykova	26	Characterization of the causative agent of typhoid fever isolated in the territories of the Russian Federation in 2005–2017 depending on sensitivity to antimicrobials L.A.Kaftyreva, S.A.Egorova	35
Designing diagnostic latex test systems at FBIS «State Research Center for Applied Microbiology and Bacteriology» S.I.Evsegneev, B.V.Eruslanov, I.P.Mitsevich, E.A.Svetoch	26	Leading sequence types of <i>Escherichia coli</i> strains producing wide-spectrum beta-lactamases in urinary tract diseases L.A.Kaftyreva, M.A.Makarova	36
Current status of the rabies-associated situation on the Crimean Peninsula I.L.Evstaf'ev, N.N.Tovpinets, E.M.Poleshchuk, G.N.Sidorov	27	Human and animal infections transmitted through tick bite in the Baikal region I.V.Kozlova, E.K.Doroshchenko, O.V.Suntsova, O.V.Lisak, V.A.Rar, S.E.Tkachev, Yu.S.Savinov, O.O.Chernoivanova	36
Realization of requirements to the novel professional standard for teaching medical microbiology A.N.Evstropov, L.N.Zakharova	27	Causative agents of purulent-septic infections in hospitals of Saint-Petersburg N.S.Kozlova, N.E.Barantsevich, K.G.Kosyakova, O.A.Kameneva, E.P.Barantsevich	37
The study of the spread of pathogenic agents of tick-borne encephalitis virus in non-endemic regions of Kazakhstan R.A.Egemberdieva, Zh.Zh.Shapieva, A.M.Dmitrovskii, A.Sh.Oradova, S.S.Tastanova, L.K.Ziyadina	28	DNA detection of causative agent of tularemia in adults and nymphs of the taiga tick (<i>Ixodes persulcatus</i>) M.I.Kormilitsyna, T.V.Mikhailova, E.I.Korenberg, Yu.V.Kovalevskii	37
Phenotypic detection of carbapenemase production in <i>Klebsiella</i> strains using CIM-test S.A.Egorova, L.A.Kraeva, N.V.Mikhailov, I.V.Likhachev, E.S.Karpova, A.A.Samoilova, E.V.Mel'nikova, T.N.Suborova	28	Comparative analysis of nutrient media for determining susceptibility of microorganisms to antimicrobials I.S.Kosilova, L.V.Domotenko, A.P.Shepelin	38
Molecular methods of identification of the paratyphoid B pathogen S.A.Egorova, L.A.Kaftyreva, O.A.Kameneva	29	Clinical manifestations of mixed infection of tick-borne encephalitis and tick-borne borreliosis in adults between 2008–2017 in Novosibirsk E.I.Krasnova, Yu.V.Kazakova, T.G.Burmistrova, V.G.Kuznetsova, M.V.Savel'eva	39
Laboratory diagnostics and emergency prevention of ixodic tick-borne borreliosis in Kemerovo region A.R.Efimova, O.M.Drozdova, Yu.S.Chukhrov	29	Isolation of tularemic microbe DNA in murine organ suspensions T.Yu.Kudryavtseva, I.Yu.Shchit	39
Development of next-generation antimicrobials to protect agricultural crops against diseases S.K.Zhigletsova, L.V.Kolombet, M.V.Klykova, I.O.Lev, I.A.Dunaitsev	30	Clinical and laboratory evaluation of a rapid method to detect resistant strains of causative agents of odontogenic infections A.A.Labazanov, A.A.Arutyunyan, S.V.Trofimov, A.Yu.Drobyshev, V.N.Tsarev	39
Susceptibility of <i>Salmonella</i> strains ser. <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Infantis</i> <i>S. Typhimurium</i> isolated from animals and livestock products to antimicrobials A.V.Zabrovskaya	30	Spread of hypervirulent lines of antibacterials-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> A.I.Lev, N.K.Fursova, A.I.Borzilov, E.I.Astashkin, N.V.Volozhantsev	40
Isolation of hemorrhagic fever virus with renal syndrome in the Perm region A.V.Zaikovskaya, P.F.Safronov, S.N.Sokolov, S.A.P'yankov, V.G.Ryzhaenkov, O.I.Yarovaya, L.E.Bulychev, S.A.Bodnev, O.V.P'yankov	31	Selection and assessment of the efficiency of probiotic microorganisms against <i>Salmonella carriage</i> in broilers V.P.Levchuk, N.I.Luneva, V.V.Perelygin, V.D.Pokhilenko, E.A.Svetoch	41
Bacteriogenic influence of mineral fertilizers on biometric indicators of tomato S.I.Zakir'yaeva, T.F.Aripov, G.I.Dzhumaniyazova, I.T.Shoamirov, A.M.Makhamedov	31	The use of molecular biological methods to justify the etiological significance of <i>Escherichia coli</i> in diarrhoeal diseases M.A.Makarova, Z.N.Matveeva, L.A.Kaftyreva	41
Antagonistic activity of immobilized <i>Bacillus subtilis</i> BS-26 cells toward phytopathogenic fungi of tomato S.I.Zakir'yaeva	32	Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> isolated from patients with diarrhoeal syndrome in 2010–2015 M.A.Makarova, Z.N.Matveeva, L.A.Kaftyreva	42
The receptor of cyclic adenosine monophosphate of <i>Yersinia pestis</i> is necessary for the development of experimental bubonic plague S.A.Ivanov, R.Z.Shaikhutdinova, T.E.Svetoch, E.A.Krasil'nikova, T.I.Kombarova, S.V.Dentovskaya	32		
Influence of diazotrophs on the growth and development of rice G.Kh.Kadyrova, A.K.Abdullaev, Z.S.Shakirov, I.V.Safarov, I.M.Khalilov	33		

Application of immobilized yeast to optimize the fermentation process of light beer wort B.Mamrasulov, D.T.Mirzarakhmetova	42
Evaluation of the bactericidal effect by a pilot laser-plasma source on plankton cultures of nosocomial pathogens circulating inside intensive care units O.Yu.Manzenyuk, M.Yu.Yakimov, N.G.Solov'ev, T.N.Mukhina, V.V.Firstova	43
<i>B. anthracis</i> dissociative forms isolating from environmental specimens L.I.Marinin, R.I.Mironova, N.A.Shishkova, I.A.Dyatlov	43
Production of recombinant proteins E of tick-borne encephalitis virus M.A.Mar'in, M.V.Silkina, A.S.Pinchuk, N.A.Zeninskaya, A.K.Ryabko, Ya.O.Muntyan, T.A.Ivashchenko, V.V.Firstova, I.G.Shemyakin	44
Chimeric antibody 14D5 protects effectively model animals against different subtypes of tick-borne encephalitis virus A.E.Matveev, I.V.Kozlova, E.K.Doroshchenko, O.V.Lisak, Ya.A.Khlusevich, L.A.Emel'yanova, O.V.Suntsova, Yu.S.Savinova, I.K.Baikov, N.V.Tikunova	45
The study of antibacterial properties of toothpastes and liquid means of hygiene of the oral cavity D.I.Makhsudova, V.Yu.Pleshkov, S.N.Baturlina	46
Biotransformation of acrylic acid nitrile by <i>Rhodococcus rubber</i> -8/4/1 strain cells immobilized in the structure of agarose gel A.A.Makhsunkhanov, B.Kh.Alimova, O.M.Pulatova, M.I.Kambaralieva, M.R.Sharifov, Sh.A.Tashbaev, F.B.Egamberdiev	46
Optimization of the composition of <i>Legionellabacagar</i> to carry out sanitary-bacteriologic research T.P.Morozova, L.V.Domotenko, I.P.Mitsevich, A.P.Shepelin	47
Influence of new nutrient media on growth activity of salt-resistant rhizobacteria of cotton plants Kh.S.Narbaeva, G. I.Dzhumaniyazova	47
Biotechnology of statin production based on the <i>Aspergillus terreus</i>-20 native strain S.M.Nasmetova, G.B.Sattarova	48
Basic understanding of the nature of infections and further development of sanitary and clinical microbiology D.V.Nikolaenko	48
The effect of a pulsed electromagnetic field on the ethanol yield during dark beer wort fermentation F.Normatov, D.Mirzarakhmetova	49
Territorial features of brucellosis infection in some regions of the Siberian Federal district A.Kh.Nurpeisova, Yu.A.Pnevskii, A.A.Saryglar, Ch.B.Ondar, D.A.Dongak, B.K.Ondar	49
Probiotics from microorganisms: Microbiology, biotechnology and practical application D.K.Ogai, Sh.M.Miralimova	50
Evaluation of the pathogenic potential of <i>Escherichia coli</i> by molecular biological method E.A.Orishak, K.G.Kosyakova, L.Yu.Nilova, A.P.Listopadova, V.P.Novikova, O.A.Kameneva, G.S.Mel'nikova	50
Differentiation of <i>Francisella tularensis</i> strains using experimental mice immunized with an acid insoluble complex of tularemic microbe V.M.Pavlov, T.I.Kombarova, R.I.Mironova, G.M.Vakhrameeva, A.N.Mokrievich	51
Secreted proteases of bacilli as putative factors regulating competitiveness within microbial communities V.V.Pereygin, V.D.Pokhilenko, V.P.Levchuk, T.A.Kalmantaev	51
Causative agents of purulent-septic infections in the psychiatric hospital of Saint-Petersburg S.B.Pilipenko, E.A.Mamonova, Yu.V.Golubeva, N.S.Kozlova, A.V.Metlyaeva	52
Comparative assessment of bases for blood agar depending on a manufacturer Ya.V.Podkopaev, L.V.Domotenko, A.P.Shepelin	52
Study of <i>Ixodes</i> ticks for determining infectious disease causative agents N.N.Popova, O.L.Skopenko	53
Wide-spectrum β-lactamases and the problem of nutrient medium selectivity A.A.Porin, Z.N.Matveeva, E.V.Belousova, A.V.Arkipova, A.V.Demidova, K.A.Kuz'mina	53
The impact of clustered silver on the efficiency of bacteriophages against <i>Staphylococcus aureus</i> V.G.Pugachev, O.D.Totmenina	54
Screening of collected strains of microscopic fungi by biosynthesis of citric acid O.M.Pulatova, B.Kh.Alimova, A.A.Makhsunkhanov, I.Zh.Kambaralieva, Sh.A.Tashbaev, N.K.Kholmuradova, M.S.Mamiev	54
Bacterial isolates from atmospheric aerosols possessing lipolytic activity L.I.Puchkova, I.S.Andreeva, A.S.Safatov, G.A.Buryak	55
On the question of species composition of the genus <i>Trichophyton</i> I.M.Pchelin, N.V.Vasil'eva, A.E.Taraskina	55
A sympatric locus of <i>Ixodes</i> ticks in Omsk region: the first genetic study of <i>Ixodes apronophorus</i> ticks as well as infectious agents transmitted by them V.A.Rar, V.V.Yakimenko, Ya.P.Igolkina, Yu.V.Sabitova, A.Yu.Tikunov, S.E.Tkachev, N.P.Vinarskaya, A.K.Tantsev, N.V.Tikunova	56
The effect of microorganisms on silage preparation A.K.Rakhmanina, T.Abdullaev, Kh.M.Khamidova	56
Microbiological methods of preparation of silage and their use to arrange the diet for Simmental heifers D.O.Rakhmanov, Z.R.Akhmedova, T.E.Shonakhunov	57
Infection of ticks with pathogens causing transmissible infections in the Yaroslavl region V.A.Romanov, E.D.Svetalkina, E.V.Komarova, E.V.Malafeeva	57
United specialty «Medical Microbiology» N.V.Rudakov	58
Epidemiology and optimisation of preventive measures to control infections transmitted by ticks in Russia N.V.Rudakov, N.A.Pen'evskaya, S.A.Rudakova, D.A.Savel'ev	59
A case of tick-borne rickettsiosis fatality in Krasnoyarsk region N.V.Rudakov, I.E.Samoilenko, S.V.Shtrek, L.V.Kumpan, T.V.Kostr'ykina, L.S.Gur'eva, P.A.Lents, Ya.P.Igolkina, V.A.Rar, E.V.Zhirakovskaya, S.Tkachev, N.V.Tikunova	59
Gene-species composition of causative agents of <i>Ixodes</i> tick-borne borreliosis in natural foci in the South of Western Siberia S.A.Rudakova, N.A.Pen'evskaya, L.S.Karan'	60
Research into properties of the catalase formulation by tandem MALDI-TOF mass spectrometry with laser fragmentation I.A.Ryabinin, E.V.Chernets, S.S.Lunina	61
DNA aptamers that bind peptidoglycan – associated lipoprotein of <i>Legionella pneumophila</i> A.K.Ryabko, N.A.Zeninskaya, M.A.Mar'in, Ya.O.Muntyan, A.S.Pinchuk, M.V.Silkina, T.A.Ivashchenko, O.Yu.Manzenyuk, V.V.Firstova, I.G.Shemyakin	61
Phenological monitoring of the development of winter wheat by using chemical fungicides and biological formulations Ch.Yu.Saimnazarova	62
New microbial biotechnology in biocontrol of wheat diseases Ch.Yu.Saimnazarova, G.I.Dzhumaniyazova, S.B.Karimova	62
Search and study of strains of microorganisms promising for designing a probiotic preparation Z.S.Sarmurzina, K.D.Zakar'ya, G.N.Bisenova, M.S.Urazova, D.N.Gudyno, B.M.Sadykov, A.B.Rysbek, A.B.Abzhalelov	63

Production of <i>Y.pestis</i> transaldolase superproducer T.E.Svetoch, S.A.Ivanov, P.Kh.Kopylov, E.M.Mazurina, S.V.Dentovskaya, A.P.Anisimov.	63	Salt-resistance of <i>Bacillus thuringiensis</i> strains in culturing on different nutrient media I.M.Khalilov, G.Kh.Kadyrova, Z.S.Shakirov	74
Isolation of plasmablasts in the technology of production of human monoclonal antibodies neutralizing the <i>Bacillus anthracis</i> toxin M.V.Silkina, A.S.Pinchuk, M.A.Mar'in, N.A.Zeninskaya, A.K.Ryabko, Ya.O.Muntyan, T.A.Ivashchenko, V.V.Firstova, I.G.Shemyakin.	64	Screening of culture media for culturing <i>Bacillus thuringiensis</i> possessing activity against <i>Gypsy</i> moth larvae I.M.Khalilov, G.Kh.Kadyrova, Z.S.Shakirov	75
Identification of pathogenicity factors in clinical practice and epidemiological research into <i>Staphylococcus aureus</i> Yu.P.Skryabin, O.V.Korobova, I.P.Mitsevich, I.V.Abaev, I.A.Dyatlov	64	A possibility of using domestic nutrient media for isolating microorganisms of the genus <i>Comamonas</i> M.V.Khranov, I.P.Mitsevich, L.A.Kafyryeva, K.V.Detushev	75
Susceptibility of uropathogenic <i>Escherichia coli</i> in plankton form and in biofilms to antimicrobials P.V.Slugin, Z.M.Ermolenko, E.I.Astashkin, M.G.Ershova, E.D.Poletaeva, A.P.Shepelin, E.A.Svetoch, N.K.Fursova	65	Genetic aspects of antibiotic resistance of biofilm-forming strains of clinical isolates of pathogens V.N.Tsarev, E.V.Ippolitov, A.A.Arutyunyan, A.A.Labazanov	76
Influence of EM-communities on microflora of degraded soils I.E.Smirnova, A.K.Sadanov	65	Merk Company products to solve microbiological tasks O.R.Tsvetkova	77
Bacteriocinogenic lactobacilli isolated from medicinal plants of Uzbekistan Kh.A.Sokhibnazarova, N.A.Elova, Sh.N.Imbragimova, N.K.Bekmukhamedova, Sh.M.Miralimova	66	Analysis of arranging a microbiological monitoring procedure at safety-varying laboratories upon conducting diagnostic, experimental and collecting activities using PVA L.V.Chekan, E.A.Tyurin.	77
Infestation of blood-sucking mosquitoes with causative agents of tularemia and dirofilariasis according to PCR results in the city of Omsk O.Yu.Starostina, G.V.Berezkina, S.M.Kostyuhenko, V.V.Yakimenko, A.Kh.Nurpeisova, S.Yu.Zelikman	66	The use of anionic and nonionic detergents as additives for working solutions of hydrogen peroxide during the work with microorganisms L.V.Chekan, E.A.Tyurin.	79
Cytological research into <i>Pseudallescheria boydii</i> A.A.Stepanova, N.V.Vasil'eva	67	Antimicrobial properties of the peptide of the lactic acid bacterium isolated from a traditional product S.M.Shaikhin, M.S.Urazova, G.K.Abitaeva, L.R.Zhaparova, Zh.B.Tekebaeva, Z.S.Sarmurzina, K.D.Zakar'ya, A.B.Abzhalelov	80
Antibiotic-resistant <i>Klebsiella pneumoniae</i> in healthy avian intestinal microbiota L.V.Suzhaeva, E.V.Voitenkova, A.V.Zabrovskaya, L.A.Kafyryeva	67	Outer membrane protein SurA and its role in <i>Yersinia pestis</i> pathogenicity R.Z.Shaikhutdinova, T.E.Svetoch, S.A.Ivanov, T.I.Kombarova, S.V.Dentovskaya	81
<i>Escherichia coli</i> commensals and resistance to beta-lactams L.V.Suzhaeva, S.A.Egorova, L.A.Kafyryeva	68	Experience of application of magnetic particles in the prototype of an optical biosensor to detect protein antigens A.G.Shevyakov	82
Decontamination by hydrogen peroxide vapor is a reliable and effective method of room disinfection V.I.Suprun, V.A.Sorokin	68	Fish flour pancreatic hydrolysate – a full-value protein base for nutrient media A.P.Shepelin, L.P.Sholokhova, I.I.Marchikhina, O.V.Polosenko.	82
Production of a highly purified bacteriocin secreted by <i>Enterococcus faecium</i> cells to control listeriosis V.I.Surovtsev, V.M.Borzenkov, V.P.Levchuk	69	Use of nutrient media produced by SRCAMB to identify <i>Pseudomonas aeruginosa</i> A.P.Shepelin, A.B.Sergeeva, O.V.Polosenko, I.I.Marchikhina	83
Study of intermolecular interactions by surface plasmon resonance procedure (SPR) V.M.Tedikov, S.F.Biketov	69	Effect of nutrient agar media on the efficacy of plasmid cryotransformation of the tularemia microbe N.A.Shishkova, V.M.Pavlov, G.M.Vakhrameeva, A.N.Mokrievich.	84
Cytotoxicity as an indicator of the virulence of microscopic fungi in cell cultures of cultured lines <i>in vitro</i> D.L.Tereshko, I.V.Novitskaya	70	A possible method for long-term preservation of fastidious microorganisms V.A.Shmylenko, A.P.Bondarenko.	85
The occurrence of a wide range of bacterial agents in <i>Ixodes persulcatus</i> hybrids/<i>Ixodes pavlovskyi</i> in different sympatric foci N.V.Tikunova, V.A.Rar, N.N.Livanova, Yu.Sabitova, Ya.Igolkina, A.Tikunov, V.Panov, I.Babkin	71	Taxonomy of bacterial pathogens of natural focal infections on the basis of the formal order analysis S.N.Shpynov	85
Immunopathogenetic features of chronic productive osteomyelitis of the mandible according to results from expression of cell activation receptor molecules S.A.Trofimov, I.P.Balmasova, E.N.Nikolaeva, A.Yu.Drobyshev, V.N.Tsarev	71	Experience of molecular genetic detection of <i>Escherichia coli</i> colibacterin gene fragments in intestinal inflammatory diseases G.K.Yumaguzhina, A.R.Mavzyutov	86
Use of different disinfectants in veterinary labs when handling II-IV pathogenicity class microorganisms of bacterial and viral nature E.A.Tyurin, L.I.Marinin	72	MALDI-TOF MS and PCR for identification of non-fermenting gram-negative bacteria I.A.Yanturina, G.F.Khasanova, A.R.Mavzyutov	86
Study of microorganisms degrading mono- and poly-cyclic aromatic hydrocarbons E.R.Faizulina, S.A.Aitkel'dieva, O.N.Auezova, L.G.Tatarkina.	73	On the results of studying antibiotic sensitivity of salmonellae isolated from food products and environment on the territory of the Rostov region A.M.Ryabova, I.B.Yavruyan, T.S.Gyurdzhiyan, T.V.Omelchenko	87
Assessment of the efficacy of aerosol method of air and surface disinfection to be applied in medical and preventive organizations M.V.Fursov, N.S.Grishchenko, T.I.Rudnitskaya, V.V.Kuzin, V.D.Potapov.	73	Results of evaluation of the levels of <i>Ixodes persulcatus</i> infection with the causative agents of anaplasmoses, ehrlichioses and tickborne borrelioses in the plains of Western Siberia A.G.Vasilenko, V.V.Yakimenko, A.K.Tantsev	87
Genetic lines of clinical Gr- bacterial strains N.K.Fursova, E.I.Astashkin, A.I.Lev, G.N.Fedyukina, E.A.Svetoch	74		

